

УДК 577.112.856  
©Коллектив авторов

### ИНГИБИРОВАНИЕ ОКИСЛЕНИЯ ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА КАРОТИНОИДАМИ ПАПРИКИ

Н.В. Медведева<sup>1</sup>, В.А. Андреев<sup>2</sup>, А.Д. Морозкин<sup>3</sup>, Е.А. Сергеева<sup>1</sup>,  
Ю.И. Прокофьев<sup>1</sup>, А.Ю. Мишарин<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>ГУНИИ биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича РАМН,  
119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10; тел.: (095) 2463375; факс (095) 2450857;  
эл.почта: nmedved@pol.ru

<sup>2</sup>АОО Аромарос-М

<sup>3</sup>Институт Экспериментальной кардиологии РКНПК МЗ РФ

$\beta$ -Каротин (C1), ацильные производные капсантина (C2) и ацильные производные капсорубина (C3) выделены из олеорезина паприки (*Capsicum annuum*). Каротиноиды C1, C2 и C3 встраивали в частицы ЛНП плазмы крови человека, что приводило к изменению распределения коэффициентов флотации фракции ЛНП  $1,019 < d < 1,05$  г/мл. Сравнительное исследование окисления препаратов ЛНП, ЛНП-C1, ЛНП-C2 и ЛНП-C3 в присутствии  $\text{Cu}^{2+}$  показало, что каротиноиды C1, C2 и C3 в составе ЛНП эффективно препятствовали окислению ЛНП. При этом снижалось содержание подфракции более плотных ЛНП и подавлялось превращение холестерина в продукты автоокисления (в частности, в 5,6-эпоксихолестерин, 7-кетохолестерин и 7 $\beta$ -гидроксихолестерин). Это означает, что основные каротиноиды паприки, эффективно ингибируя окисление ЛНП *in vitro*, возможно, снижают образование подфракции "атерогенных" ЛНП *in vivo*.

**Ключевые слова:** каротиноиды, антиоксиданты, окисление липидов, ЛНП, атеросклероз

**ВВЕДЕНИЕ.** Окисление ЛНП в результате ферментативных процессов, при прохождении через слой эндотелия сосуда или при взаимодействии со случайными окислителями (автоокисление) приводит к образованию модифицированных ЛНП [1]. ЛНП, частично модифицированные в процессе окисления, могут циркулировать в кровотоке, однако, при попадании в интиму они служат "затравкой" цепи окислительных процессов и провоцируют образование атеросклеротической бляшки [2,3]. При внутривенном введении животным окисленные ЛНП способны вызывать атеросклеротическое поражение; они также обладают высокой токсичностью в культуре клеток [4-6]. Таким образом, ингибирование окисления ЛНП важно для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

Окислительные модификации ЛНП, аналогичные происходящим в организме, можно вызвать *in vitro* добавлением ионов тяжелых металлов [7, 8].

Природные антиоксиданты, содержащиеся в ЛНП (в том числе  $\beta$ -каротин), ингибируют каскад окислительных превращений ЛНП *in vitro* [9] и уменьшают риск окисления ЛНП *in vivo* [10]. Известно, что потребление  $\beta$ -каротина и витамина А с пищей увеличивает их содержание в ЛНП; установлена положительная корреляция между содержанием  $\beta$ -каротина в плазме крови и устойчивостью ЛНП к окислению *in vitro* [10, 11]. Эпидемиологические исследования показали, что потребление  $\beta$ -каротина пациентами с КБС

## ИНГИБИРОВАНИЕ ОКИСЛЕНИЯ ЛНП КАРОТИНОИДАМИ

значительно снижает частоту приступов ишемии [12]. Поскольку  $\beta$ -каротин (провитамин А) не синтезируется в организме млекопитающих и поступает исключительно с пищей, то содержащийся в пище  $\beta$ -каротин, а также, вероятно, и родственные каротиноиды, можно рассматривать как соединения, перспективные для профилактики сердечно-сосудистых патологий.

Важным источником каротиноидов могут служить экстракты (олеорезины) некоторых овощей и фруктов [13]. Олеорезин паприки, богатый каротиноидами, широко используется в пищевой промышленности для приготовления специй и пищевых добавок. В работе [9] показано, что не все каротиноиды обладают антиоксидантными свойствами. Целью данной работы является изучение влияния основных каротиноидов паприки (*Capsicum annuum*) на окисление ЛНП в экспериментах *in vitro*.

**МЕТОДИКА.** Получение основных каротиноидов олеорезина паприки. 4,0 г олеорезина паприки *Capsicum annuum* фирмы "Plant Lipids" (Индия) наносили на обернутую алюминиевой фольгой стеклянную колонку (3,5×60 см) с силикагелем L 40/100 ("Chemapol"), уравновешенную гексаном; продукты элюировали смесью гексан-этилацетат (25:1, по объему) со скоростью 120 мл/ч, контролируя выходящие фракции по оптическому поглощению при 447 нм и по тонкослойной хроматографии (ТСХ). В результате выделено 3 индивидуальные фракции, обозначенные С1, С2 и С3 (в порядке элюирования), гомогенность которых по данным ТСХ составляла не менее 92%. Подробно метод получения и характеристика основных каротиноидов олеорезина паприки *Capsicum annuum* публикуются отдельно (Медведева и др. готовится к публикации).

**Выделение липопротеинов низкой плотности (ЛНП) и их модификация каротиноидами.** Кровь здоровых добровольцев, взятой натошак из локтевой вены в пробирки с ЭДТА (1 мг/мл), центрифугировали для получения плазмы в течение 20 мин при 1000g и температуре 4°C. ЛНП выделяли из полученной плазмы препаративным ультрацентрифугированием по методу Lindgren [14]. Концентрацию белка в растворах ЛНП определяли по модифицированному для липопротеинов методу Lowry [15]. Препараты ЛНП хранили при 4°C в растворе NaBr ( $d=1,063$  г/мл), содержащем 0,196 М NaCl, 0,01% ЕДТА и 0,05% NaN<sub>3</sub> и использовали в течение недели.

Обогащение липопротеинов каротиноидами производили согласно [9] с некоторыми модификациями: ЛНП (1,5-2 мг белка/мл) диализовали 24 ч при 4°C против раствора, содержащего 0,196 М NaCl, 0,01% ЭДТА, 0,05% NaN<sub>3</sub>, затем в полученный препарат вводили 8 мМ раствор соответствующего каротиноида (С1, С2 или С3) в изопропанол (конечное содержание изопропанола в инкубационной смеси не превышало 3%) и смесь инкубировали 16 ч при 4°C. В контрольный образец ЛНП добавляли то же количество изопропанола. Затем инкубационную смесь пропускали через фильтры 0,45 мкм для удаления основной части невстроившихся каротиноидов с последующим центрифугированием в течение 20 мин, при 40000 об/мин (ротатор тип 65, "Beckman", ультрацентрифуга L8-Beckman, США). При этом каротиноиды всплывали, образуя на стенках по линии мениска прочную пленку, не мешающую отбору ЛНП. Об увеличении содержания каротиноидов в ЛНП судили по возрастанию поглощения при 450 нм в пересчете на 1 мг белка ЛНП.

Анализ полидисперсности образцов ЛНП (получение флотационных масс - спектров) проводили с помощью аналитической центрифуги модель Е ("Beckman", США), снабженной ультрафиолетовой сканирующей оптикой и мультиплексором для одновременного анализа 5-ти образцов методом скоростной флотации [16]. Удельная оптическая плотность всех подфракций ЛНП была практически одинаковой и составляла 1,6 при длине волны 280 нм. Использование однозначности корреляции между плотностью частиц ЛНП и их константами флотации [16, 17] позволили нам применить метод экстраполяции [18] для нахождения точной картины распределения частиц ЛНП по флотационным характеристикам, не нарушенной диффузией.

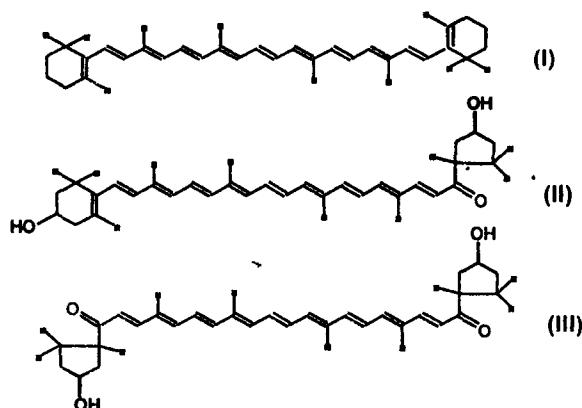
*Окисление ЛНП и ЛНП, модифицированных каротиноидами, ионами  $\text{Cu}^{2+}$ .* Препараты ЛНП и ЛНП, модифицированные каротиноидами, диализовали против 0,05 М К-Na фосфатного буфера (рН 7,8) в течение ночи (16 ч) на холоду, окисление инициировали добавлением  $\text{CuSO}_4$  (50 мкг белка/мл, 30 мкМ  $\text{CuSO}_4$ ) при 37°C, регистрируя оптическое поглощение при 234 нм каждые 5 мин.

Для определения скорости деградации каротиноидов в процессе окисления препараты ЛНП и ЛНП, модифицированные каротиноидами (1 мг белка/мл), инкубировали в присутствии 60 мкМ  $\text{CuSO}_4$  при 37°C в 0,05 М К-Na фосфатном буфере (рН 7,8); реакцию останавливали добавлением ЭДТА (конечная концентрация 60 мкМ). Каротиноиды экстрагировали последовательным добавлением 2-х объемов изопропанола и 3-х объемов гексана при интенсивном встряхивании. Содержание каротиноидов определяли, используя значение  $E_{1\%}^{1\text{см}} = 2500$  и  $M$  (молярная масса) = 540 г/моль, регистрируя оптическое поглощение при 447 нм в органической фазе.

Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре "Yanaco UO 2000".

*Образование оксистерина в ЛНП при окислении  $\text{Cu}^{2+}$ -ионами* Предварительно очищенный [ $^{14}\text{C}$ ] холестерин ( $5 \times 10^6$  имп/мин) фирмы "Amersham" (Англия) растворяли в изопропаноле, аликвоты вводили в препараты ЛНП, ЛНП-С1, ЛНП-С2 и ЛНП-С3 (содержание белка 1 мг/мл, концентрация изопропанола не более 1%), инкубировали 2 ч при комнатной температуре. Окисление инициировали добавлением раствора  $\text{CuSO}_4$  до конечной концентрации 0,06 мМ, инкубацию продолжали 24 ч при 37°C, окисление останавливали добавлением ЭДТА. Продукты окисления холестерина экстрагировали смесью хлороформ-метанол, высушивали в токе азота, остаток растворяли в 30 мкл эфира, содержащего по 5 мкг холестерина и оксистерина в качестве внутренних нерадиоактивных стандартов: холест-4-ен-3-она,  $5\alpha,6\alpha$ -эпоксихолестана, 7-кетохолестерина,  $7\alpha$ -гидроксихолестерина,  $7\beta$ -гидроксихолестерина и холестан- $3\beta,5\alpha,6\beta$ -триола, синтезированных нами согласно [17-20]. Разделение холестерина и продуктов его окисления проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинках "HPTLC Kieselgel G F-254" с последующим определением радиоактивности в соответствующих зонах. Радиоактивность измеряли в толуольном сцинтилляторе на автоматическом счетчике фирмы "LKB" (Швеция). Содержание оксистерина в каждой зоне оценивали, как % превращения [ $^{14}\text{C}$ ]холестерина в оксистерин. Суммарное содержание радиоактивности каждой хроматограммы принимали за 100%.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** На рис. 1 представлены данные аналитической высокоэффективной тонкослойной хроматографии олеорезина паприки *Capsicum annuum*, указывающие на присутствие 3 основных соединений с основным максимумом поглощения при 447 нм, обозначенные в соответствии с хроматографической подвижностью как С1, С2 и С3. Фракция С1 была идентифицирована как  $\beta$ -каротин (I), С2 и С3 как ацильные производные капсантина (II) и капсорубина (III), соответственно (Медведева и др. готовится к печати).



# ИНГИБИРОВАНИЕ ОКИСЛЕНИЯ ЛНП КАРОТИНОИДАМИ

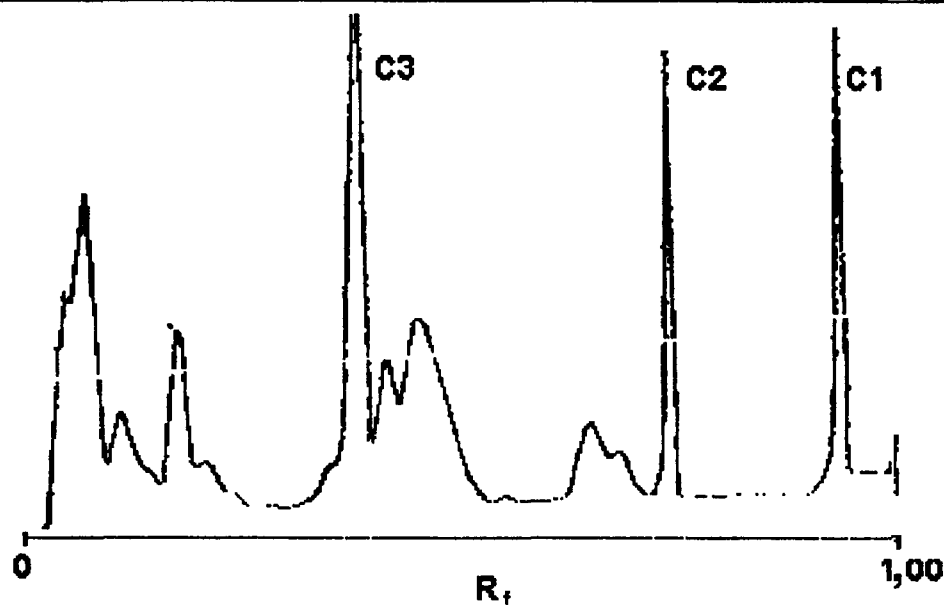


Рисунок 1.

Денситограмма разделения каротиноидов олеорезина паприки методом ВЭТСХ в системе гексан-этилацетат (33:1 по объему).  $R_f$  - хроматографическая подвижность.

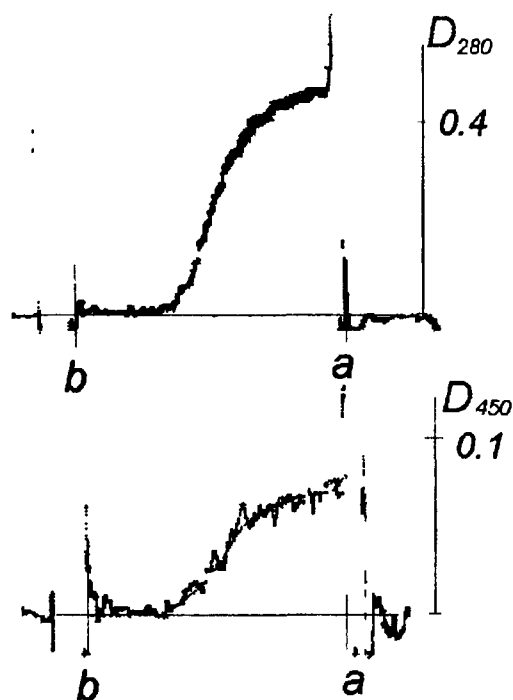


Рисунок 2.

Результаты аналитического ультрацентрифугирования препарата ЛНП-С1 с детектированием при 280 нм (А) и 450 нм (Б). Плотность раствора 1,170 г/мл; скорость вращения ротора 17 000 об/мин; время центрифугирования 195 мин ( $D$  - оптическая плотность; направление флотации - слева направо. а - мениск, б - дно).

Введение каротиноидов С1, С2, С3 в частицу ЛНП приводило к изменению спектральных и флотационных свойств ЛНП. В спектрах поглощения исходного препарата ЛНП отношение  $D_{450}/D_{280}$  составляло 0,08–0,17, а в препаратах ЛНП, модифицированных каротиноидами - 0,30–0,50. Анализ результатов

аналитического ультрацентрифугирования ЛНП, модифицированных каротиноидами, свидетельствует о том, что флотация белкового компонента ЛНП (наблюдение при 280 нм) и миграция каротиноида (наблюдение при 450 нм) происходят с одинаковой скоростью (рис.2), т.е. происходит встраивание исследуемых каротиноидов в частицы ЛНП.

Флотационные масс-спектры ЛНП плазмы для разных людей состоят из наборов близких по составу частиц (см. рис. 3, кривая 1), в которых качественный и количественный белок-липидный состав варьирует. Несмотря на то, что дополнительное встраивание каротиноидов в наших экспериментах было невелико (по оценке составляло в среднем 1 молекула каротиноида С1, С2 или С3 на частицу ЛНП), модифицированные каротиноидами ЛНП существенно отличались от исходных по флотационным характеристикам. На рис. 3 представлены кривые, отображающие распределение частиц по коэффициентам флотации (масс-спектры) для ЛНП и ЛНП-С1, ЛНП-С2, ЛНП-С3. Из их сопоставления очевидно, что встраивание каротиноидов в среднем уменьшало плотность частиц (частицы становились легче) - в спектрах возрастало содержание частиц с коэффициентами флотации  $> 20S$ . Хотя флотационные спектры ЛНП разных людей могут существенно различаться, однако характер изменения масс-спектров при модификации каротиноидами был одинаков для ЛНП из плазмы крови разных добровольцев.

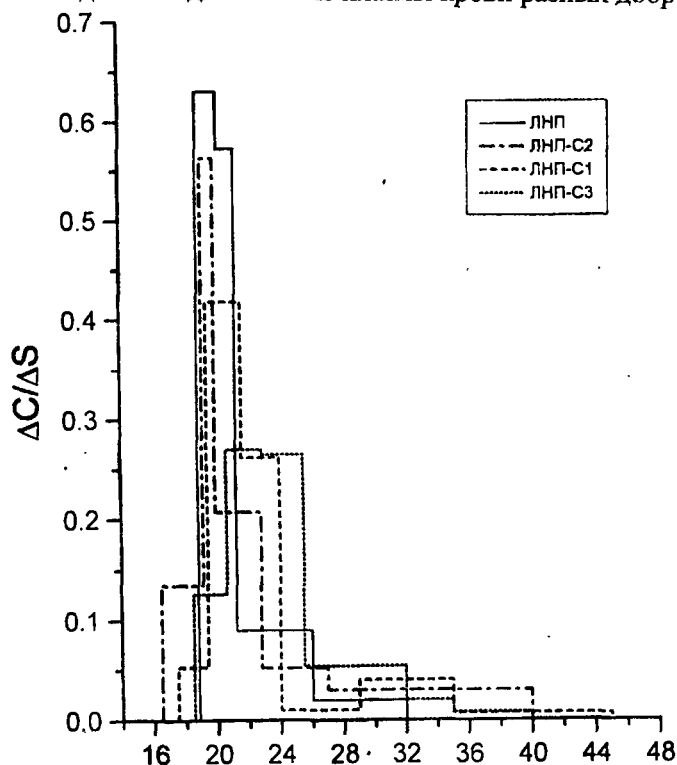


Рисунок 3.

Распределения по коэффициентам флотации при плотности растворителя 1,170 г/мл ЛНП, ЛНП-С1, ЛНП-С2 и ЛНП-С3. Ось абсцисс - Sf (коэффициент флотации в единицах Сведберга); ось ординат - относительное количество частиц ЛНП, приходящиеся на единицу Sf.

Модификация ЛНП каротиноидами С1, С2 и С3 приводила к ингибированию окислительных процессов, вызываемых присутствием ионов  $Cu^{2+}$  в инкубационной среде: для ЛНП-С1, ЛНП-С2 и ЛНП-С3 продолжительность лаг-фазы, предшествующей интенсивному образованию сопряженных диенов, о появлении которых судили по росту поглощения при 234 нм, возрастала (рис. 4А) по сравнению с ЛНП (контролем). Причем, чем больше было встраивание (чем

# ИНГИБИРОВАНИЕ ОКИСЛЕНИЯ ЛНП КАРОТИНОИДАМИ

больше отношение  $D_{450}/D_{280}$  для соответствующего образца модифицированных ЛНП), тем больше была лаг-фаза (результаты не приведены). Следует отметить, что только встроенные в ЛНП каротиноиды обладают антиоксидантными свойствами, т.к. добавление каротиноида С3 в инкубационную смесь одновременно с иницированием процесса окисления ионами  $\text{Cu}^{+2}$  практически не влияло на окисление липидов ЛНП (см. кривые 4 и 5 на рис. 4А).

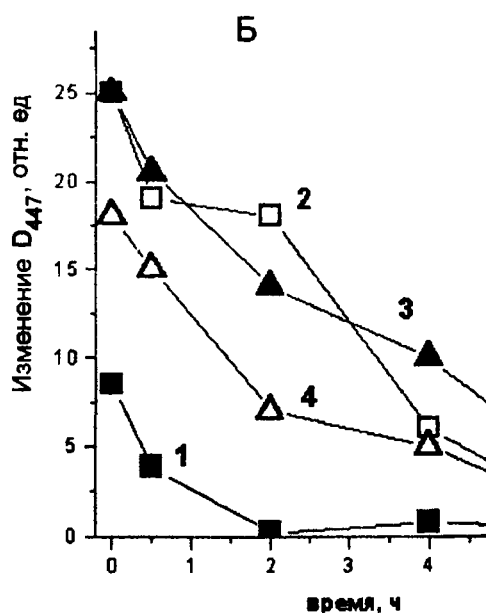
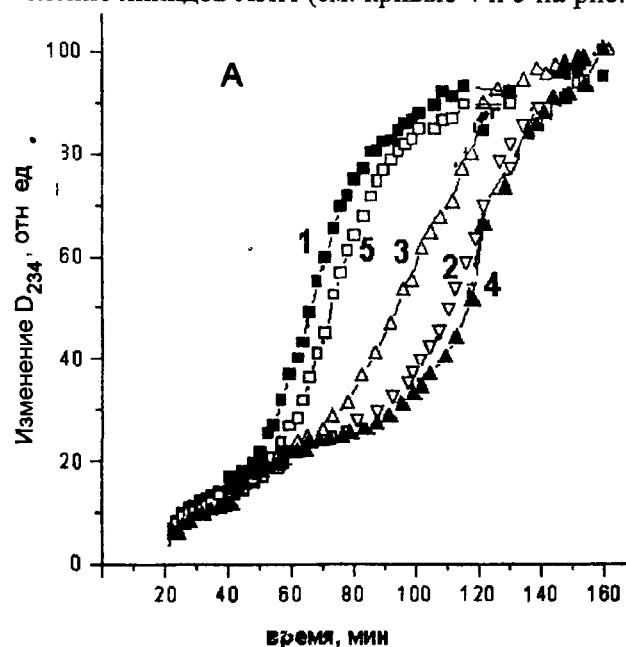


Рисунок 4.

Окисление ЛНП в присутствии ионов  $\text{Cu}^{+2}$

А - Изменение величины оптического поглощения ( $D_{234}$ ) при инкубации ЛНП, модифицированных каротиноидами в присутствии  $\text{Cu}^{+2}$ . ЛНП (контроль) - 1; ЛНП-С1 - 2, ЛНП-С2 - 3; ЛНП-С3 - 4; ЛНП в присутствии невстроенного С3 - 5. Условия инкубации: 50 мкг белка/мл, 30 мкМ  $\text{CuSO}_4$  при  $37^\circ\text{C}$  в 0,05 М К-На фосфатном буфере (рН 7,8)

Б - Изменение оптической плотности при 447 нм ( $D_{447}$ ) липидных экстрактов ЛНП и ЛНП, модифицированных каротиноидами, от времени предварительной инкубации с  $\text{CuSO}_4$ : ЛНП - 1; ЛНП-С1 - 2, ЛНП-С2 - 3; ЛНП-С3 - 4 (Подробности в разделе "Методика").

Данные рис. 4Б свидетельствуют о снижении содержания ассоциированных с ЛНП каротиноидов С1, С2 и С3 при инкубации в присутствии  $\text{CuSO}_4$ . Сравнивая поведение кривых на рис. 4 А и Б, можно сделать вывод, что скорость деградации ЛНП-ассоциированных каротиноидов коррелирует со способностью соответствующего каротиноида препятствовать окислению ЛНП ионами  $\text{Cu}^{2+}$ .

Хорошо известно, что ионы  $\text{Cu}^{2+}$  инициируют окислительную денатурацию частиц ЛНП *in vitro* [7, 8]. На рис. 5 представлены профили флотации исходного препарата ЛНП и ЛНП-С3 до и после двухчасовой инкубации с ионами  $\text{Cu}^{2+}$ . В то время как модификация каротиноидом С3 сопровождалась смещением распределения по коэффициентам флотации в сторону больших  $S_f$  (рис. 5А), процесс окисления приводил к сдвигу флотационных спектров в сторону меньших значений  $S_f$  (рис. 5, Б и В). При этом окисление ЛНП сопровождалось почти трехкратным увеличением доли мелких (более плотных) частиц ЛНП ( $S_f < 17$ ), в то время как при окислении ЛНП-С3 их количество возрастало не столь значительно. Каротиноиды С1 и С2 оказывали аналогичное влияние на флотационные характеристики ЛНП. Следовательно, каротиноиды С1, С2 и С3 способны ингибировать образование более плотных частиц (с  $S_f < 17$ ), повышенное содержание которых, как было показано нами [22], отражает нарушение липидного статуса пациентов.

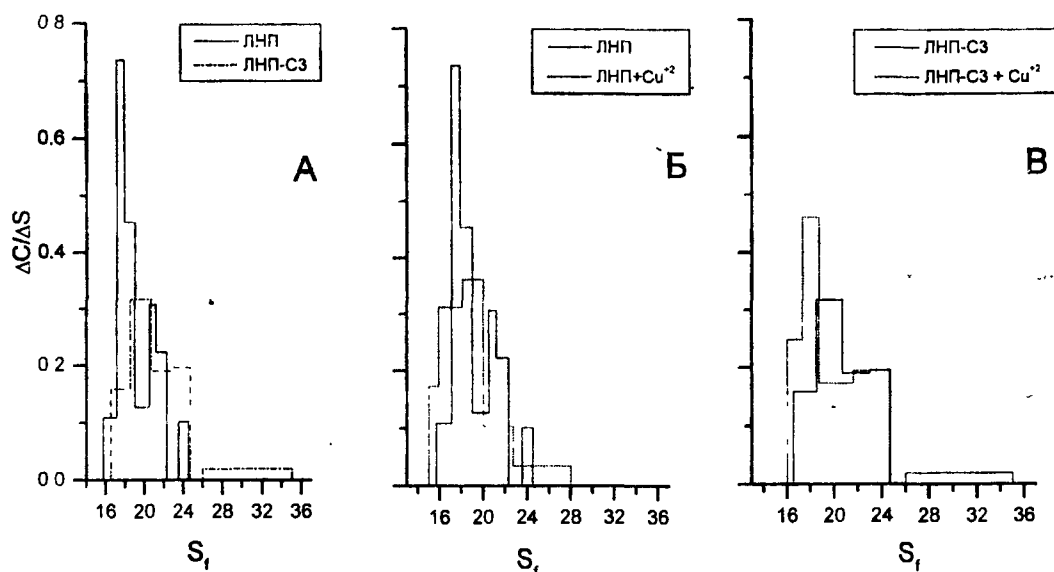


Рис. 5.

Влияние окисления ионами  $\text{Cu}^{2+}$  на флотационные масс-спектры ЛНП и ЛНП-С3.

А - сопоставление флотационных масс-спектров ЛНП и ЛНП, модифицированных каротиноидом С3, ЛНП-С3; Б - распределения по коэффициентам флотации  $S_f$  для ЛНП и окисленных ЛНП;

В - распределения по коэффициентам флотации  $S_f$  для ЛНП-С3 и окисленных ЛНП-С3. Время инкубации с  $\text{Cu}^{2+}$  2 часа, окисление останавливали добавлением ЭДТА

(Подробности в разделе "Методика").

Окисление ЛНП в присутствии ионов  $\text{Cu}^{2+}$  приводит к образованию оксистерина и оксистерилового эфира из холестерина и холестерилового эфира, входящих в состав ЛНП [23, 24]. Среди оксистерина, образующихся при автоокислении холестерина, основными являются: холестер-4-ен-3-он, холестер-3,5-диен-7-он, 25-гидроксихолестерин, 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -эпоксистерин, холестер-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -триол, 7 $\alpha$ -гидроксихолестерин, 7 $\beta$ -гидроксихолестерин и 7-кетохолестерин [24, 25]. Чтобы выяснить влияние встроенных в ЛНП каротиноидов С1, С2 и С3 на образование оксистерина в процессе окисления, в состав ЛНП и ЛНП, модифицированных каротиноидами, был предварительно введен [4- $^{14}\text{C}$ ] холестерин. Из рис. 6 видно, что каротиноиды С1, С2 и С3 ингибировали

### ИНГИБИРОВАНИЕ ОКИСЛЕНИЯ ЛНП КАРОТИНОИДАМИ

превращение холестерина ЛНП в продукты автоокисления холестерина. В условиях эксперимента общее содержание оксистерина в препаратах ЛНП-С1, ЛНП-С2 и ЛНП-С3 было достоверно меньше, чем в контроле; при этом было достоверно снижено образование 7-кетохолестерина, 7 $\beta$ -гидроксихолестерина и 5,6-эпоксихолестерина. Содержание холест-4-ен-3-она, холеста-3,5-диен-7-она, 25-гидроксихолестерина, 7 $\alpha$ -гидроксихолестерина и холестан-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -триола в препаратах ЛНП, ЛНП-С1, ЛНП-С2 и ЛНП-С3 достоверно не различалось (результаты не приводятся).

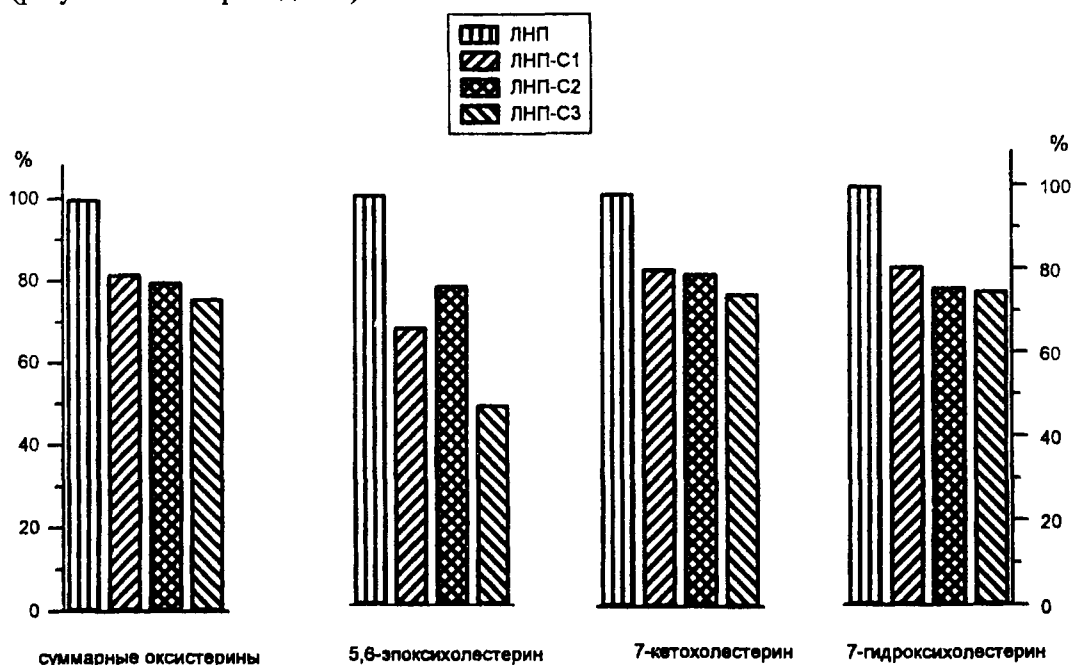


Рисунок 6.

Превращение [ $^{14}$ C]холестерина в оксистерин в составе ЛНП, ЛНП-С1, ЛНП-С2, ЛНП-С3 после 24 ч инкубации в 30 мМ CuSO<sub>4</sub>. Представлено отношение радиоактивности во фракции оксистерина к радиоактивности образца, нормированное на соответствующее отношение в препарате ЛНП (среднее из трех повторов).

**ОБСУЖДЕНИЕ.** В организме взрослого человека в среднем содержится 100-200 мг  $\beta$ -каротина, из них 80% депонируется в жировой ткани, 10% - в печени, около 1% содержится в плазме крови и 9% - в других органах и тканях (надпочечники, репродуктивные органы, мозг, легкие, сердце, почки, селезенка) [26]. Транспорт каротиноидов между органами и тканями организма осуществляется в составе липопротеинов плазмы крови.  $\beta$ -Каротин секретируется печенью в составе ЛОНП и причем остается в той же липопротеиновой частице при ее трансформации в ЛНП [27]. Помимо  $\beta$ -каротина, в плазме крови людей обнаружены другие каротиноиды:  $\alpha$ -каротин, ликопин, зеаксантин, криптоксантин, лютеин, а также неидентифицированные каротиноиды. Антиоксидантным свойствам  $\beta$ -каротина и его влиянию на окислительные процессы, происходящие в плазме крови, посвящено большое количество работ, однако данных о влиянии других каротиноидов существенно меньше.

Результаты, представленные в настоящей работе, свидетельствуют о том, что встраивание в частицы ЛНП  $\beta$ -каротина, а также ацильных производных капсантина и капсорубина, содержащихся в олеорезине паприки, который широко используется в пищевой промышленности, значительно подавляет окисление ЛНП ионами Cu<sup>2+</sup>, ингибируя образование липоперекисей и оксистерина, и, следовательно, защищает частицы ЛНП от деструкции, сопровождающей процесс окисления.



Окисление ЛНП ионами тяжелых металлов является сложным многостадийным процессом. На первой стадии происходит связывание иона  $\text{Cu}^{2+}$  с белковым компонентом ЛНП, образуются первичные продукты окисления - гидропероксиды с двумя сопряженными двойными связями (диеновые конъюгаты), наличие  $\text{Cu}^{2+}$  в среде катализирует распад последних на свободные радикалы, ускоряющие процесс окисления ЛНП [5, 8, 28]. Результаты, представленные на рис.4, указывают на то, что встроенные в частицу ЛНП каротиноиды существенно ингибируют образование сопряженных диенов, а также происходит деструкция молекул самих каротиноидов. Это согласуется с представлениями о том, что действие жирорастворимых антиоксидантов обычно связано с их способностью перехватывать свободные радикалы (т.н. реакция линейного обрыва на молекулах антиоксидантов) [28]. Наличие в составе частицы ЛНП каротиноидов также заметно ингибировало последующие стадии окисления, а именно образование оксистерина. В данной работе показано, что каротиноиды ингибируют окислительную трансформацию холестерина до 7-кетохолестерина, 7 $\beta$ -гидроксихолестерина и 5,6-эпоксихолестерина, которые, как известно [29-31], обладают сильным токсическим эффектом по отношению к клеткам сосудистой стенки.

Образующиеся в результате окисления частицы ЛНП с низкими значениями  $\text{Sf}$  имеют сниженное сродство к ЛНП-рецептору, играют важнейшую роль в образовании атером и стимулируют накопление липидов в клетках сосудов [31, 32]. Повышенное содержание мелких с повышенной плотностью ЛНП отмечено в плазме пациентов, страдающих коронарным атеросклерозом [33]. В настоящей работе экспериментально показано, что  $\beta$ -каротин и ацильные производные капсантина и капсорубина при окислении ЛНП ингибируют образование именно таких частиц, которые согласно нашим и литературным данным обладают "атерогенными" свойствами [33, 34].

Сравнение эффектов  $\beta$ -каротина и ацильных производных капсантина и капсорубина, содержащихся в олеорезине паприки, показывает, что ацильные производные капсантина и капсорубина не менее эффективно, чем  $\beta$ -каротин, ингибируют окисление ЛНП *in vitro*. По-видимому, каротиноиды паприки можно рассматривать как потенциальное средство профилактики атеросклероза.

Работа выполнена при финансовой поддержке АОО Аромарос-М и Российского Фонда Фундаментальных Исследований (РФФИ, грант №01-04-48504).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Catapano A.L., Maggi F.M., Tragni E. (2000) Curr. Opin. Cardiol., **15**, 355-363.
2. Bruce D., Fu S., Armstrong S., Dean R.T. (1999) Int.J.Biochem.Cell Biol., **31**, 1409-1420.
3. Dhaliwal B.S., Steinbrecher U.P. (1999) Clin Chim. Acta, **286**, 191-205.
4. Rangaswamy S., Penn M.S., Saidel G.M., Chisolm G.M. (1997) Circ. Res., **80**, 37-44.
5. Hughes H., Mathews B., Lenz M.L., Guyton J.R. (1994) Arterioscler.Thromb., **14**, 1177-1185.
6. Han C.Y., Pak Y.K. (1999) Exp. Mol. Med., **31**, 165-173.
7. Heinecke J.W., Rosen H., Suzuki, L.A. and Chait A. (1987) J. Biol. Chem., **262**, 10098-10103.
8. Esterbauer H., Gebicki J., Puhe H., Jurgens G. (1992) Free Radic. Biol. Med., **13**, 341-390.
9. Dugas T.R., Morel D.W., Harrison E.H. (1998) J. Lipid Res., **39**, 999-1007.
10. Lu S.-C., Wu W.-H., Lee C.-A., Chou H.-F., Lee H.-R., Huang P.-C. (2000) J.Nutr., **130**, 1591-1596.
11. Livrea M.A., Tesoriere L., Bongiorno A., Pintaudi A.M., Ciaccio M., Riccio A. (1995) Free Radic. Biol. Med., **18**, 401-409.
12. Ness A.R. (2001) Int. J. Epidemiol., **30**, 143-144.

# ИНГИБИРОВАНИЕ ОКИСЛЕНИЯ ЛНП КАРОТИНОИДАМИ

13. Deli J., Matus Z., Toth G. (1996) J. Agric. Food Chem., **44**, 711-716.
14. Lindgren F.T. (1975) in Analysis of Lipids and Lipoproteins. (E.G. Perkins ed.) Amer. Oil Chemists' Soc., Amsterdam, pp. 202-224.
15. Markwell M., Haas S., Bieber L., and Tolbert N. (1978) Anal. Biochem. **87**, 206-210.
16. Morozkin A.D., Medvedeva N.V., Valentinova N.V. (1989) Stud. Biophys., **129**, 27-36.
17. Chapman M.J., Lapland P.M., Luc G., Forgez P., Bruckert E., Gouliner S., Lagrange D. (1988) J. Lipid Res., **29**, 442-458.
18. Van Holde K.E., Weisheit W.O. (1978) Biopolymers, **17**, 1387-1403.
19. Fieser L.F., Rajagopalan S. (1949) J. Am. Chem. Soc., **71**, 3938-3941.
20. Физер Л., Физер М. (1971) Реагенты для органического синтеза, М., Мир, **4**, 139.
21. Hunziker F., Mullner F.X. (1958) Helv. Chim. Acta, **41**, 70-76.
22. Медведева Н.В., Морозкин А.Д., Горшкова И.Н., Рууге Э.К., Щербаклова И.А., Перова Н.В., Лякишев А.А. (1989) Вopr. мед. химии, N3, 36-41.
23. Brown A.J., Dean R.T., Jessup W. (1996) J. Lipid Res., **37**, 320-335.
24. Breuer O., Dzeletovic S., Lund E., Diczfalussy U. (1996) Biochim. Biophys. Acta, **1302**, 145-152.
25. Smith L.L. (1996). Lipids, **31**, 453-487.
26. Шашкина М.Я., Шашкин П.Н., Сергеев А.В. (1999) Вopr. мед. химии, **45**, 105-116.
27. Bruce D., Fu S., Armstrong S., Dean R.T. (1999) Int.J.Biochem.Cell Biol., **31**, 1409-1420.
28. Бурлакова Е.Б., Крашаков С.А., Храпова Н.Г. (1998) Биол. мембр., **15**, 137-167.
29. Guyton J.R., Lenz M.L., Mathews B., Hughes H., Karsan D., Selinger E., Smith C.V. (1995) Atherosclerosis, **118**, 237-249.
30. Colles S.M., Irwin K.C., Chisolm G.M. (1996) J. Lipid Res., **37**, 2018-2028.
31. Hodis H.N., Kramsch D.M., Avogaro P., Bittolo-Bon G., Cazzolato G., Hwang J., Peterson H., Sevanian A. (1994) J. Lipid Res., **35**, 669-677.
32. Khoo J.C., Miller E., McLoughlin P., Steinberg D. (1988) Arteriosclerosis, **8**, 348-358.
33. Medvedeva N.V., Morozkin A.D., Valentinova N.V., Scherbakova I.A., Gorshkova I.N., Perova N.V., Lyakishev A.A., Ruuge E.K. (1991) CV World Reports, **4**, 102-108.
34. Тертов В.В. (1999) Ангиология и сосудистая хирургия, **5**, 218-240.

Поступила 12.11.01

## INHIBITION OF OXIDATION OF HUMAN LOW-DENSITY LIPOPROTEINS BY CAROTINOIDS FROM PAPRICA (*Capsicum annum*)

N.V. Medvedeva<sup>1</sup>, V.A. Andreenkov<sup>2</sup>, A.D. Morozkin<sup>3</sup>, E.A. Sergeeva<sup>1</sup>,  
Yu.I. Prokof'ev<sup>1</sup>, A.Yu. Misharin<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Orehovich Institute of biomedical Chemistry, RAMS, Pogodinskaya St.10, 119992, Moscow, phone: (095) 2463375, fax: (095) 2450857, e-mail: nmedved@pol.ru

<sup>2</sup>AOO Aromaros-M,

<sup>3</sup>Cardiology Research Center, 3rd Cherepkovskaya St., 15a, 121552, Moscow

$\beta$ -Carotene (C1), acyl derivatives of capsanthin (C2), and acyl derivatives of capsorubin (C3) were isolated from red paprika (*Capsicum annum*) oleoresin. Incorporation of carotenoids C1, C2, and C3 into human plasma LDLs changed the LDL flotation coefficient distribution for LDL fraction 1.019<d<1.050 g/ml. The comparative studies of Cu<sup>2+</sup>-catalyzed oxidation for LDL, LDL-C1, LDL-C2, and LDL-C3 revealed that carotenoids C1, C2, and C3 efficiently suppressed the oxidation of LDL, inhibited the formation of conjugated dienes from polyunsaturated fatty acid residues, lowered the content of small dense LDL subfraction, and inhibited the transformation of cholesterol to auto oxidized products (in particular to 5,6-epoxycholesterol, 7-ketocholesterol and 7 $\beta$ -hydroxycholesterol). This suggests that the main carotenoids may effectively inhibit LDL oxidation *in vitro* with probable lowering the "atherogenic" LDL subfraction production *in vivo*.

**Keywords:** carotenoids, antioxidants, lipid oxidation, LDL, atherosclerosis.