

УДК 541.127

© Коллектив авторов

АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ И ИХ ОЗДОРОВИТЕЛЬНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ КОМБИНАЦИИ С ФОСФОЛИПИДНЫМ КОМПЛЕКСОМ

**В.С. Баранова¹, И.Ф. Русина², Д.А. Гусева³, Н.Н. Прозоровская^{1*},
О.М. Ипатова¹, О.Т. Касаикина²**

¹Учреждение Российской академии медицинских наук
Научно-исследовательский институт биомедицинской химии РАМН
им. В.Н. Ореховича, 119121, Москва, Погодинская ул., 10; тел.: (499) 246-94-91;
эл. почта: nat-prozorovskaya@yandex.ru

²Учреждение Российской академии наук
Институт химической физики РАН им. Н.Н. Семенова

³Московский государственный университет технологий и управления

Методом хемилюминесценции (ХЛ) измерены эффективная концентрация антиоксидантов (АО) и их антирадикальная активность (АРА) в 13 растительных экстрактах. АРА всех исследованных экстрактов превышала АРА синтетического антиоксиданта ионола. Наиболее высокую АРА проявили экстракты *Larix dahurica*, *Hypericum perforatum*, *Potentilla fruticosa*, *Aronia melanocarpa* и *Rhaponticum carthamoides*. Синергизм между экстрактами наблюдался в комбинациях (*Aronia* + *Rhaponticum*), (*Larix* + *Hibiscus*), (*Schizandra* + *Aronia*); величина синергизма (β) составляла 38%, 33% и 22% соответственно. По-видимому, это результат взаимодействия соединений, присутствующих в экстрактах. Фосфолипиды (в данном случае фосфолипидный комплекс Lipoid S40), сами не являясь антиоксидантами, продемонстрировали высокую синергическую активность в сочетании с экстрактом *Aronia* ($\beta = 60\%$) и экстрактом *Silybum* ($\beta = 41\%$). Сочетание экстрактов с фосфолипидным комплексом усиливало их ингибирующее действие, увеличивая период индукции. Результаты клинических испытаний показали, что исследованные комбинации могут быть рекомендованы как дополнительное средство в составе комплексной терапии хронических заболеваний сердечно-сосудистой и гепатобилиарной системы, а также в качестве самостоятельного средства для профилактики этих заболеваний.

Ключевые слова: фитоэкстракты, антиоксиданты, антирадикальная активность, хемилюминесцентный метод, синергизм, профилактические комбинации.

ВВЕДЕНИЕ. В последние десятилетия в связи с ухудшением экологической обстановки все больше внимания уделяется профилактике заболеваний, развитие которых в той или иной степени связано с повреждающим действием свободных радикалов. В этом плане особое место занимают природные антиоксиданты,

* - адресат для переписки

которые отличаются малой токсичностью и обладают полифункциональной активностью [1]. Источником их могут служить растительные экстракты, применяемые в качестве биологически активных добавок (БАД) к пище.

Однако отношение к БАД остается неоднозначным, периодически склоняясь то в положительную, то в отрицательную сторону. Между тем, БАД могут быть полезны для восполнения имеющихся у человека недостатков питания, а комплексное применение лекарств и БАД в качестве вспомогательных средств может помочь значительно уменьшить количество используемых лечебных препаратов [2, 3].

Заслуживают внимания оздоровительно-профилактические композиции, включающие комбинации соевого фосфолипидного комплекса, экстрактов лекарственных растений и БАД на их основе [4].

Экспериментальными и клиническими исследованиями показано, что фосфолипиды играют важную роль в метаболизме организма человека, проявляя мембраностабилизирующее, гепатопротекторное, липотропное, антиатерогенное и целый ряд других свойств [5]. Сами не обладая антиоксидантными свойствами, фосфолипиды являются синергистами многих антиоксидантов, входящих в систему неферментативной антиоксидантной защиты липидов в организме человека [6, 7]. Они также способствуют всасыванию и лучшему усвоению жирорастворимых витаминов А, D, Е и К; каротиноидов, убихинонов и ряда других биоактивных веществ. Представляется целесообразным усиление и расширение спектра оздоровительно-профилактических свойств фосфолипидов с помощью экстракта или экстрактов лекарственных растений за счёт биологического синергизма в действии фосфолипидов и растительных экстрактов, определяемого наличием общих мишеневых систем, отдельных органов или метаболических процессов, и использования лецитина в качестве синергиста в антиоксидантном действии экстрактов, содержащих вещества фенольной природы [4, 8, 9].

Целью настоящей работы было:

1. Измерение в 13 растительных экстрактах суммарной эффективной концентрации антиоксидантов (АО) и их антирадикальной активности (АРА) кинетическим методом добавок ингибитора в модельной реакции инициированного окисления углеводорода с контролем интенсивности хемилюминесценции (ХЛ).
2. Исследование совместного ингибирующего действия экстрактов и их композиций с фосфолипидным комплексом, оцениваемого по величине периода индукции.
3. Клиническое исследование переносимости и терапевтической эффективности четырёх БАДов на основе оздоровительно-профилактических композиций, включающих соевый фосфолипидный комплекс и фитоэкстракты.

МЕТОДИКА.

Материалы. Растительные экстракты, приобретенные у ООО “Хармс”, ООО “Реликт” и ЗАО “Аметис” (Благовещенск), стандартизированные и соответствующие требованиям, которые предъявляются к материалам, разрешенным к употреблению в производстве пищевых продуктов и БАД Роспотребнадзором РФ (табл. 1).

Сухой очищенный экстракт аронии черноплодной, содержащий сумму фенольных соединений, включая проантоцианидины и флавоноловые гликозиды кверцетинового ряда, приготовленный по запатентованной технологии [10].

Фосфолипидный комплекс “Лецитин соевый Lipoid S 40” (Фосфатидилхолин (ФХ) – не менее 40%; фосфатидилэтаноламин (ФЭ) 18-20%; фосфатидилинозитол (ФИ) 6-8%), предназначенный для использования в пищевой промышленности.

Биологически активные добавки (БАД), зарегистрированные в России, произведенные в ГУ НИИ биомедицинской химии РАМН: “Лицерон”, “Лецитин с экстрактом расторопши”, “Лецитин плюс дигидрокверцетин”, “Лецитин плюс Q10”.

Таблица 1. Характеристика исследованных экстрактов.

№	Растение	Сырье для экстракта	Биоактивное начало	Содержание %
1.	Арония черноплодная <i>Aronia melanocarpa</i> (Elliot.) Michx.	Листья	<u>Полифенолы</u> <u>Прокатонизирующие</u> <u>Флавоноиды</u>	52
2.	Гибискус (каркаде, суданская роза) <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Чашелистики	<u>Антоцианы</u> <u>Органические</u> <u>кислоты</u>	20
3.	Зверобой продырявленный <i>Hypericum perforatum</i> L.	Соцветия	Гиперицин	0,3
4.	Зверобой продырявленный <i>Hypericum perforatum</i> L.	Трава	Флавоноиды	5
5.	Зеленый чай <i>Camellia sinensis</i> L.	Листья	Катехины Полифенолы	20 40
6.	Лавчатка кустарниковая, или Куропатский чай <i>Potentilla fruticosa</i> L.	Корневище	Дубильные вещества кондесированный принуды	25
7.	Леккер сафлоровидный <i>Rhaphanistrum</i> <i>carthamoides</i> Willd.	Корни и корневище	<u>Экдистен</u> <u>Флавоноиды</u> <u>Дубильные вещества</u>	0,6
8.	Лимонник китайский <i>Schizandra chinensis</i> Baill.	Семена	<u>Лигнаны</u> <u>Салицилаты</u> <u>(B+E)</u>	0,5
9.	Ликтеишник даурский <i>Larix dahurica</i> Turcz.	Древесина	Дигидрокверцетин	85
10.	Расторопша пятнистая <i>Silybum maritimum</i> L.	Семена	Флавонолитин (салицин)	20
11.	Родиола розовая <i>Rhodiola rosea</i> L.	Корни и корневище	Салидрозид	1,5
12.	Шиповник коричный <i>Rosa cinnamomea</i> L.	Плоды (гипофит)	Флавоноиды Каротиноиды	4,1 2,7
13.	Шлемник байкальский <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	Корни Корневище	Флавоноиды	15

Хемилюминесцентный метод (ХЛ-метод). Эффективную концентрацию антиоксидантов и их относительную активность измеряли ХЛ-методом, суть которого состоит в регистрации интенсивности хемилюминесценции (ХЛ) модельной цепной реакции иницированного окисления углеводорода (RH) при известной скорости иницирования после введения в систему антиоксиданта, или ингибитора окисления [11, 12]. В качестве субстрата окисления использовали этилбензол (50%); инициатора - азо-бис-изобутиронитрил (АИБН); активатора – дибромантрацен (ДБА) или хелат Еи (трис-теноил трифторацетонат европия). Навеску исследуемого образца растворяли в диметилсульфоксиде (ДМС) – базовый раствор; далее к 0,5 мл базового раствора добавляли 0,5 мл ацетонитрила (рабочий раствор) и 0,1 мл рабочего раствора вводили в реакционную смесь (4,9-6,1 мл), помещенную в термостатируемый реакционный сосуд ХЛ-установки, и далее регистрировали изменение интенсивности свечения. Нейтральность растворителей в процессе окисления была проверена контрольными экспериментами по неизменности скорости окисления.

Скорость иницирования свободных радикалов (W_i) в каждом опыте контролировали по периодам торможения, обусловленным добавками стандартного сильного ингибитора – хромана C_1 (синтетический аналог α -токоферола),

АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ

для которого стехиометрический коэффициент ингибирования (f) равен 2, что позволяет количественно измерить W_i до и после введения образца и выхода ХЛ на стационарный уровень.

Суммарную эффективную концентрацию антиоксидантов (АО), присутствующих в исследуемом образце, рассчитывали по формуле, следующей из теории ХЛ жидкофазного окисления углеводов:

$$\Sigma f[AO]_{\text{эфф}} = \gamma \cdot T \cdot W_i \cdot (S_1/S_0) \quad (1),$$

где γ - фактор разбавления; T - период торможения (время в секундах от момента введения образца до выхода интенсивности свечения на исходный уровень); S_1 - площадь над кривой ХЛ, затупленной ингибиторами окисления образца; S_0 - нормировка, равная сумме площадей над (S_1) и под (S_2) кинетической кривой ХЛ; f - стехиометрический коэффициент ингибирования, показывающий количество свободных радикалов, прореагировавших с одной молекулой ингибитора.

Эффективную константу скорости взаимодействия АО с перокси-радикалами определяли по значению интенсивности свечения в минимуме кинетической кривой ХЛ ($i_{\min} = I_{\min}/I_0$) при добавлении исследуемого образца по формуле:

$$k_{inh} = \frac{(1 - i_{\min}) \sqrt{W_i \cdot k_t}}{\Sigma f[AO] \sqrt{i_{\min}}} \quad (2),$$

подставляя в формулу значение $\Sigma f[AO]$, вычисленное по формуле (1).

Эффект синергизма β определяли по ингибирующему действию компонентов композиции на процесс окисления, оцениваемому по продолжительности периода индукции (τ), используя метод хемилюминесценции:

$$\beta = (\Delta\tau/\tau_{\Sigma}) \times 100\%, \text{ где}$$

$\Delta\tau = \tau_{\Sigma} - \Sigma\tau_i$; τ_{Σ} - период индукции смеси ингибиторов; $\Sigma\tau_i$ - сумма периодов индукции отдельных ингибиторов.

Для сравнительной оценки АРА экстрактов в качестве стандарта был использован синтетический антиоксидант из группы затруднённых фенолов – ионол (2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол) (“Merck”, Германия), для которого $k_{inh} = 2,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$. АРА ионола была принята за единицу и АРА экстрактов были представлены также и в виде ионольного эквивалента.

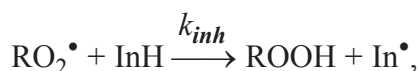
Клиническое исследование было проведено на базе ФГУ “Российский научный центр восстановительной медицины и курортологии” Минздравсоцразвития, г. Москва, и на базе Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И.П. Павлова с целью изучения переносимости и терапевтической эффективности БАДов “Лицерон”, “Лецитин с экстрактом расторопши”, “Лецитин плюс дигидрокверцетин” и “Лецитин плюс Q10”. Всего в исследование было включено 168 пациентов. При исследовании каждой БАД пациенты были произвольно разбиты на две группы: основную – пациенты на фоне стандартной терапии получали БАД и контрольную – пациенты получали только стандартную терапию. Перед началом исследований было получено информированное согласие пациентов на их участие. Исследование проводилось по ограниченной программе как открытое, контролируемое, параллельное, рандомизированное. Оценка эффективности препаратов производилась на основании динамики клинических проявлений основного заболевания, данных лабораторно-биохимических исследований, а также инструментальных исследований. Переносимость оценивали опросно-анкетным методом на основании субъективных симптомов и ощущений и выражали как неудовлетворительная (нежелательный побочный эффект, отрицательно влияющий на состояние пациента и требующий прекращения приёма), удовлетворительная (побочные эффекты, влияющие на состояние организма, но не требующие отмены приёма) или хорошая переносимость (побочные эффекты не отмечаются или они незначительны).

Статистическую обработку данных проводили на компьютере с использованием программ Excel и Statistika.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

Характеристика исследованных экстрактов. Основной характеристикой эффективности действия антиоксидантов (АО), их антирадикальной активности (АРА), является величина константы скорости взаимодействия ингибитора с пероксильными радикалами (k_{inh}).

На самом деле, АРА является молекулярной характеристикой соединений, способных реагировать со свободными радикалами. Она в определенной степени отражает участие продуктов превращения ингибитора в процессе окисления и определяет скорость только одной элементарной реакции общепринятой модели ингибированного окисления:



тогда как антиоксидантная активность отражает способность соединений тормозить процесс окисления в целом, являясь брутто-характеристикой процесса, скорость которого определяется соотношением скоростей элементарных реакций [13]. Поэтому измерение ХЛ-методом эффективной концентрации АО и их антирадикальной активности информативно в плане оценки эффективности продукта как носителя антиоксидантов, но недостаточно для оценки устойчивости продукта к окислительным изменениям.

Самая высокая скорость взаимодействия с пероксильными радикалами наблюдалась у экстракта лиственницы даурской, основным компонентом которого является дигидрокверцетин (ДГК), (табл. 2). Антирадикальную активность проявили все исследованные экстракты, однако АРА, значительно превышающую активность ионола, показали, помимо экстракта лиственницы даурской, экстракты соцветий зверобоя продырявленного, лапчатки кустарниковой, аронии черноплодной и левзеи сафлоровидной. Экстракты лимонника, шлемника и шиповника имели АРА, равную активности ионола.

Таблица 2. Характеристика исследованных экстрактов Скорость иницирования: W_i (АИБН) = $3 \cdot 10^{-8}$ (Мс⁻¹).

№	Растение Экстракт	$\Sigma[АО]^*$ мг/мл/г	k_{inh}^{**} (Мс) ⁻¹	АРА ^{***}	Период индукции τ , секунды
1.	Арония	3,27	$1,19 \times 10^5$	5,45	1070
2.	Гибискус	0,47	$4,3 \times 10^4$	1,95	1650
3.	Зверобой (соцветия)	0,04	$3,58 \times 10^5$	16,27	850
4.	Зверобой (трава)	0,87	$5,96 \times 10^4$	2,71	1570
5.	Зеленый чай	0,04	$6,12 \times 10^4$	2,78	920
6.	Лапчатка	0,65	$1,85 \times 10^5$	8,41	710
7.	Левзея	0,60	$1,19 \times 10^5$	5,41	1080
8.	Лимонник	0,52	$2,23 \times 10^4$	1,01	1185
9.	Лиственница (ДГК)	1,88	$3,44 \times 10^6$	156,4	100
10.	Расторопша	1,05	$5,2 \times 10^4$	2,36	900
11.	Родiola	0,07	$4,98 \times 10^4$	2,26	1270
12.	Шиповник	0,74	$2,21 \times 10^4$	1,00	1110
13.	Шлемник	0,76	$2,45 \times 10^4$	1,11	890

Примечание: * - суммарная эффективная концентрация антиоксидантов в экстракте; ** - константа скорости взаимодействия ингибитора с пероксильными радикалами; *** - антирадикальная активность, выраженная в единицах ионола.

Сравнение ингибирующего действия отдельных экстрактов по периоду индукции τ , показало, что наиболее продолжительное действие оказывают экстракты гибискуса, травы зверобоя, лимонника (табл. 2).

АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ

Совместное ингибирующее действие смеси экстрактов оценивали как **синергизм**, если период индукции смеси был больше, чем сумма периодов индукции отдельных экстрактов; как **аддитивность**, если период индукции смеси был равен сумме периодов индукции каждого из экстрактов, и как **антагонизм**, если период индукции смеси был меньше суммы периодов индукции каждого из экстрактов, то есть ингибиторы-экстракты мешали друг другу:

$$\tau\Sigma > \Sigma\tau_i \text{ (синергизм); } \tau\Sigma = \Sigma\tau_i \text{ (аддитивность); } \tau\Sigma < \Sigma\tau_i \text{ (антагонизм) [14].}$$

Синергизм наблюдался между экстрактами аронии и левзеи (38%), листенницы и гибискуса (33%), лимонника и аронии (22%) (табл. 3). Между тем, совместное тормозящее действие экстрактов лимонника и левзеи, аронии и родиолы, зеленого чая и аронии было меньше суммы действий каждого экстракта в отдельности, то есть, по-видимому, имел место антагонизм (табл. 3). Аддитивны были экстракты аронии и зеленого чая.

Таблица 3. Влияние смешивания экстрактов и сочетания их с фосфолипидным комплексом (лецитин соевый Липоид S40) на продолжительность периода индукции. Скорость инициирования: W_i (АИБН) = $3 \cdot 10^{-8}$ (Мс⁻¹)

Смесь	Соотношение	Период индукции τ , сек *	Синергизм β , % **
Расторопша + липоид S40	1:7	1520 > 900	41
Арония + липоид S40	1:10	2650 > 1070	60
Листенница + гибискус	1:1	2605 > 1750 (100 + 1650)	33
(Листенница + гибискус) + липид S40	1:7	3140 > 2605	17
Лимонник + левзея	1:1	1830 < 2530 (1450 + 1080)	Отсутствует
Арония + левзея	1:1	3465 > 2150 (1070 + 1080)	38
Зеленый чай + арония	1:2	1900 < 1990 (920 + 1070)	Отсутствует
Зеленый чай + левзея	1:2	1490 < 2000 (920 + 1080)	Отсутствует
(Зеленый чай + левзея) + липид S40	1:5	2460 > 1490	39
Арония + родиола	1:1	1800 < 2340 (1070 + 1270)	Отсутствует
Арония + лимонник	1:1	2890 > 2255 (1070 + 1185)	22
(Арония + лимонник) + липид S40	1:7	3640 > 2890	21

Примечание. * - $\tau\Sigma > \Sigma\tau_i$ (синергизм); $\tau\Sigma = \Sigma\tau_i$ (аддитивность); $\tau\Sigma < \Sigma\tau_i$ (антагонизм); ** - формулу расчёта см. в разделе "Методика".

Сочетание экстракта аронии и экстракта расторопши с фосфолипидами усиливало их ингибирующее действие, оцениваемое по величине периода индукции (табл. 3). Синергизм составлял 60% и 41% соответственно. Фосфолипиды усиливали ингибирующее действие также смеси двух экстрактов: ДКГ + гибискус, зеленый чай + левзея и арония + лимонник. Интересен тот факт, что сочетание экстрактов зеленого чая и левзеи снижало их ингибирующее действие, а комбинация этой смеси с фосфолипидным комплексом приводила к синергизму.

Исследование терапевтической эффективности комбинации фосфолипидного комплекса с экстрактами.

Исследование переносимости и эффективности БАД “Лицерон” в составе комплексной терапии больных с заболеваниями сердечно-сосудистой системы и сопутствующей гиперхолестеринемией.

“Лицерон” - полифункциональная БАД, представляющая собой комплекс растительных фосфолипидов и полифенолов; вырабатываемая на основе соевого фосфолипидного концентрата и экстракта листьев аронии черноплодной.

Под наблюдением находились 42 человека. Пациенты основной группы (20 человек) на фоне стандартной терапии получали “Лицерон” по 2 капсулы три раза в день и пациенты контрольной группы (22 человека) получали только стандартную терапию. У всех больных были верифицированные диагнозы: ИБС, стенокардия напряжения, артериальная гипертензия, гиперхолестеринемия и наблюдалось стабильное течение заболевания на протяжении не менее 3-х месяцев. Оценка эффективности производилась на основании динамики клинических проявлений основного заболевания, данных лабораторно-биохимических и инструментальных исследований. В ходе исследования установлено положительное влияние препарата “Лицерон” на течение заболеваний сердечно-сосудистой системы, которое проявилось в тенденции к более значимым сдвигам в динамике клинической картины у больных основной группы, хотя различия между показателями анализа крови (гемоглобин, эритроциты, СОЭ и т.д.) до и после лечения в обеих группах и между группами не были статистически достоверными. Однако “Лицерон” оказал значимое влияние на нормализацию целого ряда лабораторно-биохимических показателей сыворотки крови (табл. 4 и 5). Например, в опытной группе наблюдалось более заметное снижение уровня общего холестерина по сравнению с контрольной (55% против 37%) (табл. 4). Если до лечения не было значимых различий между показателями активности АСТ (аспартат-аминотрансферазы) контрольной и опытной групп, то после лечения эти различия стали статистически значимыми (табл. 4). Изучение динамики показателей липопероксидации выявило более выраженное снижение содержания ацетилгидроперекисей при лабораторно-биохимическом анализе сыворотки крови в группе, получавшей БАД совместно с базовым лечением, по сравнению с группой, получавшей только базовое лечение, ($p < 0,05$), (табл. 5). Достоверное снижение содержания малонового альдегида (МДА) в опытной группе свидетельствует об антиоксидантном потенциале БАД, а именно экстракта аронии (табл. 5). Ингибирующий эффект БАД совместно с базовым лечением был в два раза выше эффекта одного базового лечения (24% против 12%) (табл. 5).

Таблица 4. Динамика некоторых основных биохимических показателей сыворотки крови (лечение в основной группе с дополнением БАД “Лицерон”).

Показатели	При поступлении (1-й день)		После лечения (30-й день)	
	Контрольная группа, n=22	Основная группа, n=20	Контрольная группа, n=22	Основная группа, n=20
Общий холестерин (ммоль/л)	7,25±1,11	7,23±1,19*	4,54±1,22	3,25±1,11*
Общий билирубин (ммоль/л)	13,8±2,32	14,0±1,77	13,8±4,22	13,9±2,61
АСТ (5-34 МЕ/л)	12,2±0,43 ⁺	11,9±0,75*	10,8±0,57 ^у	8,6±0,28 ^{*у}
АЛТ (0-40 МЕ/л)	31,0±1,1	31,9±1,2	27,5±1,7	25,3±1,3
Триглицериды (ммоль/л)	3,98±1,12	4,22±1,0	4,0±0,5	3,55±0,8

Примечание. Здесь и далее помечены статистически значимые различия ($p < 0,05$ - $p < 0,01$):

+ - между показателями до и после лечения в контрольной группе; * - между показателями до и после лечения в основной группе; у - между показателями опытной и контрольной групп после лечения.

АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ

Таблица 5. Динамика некоторых показателей перекисного окисления липидов сыворотки крови (лечение в основной группе с добавлением БАД “Лицерон”).

Показатели	При поступлении (1-й день)		После лечения (30-й день)	
	Контрольная группа, n=22	Основная группа, n=20	Контрольная группа, n=22	Основная группа, n=20
Маловязкий диальдегид (МДА) мкмоль/л	3,39 ± 0,2	3,41 ± 0,19*	2,98 ± 0,16	2,61 ± 0,11*
Ацетилгидроперекиси (АГП) мкмоль/л	12,2 ± 0,43 ⁺	11,9 ± 0,75*	10,8 ± 0,57 ⁺⁺	8,6 ± 0,28* ⁺⁺

Ранее нами было продемонстрировано, что экстракт аронии оказывает значительное ингибирующее действие на процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ), инициированного в ткани печени введением животным CCl_4 , при этом степень ингибирования зависит от дозы экстракта [12]. Показано также, что внутрибрюшинное введение экстракта предупреждает возникновение явлений оксидативного стресса в полушариях головного мозга, вызванного 30-минутной иммобилизацией [15].

Отмечено, что фитопрепараты, содержащие комплексы фенольных соединений, дают более выраженный антиоксидантный эффект, чем применение индивидуального фенольного соединения [3, 16].

Исследование эффективности и переносимости БАД “Лецитин с экстрактом расторопши” в лечении хронических заболеваний гепатобилиарной системы различной этиологии и дискинезии желчевыводящих путей

В состав БАД входят фосфолипидный комплекс – лецитин соевый и экстракт из семян расторопши. Под наблюдением находились 43 пациента, произвольно разделенные на две группы – основную (22 пациента на фоне базовой терапии получали БАД по 2 капсулы два раза в день) и контрольную (21 пациент получал только базовую терапию – спазмолитические препараты либо препараты, стимулирующие моторику ЖКТ в зависимости от диагноза). Оценка эффективности БАД “Лецитин с экстрактом расторопши” проводилась на основании уменьшения выраженности патологических синдромов, характерных для хронических заболеваний гепатобилиарной системы с дисфункциональными расстройствами билиарного тракта. До и после лечения проводили ультразвуковое исследование желчного пузыря с целью оценки эхогенности, размеров печени и желчного пузыря, а также лабораторно-биохимические исследования (определение активности АЛТ (аланин-аминотрансфераза), АСТ, щелочной фосфатазы, уровня билирубина общего, холестерина общего, триглицеридов). В обеих группах – основной и контрольной – отмечена эффективность проводимой терапии, однако наблюдались значимые различия между ними в динамике клинического состояния больных и динамике проявлений клинических симптомов хронических патологий гепатобилиарной системы в пользу основной группы. Например, боли в правом подреберье в опытной группе полностью исчезли у 50% больных, значительно уменьшились у 36%. В контрольной группе эти цифры составили в обоих случаях 33%. Хотя положительная динамика биохимических показателей сыворотки крови наблюдалась в обеих группах, в большей степени она была выражена в основной группе (табл. 6). Если, например, между исходными показателями печеночных ферментов обеих групп не было значимых различий, то после лечения различия были статистически значимыми. Так, на 30-й день лечения активность ферментов АЛТ и АСТ в основной группе снизилась на 63% и 46% против 54% и 48% в контрольной группе соответственно (табл. 6). Однако лечение не привело к значимому снижению уровня холестерина общего и триглицеридов в обеих группах.

Таблица 6. Динамика биохимических показателей сыворотки крови (лечение в основной группе с добавлением БАД “Лецитин с экстрактом расторопши”).

Показатели (норма)	При поступлении (1-й день)		После лечения (30-й день)	
	Контрольная группа, n=21	Основная группа, n=22	Контрольная группа, n=21	Основная группа, n=22
АЛП (0-40 ME/л)	89±1,9 ⁺	87±1,7*	42±1,6 ^{ty}	32±1,5* ^{ty}
АСТ (5-34 ME/л)	74,5±1,3 ⁺	74,0±1,2*	39,0±1,1 ^{ty}	34,0±1,0* ^{ty}
Билирубин общий (0-18 мкмоль/л)	29,0±4,6	32,1±5,0*	19±3,8	18±4,0*
Холестерин общий (2,97-6,45 ммоль/л)	6,5±2,0	6,5±1,5	5,9±1,9	5,3±1,5
Тимоловая проба (0-3 ед.)	4,9±0,6	5,1±0,8*	3,5±0,7	2,8±0,6*
Триглицериды (0,42-3,0 ммоль/л)	1,8±0,3	1,8±0,3	1,6±0,3	1,5±0,3

Восстановление моторики желчного пузыря, по данным УЗИ, отставало от улучшения клинической картины, однако была заметна явная тенденция к более быстрой нормализации показателей в основной группе по сравнению с контрольной. Так, например, число наблюдений умеренной гепатомегалии после лечения в основной группе снижалось на 83% (с 12 случаев до 2) против 70% в контрольной группе (с 10 случаев до 3).

В целом переносимость БАД “Лецитин с экстрактом расторопши” оценена как “хорошая”. Во время исследования только у двух пациентов были отмечены кратковременные дискомфортные ощущения в эпигастральной области, которые пациенты связали скорее с погрешностями в диете, чем с приёмом БАД. Дело в том, что в контрольной группе у одного пациента тоже возникали кратковременные ощущения дискомфорта в эпигастральной области. При продолжении лечения подобные реакции в опытной группе не возникали. Таким образом, результаты исследования показали, что БАД “Лецитин с экстрактом расторопши” хорошо переносится больными и в комплексном лечении хронических заболеваний гепатобилиарной системы способствует более быстрой положительной динамике клинического состояния больных.

Рост заболеваемости хроническими заболеваниями печени (ХЗП) различной этиологии всё время растёт [17]. В связи с этим необходима не только разработка новых действенных препаратов, но повышенное внимание к профилактическим мерам. Дело в том, что в число основных звеньев в патогенезе ХЗП входит повреждение мембран гепатоцитов и усиление перекисного окисления липидов [17].

Как уже говорилось выше, фосфолипиды, сами не обладая антиоксидантными свойствами, являются синергистами многих антиоксидантов, входящих в систему неферментативной антиоксидантной защиты липидов в организме человека [5-7,17]. Молекулы фосфолипидов, по-видимому, встраиваются в поврежденные участки мембраны гепатоцита, замещая имеющиеся дефекты и защищая органеллы клетки.

При сочетании двух гепатопротекторов – фосфолипидов и экстракта расторопши, содержащего силибин, который способствует стабилизации мембраны гепатоцитов, усиливается антиоксидантное действие препарата.

АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ

Следует отметить, что в лечебных целях применяется несколько лекарственных препаратов, содержащих флавоноиды расторопши, например: “Гепабене”, “Легалон”, “Карсил”, “Силибор” и др. В статье Головановой Е.В. приведен обзор исследований, показывающих, что в составе силибин-фосфатидилхолинового комплекса (фитосомы) оба компонента усиливают действие друг друга, проявляя синергизм воздействия на поврежденные гепатоциты [17, 18].

Исследование эффективности и переносимости БАД “Лецитин плюс дигидрокверцетин” в терапии хронической патологии сердечно-сосудистой системы.

В состав БАД входят соевый лецитин (Lipoid S40), флавоноидный комплекс лиственницы и экстракт гибискуса. Под наблюдением находились 40 пациентов, страдающих артериальной гипертонией 1-2 степени, ишемической болезнью сердца (ИБС), гиперхолестеринемией, со стабильным течением основного заболевания не менее трёх месяцев. Пациенты были разделены на две одинаковые по численности группы: основная - помимо базового лечения больные получали БАД по одной капсуле два раза в день и контрольная – больные получали только базовое лечение.

Наблюдения, сделанные в ходе исследования, говорят о хорошей переносимости БАД “Лецитин + дегидрокверцетин”. Не было отмечено ни одного случая аллергических реакций или побочных эффектов.

Динамика некоторых параметров инструментального обследования пациентов с хронической патологией сердечно-сосудистой системы свидетельствует о тенденции к более заметной нормализации показателей артериального давления (как систолического, так и диастолического) в основной группе по сравнению с контрольной.

Наблюдение динамики биохимических показателей сыворотки крови выявило положительное влияние лечения в обеих группах, но статистически значимое снижение имело место только в случае уровня билирубина общего, ферментов АСТ, АЛТ и ЛПНП (табл. 7). Хотя статистически значимых различий между группами не было обнаружено, выявленные тенденции свидетельствуют о гепатопротекторных свойствах БАД “Лецитин плюс дегидрокверцетин”.

Таблица 7. Динамика биохимических показателей сыворотки крови (лечение в основной группе с добавлением БАД “Лецитин плюс дегидрокверцетин”).

Показатели (норма)	При поступлении (1-й день)		После лечения (30-й день)	
	Контрольная группа, n=20	Основная группа, n=20	Контрольная группа, n=20	Основная группа, n=20
АСТ (5-34 МЕ/л)	55,4±3,8 ⁺	49,1±2,3*	33,0±5,1 ⁺	32,5±4,6*
АЛТ (0-40 МЕ/л)	51,4±4,3 ⁺	49,6±1,2*	31,0±4,1 ⁺	30,3±3,7*
Билирубин общий (0-18 мкмоль/л)	14,7±0,78 ⁺	13,9±0,46*	11,4±0,79 ⁺	11,0±0,69*
Холестерин общий (2,97-6,45 ммоль/л)	6,75±0,45	6,54±0,48	5,41±0,57	5,22±0,67
Холестерин ЛПНП (ммоль/л)	5,15±0,32 ⁺	5,31±0,12*	3,76±0,23 ⁺	3,65±0,13*
Холестерин ЛПВП (ммоль/л)	1,01±0,01	1,09±0,02	1,18±0,01	1,15±0,01
Триглицериды (0,42-3,0 ммоль/л)	1,76±0,23	1,89±0,31	1,65±0,12	1,69±0,30
Гликоза (ммоль/л)	4,8±0,5	4,9±0,5	4,6±0,4	4,5±0,5

В ходе проводимого клинического исследования было отмечено положительное влияние БАД на самочувствие пациентов. Так, у большинства пациентов основной группы значительно снизилась частота жалоб на головную боль, слабость, повышенную утомляемость, боли за грудиной, одышку после физического напряжения (табл. 8).

Таблица 8. Динамика клинических симптомов, характерных для патологии сердечно-сосудистой системы (лечение в основной группе с добавлением БАД “Лецитин плюс дегидрохверцетин”).

Показатели	До лечения (1-й день)		После лечения (30-й день)	
	Контрольная группа	Основная группа	Контрольная группа	Основная группа
Одышка при физической нагрузке	11 (55) ⁺	12 (60) [*]	5 (25) ⁺	4 (20) [*]
Кардиалгия	18 (90) ⁺	17 (85) [*]	3 (15) ⁺	1 (5) [*]
Головная боль	9 (45)	12 (60) [*]	4 (20)	3 (15) [*]
Общая слабость	17 (85) ⁺	15 (75) [*]	5 (25) ⁺	4 (20) [*]
Отеки нижних конечностей	8 (40)	7 (35)	2 (10)	1 (5)

Примечание. Указано количество пациентов с данным симптомом. В скобках указана их относительная доля (%) от общего числа пациентов в группе n = 20

Результаты клинического испытания свидетельствуют, что БАД “Лецитин плюс дегидрохверцетин” позволяет повысить эффективность традиционного лечения хронической патологии сердечно-сосудистой системы. БАД способствует нормализации лабораторно-биохимических показателей углеводного и липидного профиля пациентов с сопутствующей гиперхолестеринемией. БАД хорошо переносится больными и способствует улучшению общего самочувствия при данных хронических заболеваниях.

Не очень впечатляющие различия в лечебном эффекте между показателями контрольной и основной групп можно объяснить, по-видимому, небольшой дозой действующего вещества, ограничения по которой налагаются на БАД; недостаточным сроком применения и возможно, необходимостью более длительного промежутка между приемом препаратов базовой терапии и БАД, что требует отдельного внимания.

Исследование эффективности и переносимости БАД “Лецитин плюс Q10” в терапии ИБС, артериальной гипертензии и ишемической болезни мозга.

В состав БАД входят соевый лецитин (Lipoid S40), кофермент Q10 и сухой экстракт шиповника коричневого. В клиническом испытании приняли участие 43 человека с различными формами ИБС, различными стадиями артериальной гипертензии, хроническими формами нарушений мозгового кровообращения и ожирением 1-2 степени. Все больные имели на протяжении не менее 3-х месяцев стабильное течение нескольких заболеваний. Больные были разбиты на две группы: основную (22 пациента), где помимо традиционной терапии основного заболевания в индивидуально подобранных дозах они получали БАД по 2 капсулы 2 раза в день в течение 30 дней, и контрольную (21 пациент). Отмечена хорошая переносимость БАД пациентами. В ходе исследования не было отмечено никаких побочных эффектов или несовместимости с проводимой базисной терапией. Оценка эффективности проводилась на основании изменений выраженности клинических симптомов, характерных для артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца и ишемической болезни мозга. Антиокислительное и липотропное действие БАД оценивали на основании динамики лабораторно-биохимических показателей в 1-й и 30-й день терапии.

АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ

Результаты клинического испытания БАД “Лецитин плюс Q10” показали улучшение самочувствия, сна, значимое уменьшение частоты жалоб на головокружение, головную боль, одышку и слабость (табл. 9). Была также выявлена положительная динамика биохимических показателей сыворотки крови (табл. 10). В основной группе после лечения имело место статистически значимое снижение уровня холестерина общего и ЛПНП и коэффициента атерогенности, хотя и не до уровня нормы (табл. 10). Положительное влияние БАД на показатели липидного обмена заслуживает особого внимания. Так, в отличие от одной базовой терапии сочетание её с БАД “Лецитин плюс Q10” привело к значимому снижению коэффициента атерогенности (с 3,98 до 3,46 при норме от 2 до 2,5), который позволяет оценить риск развития атеросклероза. Между тем, не наблюдались достоверные различия между группами в отношении показателей липидного обмена. Достоверные различия между группами были выявлены в динамике показателей суточного мониторирования ЭКГ у пациентов в ходе проводимого исследования (табл. 11). Дополнительная терапия БАД “Лецитин плюс Q10” способствовала достоверному снижению частоты экстрасистол в основной группе по сравнению с контрольной, а также достоверному уменьшению выраженности признаков ишемии миокарда (смещение сегмента ST и деформации зубца T по ишемическому типу).

Таблица 9. Динамика выраженности клинических симптомов (лечение в основной группе с добавлением БАД “Лецитин + Q10”).

Показатели	До лечения (1-й день)		После лечения (30-й день)	
	Контрольная группа	Основная группа	Контрольная группа	Основная группа
Слабость	15 (71%)	15 (68%)*	7 (33%)	6 (27%)*
Головная боль	16 (76)	17 (77)*	8 (38)	7 (32)*
Одышка	10 (48)	11 (50)*	7 (33)	4 (18)*
Кардиалгии	8 (38)	9 (41)*	6 (29)	4 (18)*
Головокружение	2 (9)	3 (15)	1 (5)	1 (4)

Примечание. Указано количество пациентов с данным симптомом. В скобках указана их относительная доля (%) от общего числа пациентов в группе: контрольная группа n = 21; основная группа n = 22.

Таблица 10. Динамика биохимических показателей сыворотки крови (лечение в основной группе с добавлением БАД “Лецитин + Q10”).

Показатели (норма)	При поступлении (1-й день)		После лечения (30-й день)	
	Контрольная группа	Основная группа	Контрольная группа	Основная группа
Холестерин общий (ммоль/л)	6,23±0,18	6,33±0,14*	6,12±0,57	5,65±0,11*
Холестерин ЛПНП (ммоль/л)	6,8±0,23	6,9±0,25*	6,6±0,23	5,9±0,22*
Холестерин ЛПВП (ммоль/л)	1,28±0,009	1,27±0,005	1,22±0,003	1,24±0,004
Коэффициент атерогенности ед.	3,86±0,1	3,98±0,14*	4,0±0,18	3,46±0,13*

Таблица 11. Динамика показателей суточного мониторинга ЭКГ у больных под влиянием проводимой в ходе исследования медикаментозной терапии (лечение в основной группе с добавлением БАД “Лецитин + Q10”).

Показатели	При поступлении (1-й день)		После лечения (30-й день)	
	Контрольная группа	Основная группа	Контрольная группа	Основная группа
Экстрасистолы за сутки	22±2,3 ⁺	21±2,6*	12±1,9 ⁺	9±1,5*
Смещение 8Т и деформация зубца Т по ишемическому типу	19±1,1 ⁺	17±0,9*	11±0,7 ^у	7±0,45* ^у

Таким образом, БАД “Лецитин + Q10”

- хорошо переносится больными и имеет удовлетворительные органолептические свойства;
- способствует нормализации липидного профиля крови, что отражается положительной динамикой лабораторно-биохимических показателей;
- способствует уменьшению степени выраженности ряда клинических симптомов;
- уменьшает проявления ишемии миокарда и коронарной недостаточности у больных ИБС, артериальной гипертонией, что отражается положительной динамикой некоторых показателей суточного мониторинга ЭКГ.

ВЫВОДЫ

1. Все исследованные растительные экстракты содержат природные антиоксиданты, а их относительная активность превышает АРА известного ингибитора ионора.
2. Не все сочетания экстрактов проявляют синергизм ингибирующего действия. В большей степени эффект синергизма был выражен в сочетанном действии экстрактов аронии + левзеи и аронии + лимонника.
3. Фосфолипиды (ФЛ), сами не проявляя ингибирующей активности, являются эффективным синергистом антиоксидантов, присутствующих в экстрактах. Синергическими являются, например, композиции ФЛ + экстракт аронии; ФЛ + экстракт расторопши; ФЛ + (смесь экстрактов зеленого чая + левзеи); ФЛ + (смесь экстрактов аронии + лимонника).
4. Результаты клинических испытаний оздоровительно-профилактических композиций, включающих фитоэкстракты и фосфолипиды, свидетельствуют, что:
 - БАД “Лицерон” может быть рекомендована как дополнительное средство в составе комплексной терапии хронических заболеваний сердечно-сосудистой системы и сопутствующей гиперхолестеринемии, а также в качестве самостоятельного средства для профилактики этих заболеваний;
 - БАД “Лецитин с экстрактом расторопши” может быть рекомендована как дополнительное средство в комплексной терапии хронических заболеваний гепатобилиарной системы с дисфункциональными расстройствами билиарного тракта.
 - БАД “Лецитин + дигидрокверцетин” (Лецитин + ДГК + экстракт каркаде) может быть рекомендована в составе комплексной терапии хронической патологии сердечно-сосудистой системы.
 - БАД “Лецитин + Q10 + экстракт шиповника” может быть использована в качестве эффективного профилактического средства при нарушениях липидно-холестеринового обмена, ишемической болезни сердца, функциональных заболеваниях сердечно-сосудистой системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Pietta P.G.* (2000) *J. Nat. Prod.*, **63**, 1035-1042.
2. *Лопачев В.А., Миронова О.П., Чудаков С.Ю.* (2002) *Атмосфера. Нервные болезни.*, №2, 12-15.
3. *Николаев С.М.* (1992) *Растительные лекарственные препараты при повреждениях гепатобилиарной системы.* Новосибирск. 155 с.
4. *Прозоровская Н.Н., Баранова В.С., Тихонова Е.Г., Ипатов О.М., Прозоровский В.Н.* (2003) ПАТЕНТ № 2252029. Оздоровительно-профилактическая композиция, включающая комбинации соевого фосфолипидного комплекса и экстрактов лекарственных растений, и биологически активная добавка на основе этой композиции.
5. *Ипатов О.М., Прозоровская Н.Н., Торховская Т.И., Баранова В.С., Гусева Д.А.* (2004). *Биомед. химия*, **50**, 436-450.
6. *Бурлакова Е.Б., Крашаков С.А., Храпова Н.Г.* (1998) *Биологические мембраны РАН*, **15**(2), 137-167.
7. *Сторожок Н.М.* (2002) *Биоантиоксиданты и фосфолипиды. Механизм сочетанного действия.* VI Международная конференция БИОАНТИОКСИДАНТ. Тезисы докладов. 555-557.
8. *Костюк В.А., Потапович А.И.* (2004) *Биорадикалы и биоантиоксиданты.* Мн.: БГУ 174 с.
9. *Битра* – биотехнологические разработки. Фенольные соединения.
<http://bitra.ru/eras.htm>
10. *Ипатов О.М., Прозоровская Н.Н., Прозоровский В.Н., Княжев В.А., Баранова В.С., Груздьева А.Е.* (2000) ПАТЕНТ № 2171111. Экстракт листьев Аронии, обладающий биологической активностью, и способ его получения.
11. *Русина И.Ф., Морозова И.С., Гагарина А.Б.* (1990) *Известия Академии Наук СССР, Серия биологическая.* №3, 399-405.
12. *Ипатов О.М., Прозоровская Н.Н., Русина И.Ф., Прозоровский В.Н.* (2003). *Биомед. химия*, **49**, 165-176.
13. *Сторожок Н.М.* (1996) *Межмолекулярные взаимодействия компонентов природных липидов в процессе окисления.* - Автореф. дисс. докт. наук., Москва.
14. *Денисов Е.Т., Саркасов О.М., Лихтенштейн Г.И.* (2000) *Химическая кинетика, Химия*, М.
15. *Суворова М.Н., Давыдов В.В., Прозоровский В.Н., Швец В.Н.* (2005) *Биомед. химия*, **51**, 66-71.
16. *Packer L., Rimbach G., Virgili F.* (1999) *Free Rad. Biol. Med.*, **27**, 704-724.
17. *Голованова Е.В.* (2010) *Трудный пациент. Архив* №4.
http://www.t-pacient.ru/archive/tp4-10/tp4-10_663.html
18. *Катикова О.Ю., Ших Е.В., Раменская Г.В., Хаджиева Б.Р., Красных Л.М.* (2009) *Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии.* **3**, 13-21.

Поступила: 14. 09. 2011.

THE ANTIRADICAL ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS AND HEALTHFUL PREVENTIVE COMBINATIONS OF THESE EXTRACTS WITH THE PHOSPHOLIPID COMPLEX

V.S. Baranova¹, I.F. Rusina², D.A. Guseva³, N.N. Prozorovskaya¹, O.M. Ipatova¹, O.T. Kasaikina²

¹Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Russian Medical Academy of Sciences,
ul. Pogodinskaya, 10, Moscow, 119121 Russia

²Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina, 4, Moscow,
119997 Russia

³Moscow State University of Technique and Control, ul. Zemlaynoy val. 73, Moscow, 109004 Russia

Using the chemiluminescence method, the effective concentration of antioxidants (AO) and its reactivity toward peroxy radicals (ARA, the k_7 constant) have been measured for 13 plant extracts. In fact all extracts demonstrated ARA higher than ionol. *Larix dahurica*, *Hypericum perforatum*, *Potentilla fruticosa*, *Aronia melanocarpa* and *Rhaponticum carthamoides* extracts showed the highest values of ARA. The combinations *Aronia* + *Raponticum* extracts; *Larix* + *Hibiscus* extracts; *Schizandra* + *Aronia* extracts were synergistic (the synergism effect β of 38%, 33% and 22%). Apparently this phenomenon is the result of the synergistic interaction between compounds present in plant extracts. The Phospholipid complex - Lipoid S40, lacking any antioxidant effect alone, showed a potent synergistic effect with *Aronia* extract (β = 60%), *Silybum* extract (β = 41%). Clinical trials demonstrated, that combinations "Lipoid + *Aronia* extract", "Lipoid + *Larix* extract + *Hibiscus* extract", "Lipoid + *Silybum* extract", "Lipoid + Q10 + *Rosa majalis* extract" may be used as an additional component in the medicinal treatment, or as an individual prophylactic agent.

Key words: plant extracts, antioxidants, antiradical activity, chemiluminescence technique, synergism, preventive combinations, Lipoid S40.