

УДК 577.12+615.324.593.96

©Коллектив авторов

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭХИНОХРОМА А ОТДЕЛЬНО И В СОСТАВЕ БАД “ТИМАРИН”

А.А. Артюков¹, А.М. Попов^{1}, А.В. Цыбульский²,
О.Н. Кривошапко¹, Н.В. Полякова³*

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Россия, 690022 Владивосток, пр. 100-лет Владивостоку, 159; тел.: (4232)311661; факс: (4232)314050; эл. почта: popovam@piboc.dvo.ru

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

³Институт химии ДВО РАН, Владивосток

В эксперименте на добровольцах изучен спектр фармакологической активности эхинохрома А (ЭХА) отдельно и в составе БАД “Тимарин”, которые применялись перорально. До и после проведения курса лечения этими препаратами оценивали гематологические, иммунологические и биохимические показатели крови. Обнаружено, что прием ЭХА вызывает через 1 ч падение уровня глутатиона (GSH) в крови и увеличение активности каталазы. Через 3 ч после приёма ЭХА наблюдается нормализация уровня каталазы и превышение исходного уровня GSH. Установлены сдвиги в липидном спектре крови, демонстрирующие снижение риска атерогенеза. Полученные данные указывают на модуляцию под влиянием БАД “Тимарин” состояния половых желез, что выражалось в изменении уровней половых гормонов в крови. Изменения гематологических и иммунологических параметров были оценены как следствие мягкого стрессогенного действия ЭХА и ЭХА-содержащего БАД “Тимарин”, приводящего к переходу организма на более высокий уровень адапционно-приспособительной реактивности.

Ключевые слова: эхинохром А, 1,4-нафтохиноны, фармакологическая активность, механизм действия.

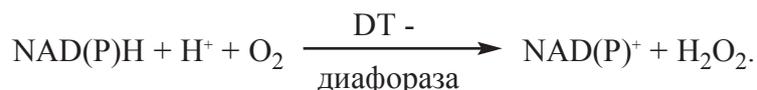
ВВЕДЕНИЕ. Природные соединения нафтохиноновой структуры являются перспективным источником для получения препаратов с различной фармакологической активностью [1-4]. Из морских ежей были выделены различные пигменты, названные спинохромами, которые относятся по своему строению к полигидроксилированным 1,4-нафтохинонам [5]. Из спинохромов наибольшее внимание по спектру фармакологической активности привлёк 7-этил-2,3,5,6,8-пентагидрокси-1,4-нафтохинон, получивший ранее тривиальное название эхинохром А (ЭХА). Выраженные терапевтические свойства ЭХА при офтальмологических и сердечно-сосудистых заболеваниях, которые авторы объясняли его высокой антиоксидантной активностью, обеспечили возможность внедрения этого препарата в клинику под коммерческой маркой “Гистохром”® [6-8].

Как показали результаты наших недавних исследований [4], широкий спектр фармакологической активности ЭХА и других 1,4-нафтохинонов нельзя свести только к прямому антиоксидантному действию. ЭХА, как и другие 1,4-нафтохиноны, обладает способностью акцептировать 1 или 2 электрона. Все плазматические мембраны клеток млекопитающих в своем составе содержат конститутивный

* - адресат для переписки

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭХИНОХРОМА А

фермент ДТ-диафорузу (NQ01, NAD(P)H: хинон-оксидоредуктаза, КФ 1.6.5.2), непосредственно участвующую в транспорте электронов через мембранный слой для нейтрализации протонов, которые постоянно удаляются во избежание ацидоза из клетки протонным насосом (H^+ -АТРаза). ДТ-диафоруза одинаково эффективно использует в качестве субстратов не только 1,4-хиноны, но и 1,4-нафтохиноны [9-11]. Особенностью данной ферментативной реакции является не только двухэлектронное восстановление 1,4-нафтохинонов в нестабильную 1,4-гидронафтохиноновую форму за счёт использования NAD(P)H клетки, но и быстрое самопроизвольное окисление получающихся гидронафтохинонов кислородом в пределах плазматической мембраны клетки. В результате этой редокс-реакции образуется исходный 1,4-нафтохинон и появляется новый продукт – пероксид водорода (H_2O_2). Суммарно итог ферментативной реакции может быть записан в следующей упрощённой форме:



В низких концентрациях H_2O_2 является биохимическим мессенджером, запускающим целый каскад физиологических изменений в клетках [12-14]. Прежде всего H_2O_2 приводит в действие биохимические процессы, которые регулируются латентными факторами транскрипции, называемыми рецепторами активаторов пролиферации пероксисом (PPAR_S). Семейство данных рецепторов вместе с их лигандами и ко-активаторами увеличивает экспрессию генов, кодирующих белки и ферменты, входящие в пероксисомы. В пероксисомах клеток сосредоточены практически все ферменты антиоксидантной защиты (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, тиоредоксин, пероксиредоксин и др.), ферменты синтеза плазмалогенов и метаболизма жирных кислот и многие другие. Система действия рецепторов PPAR_S играет важную роль в регулировании метаболизма и в подавлении процессов воспаления в клетках. Препараты, воздействующие на рецепторы PPAR_S, способны влиять на липидный профиль крови, препятствовать развитию сахарного диабета второго типа, стабилизировать иммунную систему, подавлять воспалительные реакции разной этиологии, уменьшать действие индуцибельной NO-синтазы и предупреждать развитие кардиоваскулярных заболеваний [15].

Кроме того, уменьшение уровня кислорода (расход кислорода на окисление 1,4-гидронафтохинона) приводит к локальной гипоксии и резкой активации гипоксия-индуцибельного фактора (HIF-1) – главного контролера и регулятора при функционировании клеток в этих условиях. HIF-1 способствует значительному увеличению экспрессии ряда генов белков-ферментов, которые принимают участие в метаболизме глюкозы и работе митохондриального цикла, что повышает интенсивность функционирования клеток [16].

Однако несмотря на значительный прогресс в понимании механизмов действия ЭХА на клеточном уровне, в настоящее время остаются актуальными дальнейшие исследования спектра его фармакологической активности при пероральном маршруте введения в организм человека с целью расширения лечебно-профилактического применения ЭХА при различных патологиях.

В настоящей работе в условиях клинического эксперимента нами было изучено влияние ЭХА-содержащего БАД “Тимарин” на гематологические, иммунологические и биохимические параметры организма человека.

МЕТОДИКА. БАД “Тимарин” представляет собой концентрированный спиртовой экстракт морских ежей, содержащий природные антиоксиданты (эхинохром, аскорбиновая кислота), широкий комплекс природных минеральных веществ и органических соединений, имеющий патент Российской Федерации за № 2340216 [17] и санитарно-эпидемиологическое заключение Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека № 77.99.03.935.Б.000138.06.04 от 14. 06. 2004 г.

Полигидроксинафтохинон эхинохром А (ЭХА) был выделен из плоского морского ежа *Scaphechinus mirabilis* сотрудниками лаборатории биотехнологии ТИБОХ ДВО РАН согласно ранее опубликованной методике [5].

Исследования проводили на 30 здоровых добровольцах: 16 женщин в возрасте 54±8 лет и 14 мужчин в возрасте 52±10 лет. БАД “Тимарина” принимали перорально из расчёта 1 мг ЭХА в объёме 100 мл дистиллированной воды 1 раз в день в течение 20 дней.

Для изучения быстрого изменения уровней восстановленного глутатиона (GSH) и глюкозы (Glc) в крови волонтеров в отдельном случае применяли перорально 50 мг эхинохрома А в объёме 100 мл дистиллированной воды 1 раз.

При проведении фармакологических исследований проводили забор крови в вакуумные пробирки с антикоагулянтом ЭДТА, а при оценке биохимических параметров использовали сыворотку крови. За один день до начала приёма БАД “Тимарин” производили забор крови и проводили исследования гематологических, иммунологических и биохимических показателей. По окончании курса приёма препарата производили забор крови и проводили исследование того же набора показателей.

Гематологические исследования производили с использованием гематологического анализатора Cell Dyn 3700 (“Abbot”, США). При изучении липидного профиля крови определяли содержание общего холестерина (ОХС), триглицеридов, ХС липопротеинов высокой, низкой и очень низкой плотности (ХС ЛПВП, ХС ЛПНП и ХС ЛПОНП, соответственно), рассчитывали коэффициент атерогенности (КА) по следующей формуле: КА (условные единицы) = (ОХС – ХС ЛПВП)/ ХС ЛПВП, где ОХС – общий холестерин, ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности.

Анализ содержания ХС, ЛПНП и ЛПВП в сыворотке крови животных, расчёт КА проводили с помощью биохимического анализатора “Cobas INTEGRA 400 PLUS” (“ROCHE”, Швейцария). Для анализа концентрации глюкозы в крови использовали глюкометр One Touch Ultra (Германия), а для определения концентрации триглицеридов и ферментативной активности аспартатаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ) в сыворотке крови – диагностический набор Новоглюк-К.М (“Вектор-Бест”, Россия). Состояние антиоксидантной системы защиты определяли по уровню продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) согласно [18].

Иммунологические показатели оценивали в цельной крови с ЭДТА, используя проточный цитофлуориметр BD FACS Calibur и диагностические тест-системы производства BD (США). Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили по следующим CD-маркерам: CD3, 4, 8, 16, 19, 25, 95 и HLA-DR.

Стероидные половые гормоны (эстрадиол, тестостерон) определяли методом конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием планшетного фотометра EL808iu (“BioTek”, США) в соответствии с инструкциями к наборам “Nova Tek” (Германия).

Уровни восстановленного и окисленного глутатиона оценивали спектрофлуориметрически [19], активность каталазы определяли по убыли H_2O_2 [20].

Достоверность различий показателей оценивали с использованием прикладной программы SPSS 11/0 с определением критерия достоверности Фишера-Стьюдента. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. При исследовании действия 1,4-нафтохинона ЭХА на биохимические показатели крови было обнаружено, что прием этого соединения вызывает через 1 ч падение в крови концентрации GSH и увеличение активности в клетках крови такого важного антиоксидантного фермента, как каталаза. Через 3 ч после приема ЭХА наблюдалось восстановление уровней каталазы и превышение исходного уровня GSH (рис. 1). Полученные результаты позволяют предположить, что появление H_2O_2 в крови и тканях волонтеров за счёт реакции ЭХА с DT-диафоразой клеток отражается

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭХИНОХРОМА А

на состоянии антиоксидантной системы организма. Поскольку H_2O_2 строго контролируется в тканях ферментами антиоксидантной защиты каталазой (CAT) и глутатион-зависимой пероксидазой (GRX), её утилизация будет связана с расходом восстановленного глутатиона (GSH) в клетках (GSH – основной антиоксидант цитозоля клеток). Полученные данные по содержанию в крови GSH и его быстрому восстановлению из окисленной формы GSSG свидетельствуют также о влиянии ЭХА на углеводный обмен в организме (GSSG восстанавливается глутатионредуктазой в присутствии NAD(P)H, который поступает из гексозомонофосфатного пути, активируемого поступающей в клетку глюкозой).

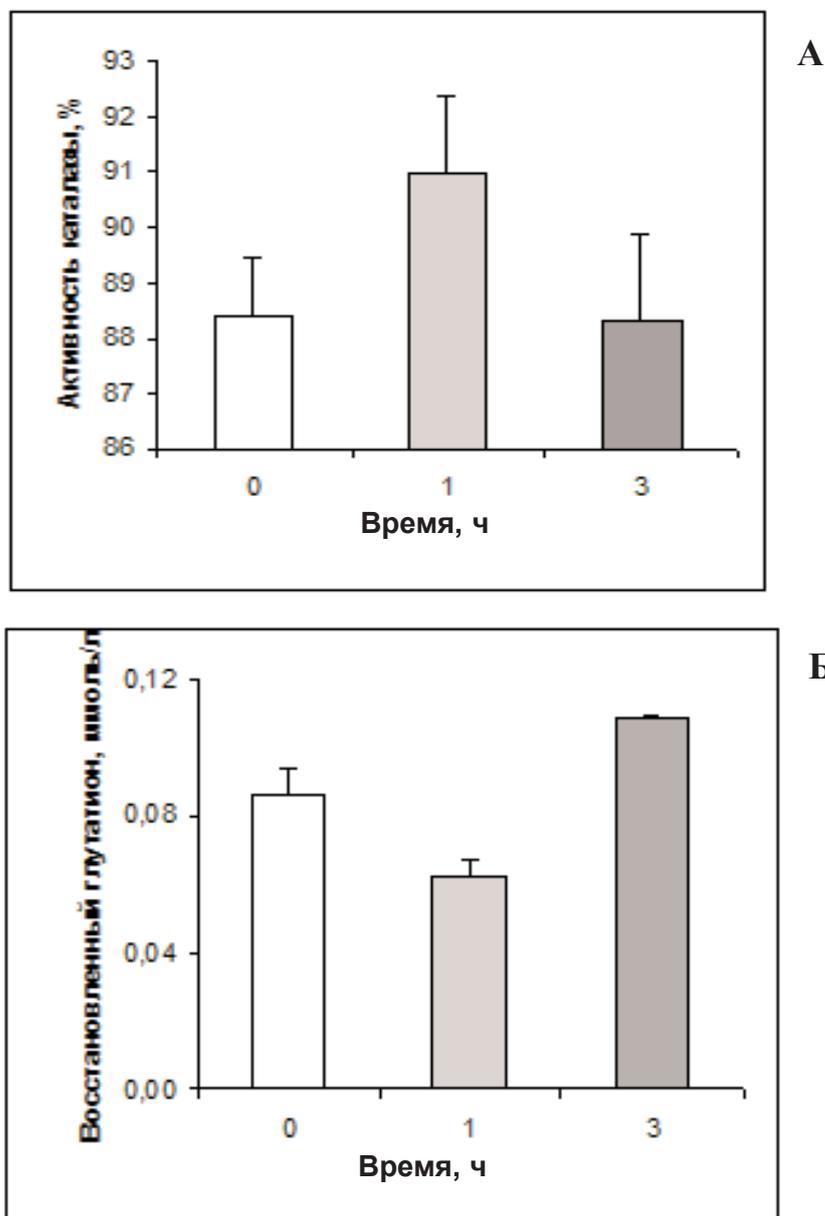


Рисунок 1.

Активность каталазы (а) и уровень восстановленного глутатиона (б) в крови добровольцев до приема (0) и после приема ЭХА спустя 1 и 3 ч. Представлены средние из трех независимых экспериментов \pm стандартная ошибка.

По оси абсцисс: время, в ч. По оси ординат: (а) - активность каталазы, в %, (б) - содержание восстановленного глутатиона, в ммоль/л.

В серии экспериментов мы исследовали содержание глюкозы, количество инсулина и С-пептида, образующихся при активации проинсулина в β -гранулах клеток поджелудочной железы у здоровых волонтеров до и после приёма БАД “Тимарин”. В везикулах этих клеток зрелый инсулин сохраняется в форме цинксодержащего гексамера вплоть до секреции. Нами была выполнена работа по изучению влияния БАД “Тимарин” на уровень содержания в крови инсулина, С-пептида, гликированного гемоглобина (HbA1c) и глюкозы. Добровольцы (13 человек) никогда не болевшие диабетом 1-го или 2-го типа и имеющие содержание глюкозы в крови в пределах физиологической нормы (3,1–6,4 ммоль/л), получали ежедневно перорально 1 мг ЭХА (БАД “Тимарин”) утром за 30 мин до приёма пищи в течение 20 дней. Итоговые данные этого эксперимента приведены в таблице.

Таблица. Влияние 20-дневного курса приема БАД "Тимарин" на уровень инсулина, С-пептида, гликозилированного гемоглобина (HbA1c) и глюкозы в крови добровольцев до приема препарата и после.

Показатели	Инсулин (мкМЕ/мл)		С-пептид (нг/мл)		HbA1c (%)		Глюкоза (ммоль/л)	
	До	После	До	После	До	После	До	После
Физиологическая норма	3,00 – 17,00		1,10 – 4,40		4,00 – 6,00		3,10 – 6,40	
Среднее значение	12,4	10,13	3,92	2,93	4,03	3,98	5,53	5,25
Среднее снижение (%)	18,8±1,5		25,2±2,1		1,24±0,2		5,0±0,4	

Данные таблицы демонстрируют снижение содержания в крови инсулина, С-пептида, глюкозы и HbA1c после ежедневного приёма 1 мг ЭХА в составе БАД “Тимарин” в течение 20 дней, что свидетельствует о заметной стимуляции углеводного обмена. Полученные результаты по влиянию БАД “Тимарин” на содержание и метаболизм глюкозы хорошо согласуются с экспериментальными данными о высокой протективной активности ЭХА при аллоксановом диабете [1, 3, 4].

Учитывая исторически сложившуюся тенденцию применения препаратов ЭХА с акцентом на профилактику и лечение кардиологических заболеваний, особый интерес представляет оценка влияния БАД “Тимарин” на показатели липидного спектра крови и показатели риска развития атерогенеза. Представленные на рисунке 2 данные показывают наличие позитивных сдвигов по большинству показателей, характеризующих этот риск. В крови пациентов, получавших “Тимарин”, отмечено снижение уровней триглицеридов, свободного ХС, ХС ЛПНП и ЛПОНП, а также снижается расчетный показатель КА. Эти изменения липидного спектра крови происходят однотипно и в группе женщин, и в группе мужчин. Однако, у мужчин липидная картина крови отличается рядом особенностей, которые характеризуются, в частности, существенно более высоким исходным показателем КА ($p < 0,05$). В группе мужчин, таким образом, имеется более высокий риск развития атеросклероза и характерных для этого патологического процесса последствий. В то же время, курс “тимаринотерапии” у мужчин приводит к более выраженному относительному снижению этого показателя, хотя в абсолютном выражении КА у мужчин после курса “тимаринотерапии” остается несколько выше, чем у женщин. Это, возможно, требует проведения более длительного курса применения БАД “Тимарин” или его повторного проведения до достижения более значимых результатов.

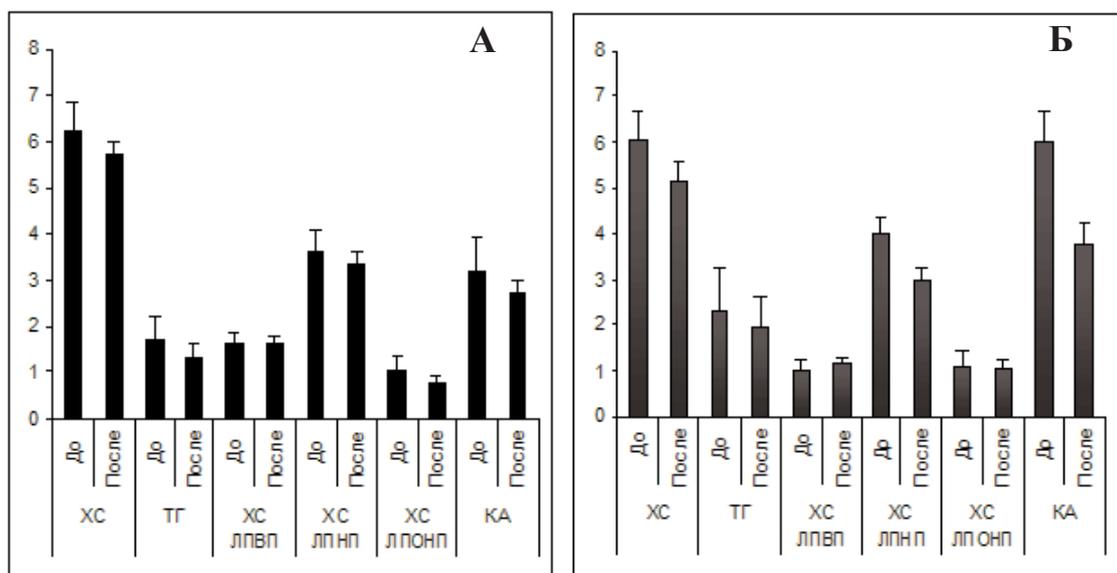


Рисунок 2.

Показатели липидного обмена в группе пациентов, получавших БАД “Тимарин” в дозе 1 мг в день перорально в течение 20 дней. А - женщины, Б - мужчины. По оси абсцисс: ХС - холестерин, ТГ - триглицериды, ХС ЛПВП - холестерин липопротеидов высокой плотности, ХС ЛПНП - холестерин липопротеидов низкой плотности, ХС ЛПОНП - холестерин липопротеидов очень низкой плотности, КА - коэффициент атерогенности. Показатели до и после курсового приема БАД “Тимарин”.

По оси ординат: показатели ХС и ТГ в ммоль/л и КА в расчётных единицах.

В данном эксперименте в условиях перорального приема БАД “Тимарин” значительных сдвигов в гематологических и иммунологических показателях не выявлено. Однако, имеются некоторые тенденции, позволяющие говорить о том, что препарат оказывает мягкое модулирующее влияние на систему крови и иммунитета, которое в целом можно охарактеризовать как активацию иммунной системы, переход её на более высокий функциональный уровень. Можно предположить, что эти сдвиги являются результатом мягкого стрессогенного действия БАД “Тимарин” с развитием адаптационных процессов в системе крови и иммунитета.

Нам представился интересным анализ различий в реакции организма мужчин и женщин на БАД “Тимарин”. После проведения курса выявлена одинаково направленная тенденция к снижению уровня эстрадиола и в группе мужчин, и в группе женщин. Причём, в группе женщин эта тенденция проявляется более интенсивно ($20,1 \pm 1,1$ и $11,7 \pm 0,6$ пмоль/л соответственно до и после курса приёма БАД “Тимарин”, $p < 0,05$), т.е. происходит почти двукратное снижение уровня этого гормона. У мужчин уровни эстрадиола до и после курса приёма БАД “Тимарин” составляли $32,7 \pm 2,8$ и $24,8 \pm 0,7$ пмоль/л соответственно ($p < 0,05$). Отмечается и незначительная тенденция к снижению уровня тестостерона: у женщин снижение с $0,32 \pm 0,04$ до $0,28 \pm 0,04$ нг/мл, а у мужчин - с $5,64 \pm 0,7$ до $5,29 \pm 0,45$ нг/мл ($p > 0,05$). Как известно, более информативным в плане оценки содержания уровня половых гормонов является расчет их соотношения между собой. Индекс соотношения эстрадиола к тестостерону изменялся следующим образом: у женщин снижался с 62,53 до 41,42, у мужчин - с 5,8 до 4,7 ($p < 0,05$). Отметим, что все эти показатели находятся в пределах возрастной нормы, а тенденция к относительному

повышению уровню тестостерона в группе мужчин является, видимо, позитивной. С позиций оценки механизмов действия БАД “Тимарин” эти данные можно однозначно трактовать в том плане, что курс приёма препарата вызывает переход физиологических систем организма на более высокий уровень реактивности: половые железы являются одним из высоко чувствительных органов, отражающих общие изменения в организме при стрессогенных воздействиях наряду с гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системой.

Для анализа влияния курса “тимаринотерапии” на состояние иммунной системы мы провели оценку популяционного и субпопуляционного состава лейкоцитов крови с оценкой уровня экспрессии мембранных дифференцировочных CD-антигенов, позволяющих оценить уровень активации иммунной системы (рис. 3). При анализе этих данных обращает на себя внимание тенденция повышения иммунорегуляторного индекса и содержания естественных киллерных клеток (ЕК-клеток) в обеих группах, а также – наличие противоположной динамики в показателях содержания Т- и В-лимфоцитов. Если в группе женщин изменения Т- и В-лимфоцитов характеризовалось небольшой, статистически недостоверной отрицательной динамикой, то у мужчин происходил подъём соответствующих показателей. В целом, эти данные позволяют говорить о мягком модулирующем влиянии курса “тимаринотерапии” на иммунную систему. Для детализации этого вывода изучено относительное содержание клеток крови, экспрессирующих дифференцировочные CD-антигены - маркеры функционального состояния клеток, а именно: рецепторы к интерлейкину-2 (CD25), рецепторы к FAS/APO-1 (CD95 - маркеры апоптоза), и антигены главного комплекса гистосовместимости HLA-DR.

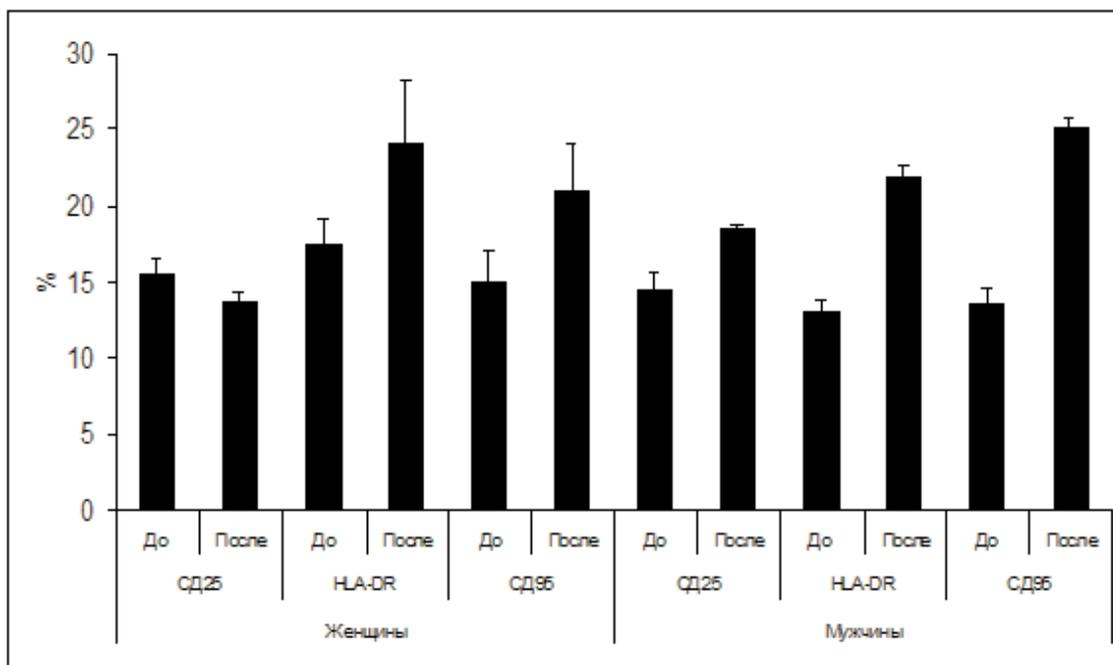


Рисунок 3.

Содержание лимфоцитов, экспрессирующих CD-маркеры клеточной активации и апоптоза у пациентов, принимавших БАД "Тимарин" в дозе 1 мг в течение 20 дней. По оси абсцисс: CD25 - лимфоциты, экспрессирующие низкоаффинную α -цепь рецептора к ИЛ-2, HLA-DR - лимфоциты, экспрессирующие антигены HLA-DR главного комплекса гистосовместимости, CD95 - лимфоциты, экспрессирующие мембранный маркер апоптоза. Показатели до и после курсового приема БАД “Тимарин”. По оси ординат - процент от общего содержания лимфоцитов.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭХИНОХРОМА А

Данные, приведенные на рисунке 3, показывают также статистически достоверное ($p < 0,05$) повышение содержания лимфоцитов, экспрессирующих антигены HLA-DR и маркеры апоптоза как у мужчин, так и у женщин. В отношении количества лимфоцитов, экспрессирующих CD25, обнаружены межполовые различия. В группе женщин статистически недостоверная тенденция имела слабый негативный характер, а у мужчин происходил достоверный ($p < 0,05$) прирост содержания лимфоцитов, экспрессирующих рецептор к ИЛ-2. При этом, все показатели не выходили за границы физиологической нормы. Оценивая выявленную динамику, можно предположить, что под влиянием курса приёма БАД “Тимарин” происходит переход иммунной системы на несколько более высокий уровень функционирования. Усиление экспрессии HLA-DR отражает усиление способности иммунокомпетентных клеток к межклеточной кооперации и повышает эффективность процессинга и презентации антигена, а повышение уровня экспрессии маркера апоптоза является свидетельством усиления процессов клеточного обновления в организме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ. В целом, полученные результаты отражают развитие адаптационных процессов, активированных в организме человека вследствие мягкого стрессогенного воздействия перекиси водорода, в дополнительном синтезе которой принимает участие ЭХА как основной действующий компонент БАД “Тимарин”, что приводит к переходу различных систем организма на более высокий функциональный уровень. Способность воспринимать стрессовые сигналы и адаптироваться к ним – ключевой фактор выживаемости и жизнеспособности различных клеточных систем в организме человека. Активные формы кислорода (АФК) могут передавать сигналы, в частности H_2O_2 опосредует передачу сигнала на дальние расстояния, которые запускаются такими стрессогенными факторами, как различного рода повреждения кожи, воздействия высоких температур и холода. На молекулярном уровне пероксид водорода опосредует передачу системных сигналов через очень важные клеточные пути, контролируемые различными факторами: ядерным фактором κB (NF- κB), который принимает участие в ответе на стресс и воспаление; фактором-2, связанным с эритроидным фактором 2 (Nrf2), который принимает участие в защите клеток от окислительного стресса; γ -рецептор-активатор пролиферации пероксисом (PPAR- γ) - регулятор клеточного метаболизма; факторы теплового шока (HSFs) - регуляторы синтеза белков теплового шока [9]. Это и определяет комплексный характер защитного действия ЭХА в составе БАД “Тимарин” на организм человека.

Полученные нами данные позволяют сформулировать ряд выводов:

1. БАД “Тимарин” при курсовом пероральном применении оказывает мягкое модулирующее влияние на различные системы организма и приводит к переходу этих систем на более высокие функциональные уровни.
2. БАД “Тимарин” оказывает корригирующее влияние на липидный спектр крови, приводящее к снижению риска развития атеросклероза и характерных для этого патологического процесса заболеваний.
3. БАД “Тимарин” оказывает модулирующее (преимущественно активирующее) действие на систему крови, обеспечивая более высокий уровень реактивности и возможность более оптимального протекания адаптационных процессов.
4. БАД “Тимарин” оказывает иммуностимулирующее действие, которое реализуется через увеличение субпопуляции лимфоцитов, обладающих свойствами естественных киллерных клеток, а также усиление экспрессии мембранных маркеров активации иммунокомпетентных клеток (рецепторов к ИЛ-2 и антигенов HLA-DR).
5. БАД “Тимарин” при курсовом пероральном применении приводит к усилению процессов клеточного обновления, реализующихся с участием апоптогенных механизмов.

6. Установлены незначительные межполовые различия в интенсивности, а в ряде случаев и в направлении реакции организма на курс монотерапии БАД “Тимарин”.

7. Учитывая большой спектр различных биологических эффектов БАД “Тимарин”, его применение в клинике может быть разнообразным, однако вопрос о показаниях и дозах препарата требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 06-04-96970-офи_а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попов А.М., Цыбульский А.В., Артюков А.А., Кривошапко О.Н. (2010) Росс. аллерголог. ж., **5**, 228-230.
2. Munday R, Smith B.L., Munday C.M. (2007) J. Appl. Toxicol., **27**(3), 262-269.
3. Кривошапко О.Н., Попов А.М., Артюков А.А. (2009) Здоровье. Медицинская экология. Наука, №4-5, 85–88.
4. Кривошапко О.Н., Попов А.М., Артюков А.А., Костецкий Э.Я. (2012) Биомед. химия, **58**, 189–198.
5. Nishibori K. (1959) Nature, **184**, 1234.
6. Лебедев А.В., Иванова М.В., Красновид Н.И., Кольцова Е.А. (1999) Вопр. мед. хим., **45**, 123-130.
7. Лебедев А.В., Левицкая Е.Л., Тихонова Е.В., Иванова М.В. (2001) Биохимия, **66**, 885–893.
8. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. (2005) Life Sci., **76**, 863-875.
9. Gough N.R. (2009) Sci. Signal., **2**(90), 1-2.
10. de Grey A.D.N.J. (2003) Protoplasma, **221**, 3-9.
11. Buffinton G.D., Öllinger K., Brunmark A., Cadenas E. (1989) Biochem. J., **257**, 561-571.
12. McMillan D.C., Sarvate S.D., Oatis J.E., Jollow D.J. (2004) Toxicological Sciences, **82**, 647-655.
13. Плетюшкина О.Ю., Фетисова Е.К., Лямзаев К.Г., Иванова О.Ю., Домнина Л.В., Высоцких М.Ю., Пустовидко А.В., Алексеевский А.В., Алексеевский Д.А., Васильев Ю.М., Мерфи М.П., Черняк Б.В., Скулачев В.П. (2006) Биохимия, **71**, 75-84.
14. Самохвалов В.А., Сметанина М.Д., Мусейкина Н.Ю., Мельников Г.В., Федотова О.В., Игнатов В.В. (2003) Биомед. химия, **49**, 122-127.
15. Semenza G.L. (2007) Science, **318**, 62-64.
16. Moore-Carrasco R., Bustamante M.P., Guerra O.G., Madariaga E.L., Escudero V.M., Arellano C.A., Palomo I. (2008) Mol. Med. Reports, **1**, 317-324.
17. Артюков А.А., Глазунов В.П., Козловская Э.П., Козловский А.С., Купера Е.В., Руцкова Т.А., Курика А.В., Попов А.М. (2008) Биологически активная добавка к пище и способ её получения. Патент РФ № 2340 216, БИ, № 34.
18. Карпищенко А.И. (1999) Медицинские лабораторные технологии. – СПб.: Интер-Медика.
19. Beer R.F., Sizer I.W. (1952) J. Biol.Chem., **195**, 133-140.
20. Hissin P.J., Hilf R. (1976) Anal Biochem., **74**(1), 214-226.

Поступила: 03. 06. 2011.

PHARMACOLOGICAL ACTIVITY ECHINOCHROME A
SINGLY AND CONSISTING OF BAA "TIMARIN"

A.A. Artyukov¹, A.M. Popov¹, A.V. Tsybulsky², O.N. Krivoshapko¹, N.V. Polyakova³

¹Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of Russian Academy of Science (FEB RAS), pr. 100-let Vladivostoku, 159, Vladivostok, 690022 Russia; tel.: (4232)311661; fax: (4232)314050; e-mail: popovam@piboc.dvo.ru

²Far East Federal University, Vladivostok, Russia

³Institute of Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia

Pharmacological activity of echinochrome A (EchA) alone and in the biologically active additives (BAA) "Timarin", administered *per os* has been investigated on volunteers. EchA decreased serum glutathione (GSH) and increased catalase activity 1 h after treatment; catalase activity normalized, while GSH exceeded the initial level 3 h after the treatment. Changes in serum lipid spectrum, demonstrating reduction of the risk atherogenesis were determined.

Key words: echinochrome A, 1,4-naphtoquinone, pharmacological activity, mechanism action.