

Для корреспонденции

Бобрышева Татьяна Николаевна – кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник центра биотехнологического инжиниринга ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

Адрес: 355017, Российская Федерация, г. Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1

Телефон: (8652) 95-68-08

E-mail: bobryshevatn@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0312-0441>

Бобрышева Т.Н.¹, Анисимов Г.С.¹, Золоторева М.С.¹, Бобрышев Д.В.², Будкевич Р.О.¹, Москалев А.А.^{3,4}

Полифенолы как перспективные биологически активные соединения

Polyphenols as promising bioactive compounds

Bobrysheva T.N.¹, Anisimov G.S.¹, Zolotoreva M.S.¹, Bobryshev D.V.², Budkevich R.O.¹, Moskaev A.A.^{3,4}

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет», 355017, г. Ставрополь, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 355017, г. Ставрополь, Российская Федерация

³ Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167982, г. Сыктывкар, Российская Федерация

⁴ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 129226, г. Москва, Российская Федерация

¹ North-Caucasus Federal University, 355017, Stavropol, Russian Federation

² Stavropol State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, 355017, Stavropol, Russian Federation

³ Institute of Biology, Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167982, Syktyvkar, Russian Federation

⁴ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, 129226, Moscow, Russian Federation

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках реализации проекта по теме «Создание первого в России высокотехнологичного производства пребиотика лактулозы и функциональных молочных ингредиентов для импортозамещения в медицине, ветеринарии, детском питании, производстве лечебно-профилактических продуктов для людей и животных» (Соглашение № 075-11-2022-021 от 07.04.2022) в соответствии с постановлением Правительства РФ от 09.04.2010 № 218 на базе ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Вклад авторов. Концепция и дизайн исследования – Будкевич Р.О., Анисимов Г.С., Москалев А.А.; сбор и обработка материала – Бобрышева Т.Н., Золоторева М.С., Анисимов Г.С., Бобрышев Д.В.; написание текста – Бобрышева Т.Н., Золоторева М.С., Бобрышев Д.В.; редактирование, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

Для цитирования: Бобрышева Т.Н., Анисимов Г.С., Золоторева М.С., Бобрышев Д.В., Будкевич Р.О., Москалев А.А. Полифенолы как перспективные биологически активные соединения // Вопросы питания. 2023. Т. 92, № 1. С. 92–107. DOI: <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2023-92-1-92-107>

Статья поступила в редакцию 16.05.2022. **Принята в печать** 01.12.2022.

Funding. The research was financially supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation as part of the project on the topic: "Creation of Russia's first high-tech production of lactulose prebiotic and functional dairy ingredients for import substitution in medicine, veterinary medicine, baby food, production of therapeutic and prophylactic products for humans and animals" (Agreement No. 075-11-2022-021 of 07.04.2022) in accordance with the Decree of the Government of the Russian Federation No. 218 of 09.04.2010 and carried out on the basis of the North Caucasus Federal University.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Contribution. The concept and design of the study – Budkevich R.O., Anisimov G.S., Moskaev A.A.; collection and processing of material – Bobrysheva T.N., Zolotoreva M.S., Anisimov G.S., Bobryshev D.V.; writing the text – Bobrysheva T.N., Zolotoreva M.S., Bobryshev D.V.; editing, approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For citation: Bobrysheva T.N., Anisimov G.S., Zolotoreva M.S., Bobryshev D.V., Budkevich R.O., Moskaev A.A. Polyphenols as promising bioactive compounds. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2023; 92 (1): 92–107. DOI: <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2023-92-1-92-107> (in Russian)

Received 16.05.2022. **Accepted** 01.12.2022.

Полифенолы (ПФ) – разнообразные и широко распространенные минорные биологически активные соединения растительного происхождения. Они содержатся в различных пищевых продуктах – фруктах, овощах, крупах, орехах, кофе, какао, специях, семечках. В зависимости от строения молекулы среди них выделяют фенольные кислоты, стильбены, флавоноиды, лигнаны. ПФ привлекают внимание исследователей в связи с широким набором биологических эффектов, оказываемых на организм человека.

Цель работы – анализ современных научных публикаций, посвященных биологическим эффектам ПФ.

Материал и методы. Обзор сделан на основе публикаций, представленных в базах данных PubMed, Google Scholar, ResearchGate, Elsevier, eLIBRARY, Cyberleninka. Предпочтение отдавалось оригинальным исследованиям, опубликованным за последние 10 лет в реферируемых источниках. Ключевые слова поиска: полифенолы, флавоноиды, ресвератрол, кверцетин, катехины.

Результаты. В патогенезе многих заболеваний, в том числе возраст-ассоциированных, лежат окислительный стресс, хроническое воспаление, нарушение микробиома, инсулинорезистентность, избыточное гликирование белков, генотоксичные воздействия. Накоплена большая доказательная база по антиоксидантным, антиканцерогенным, эпигенетическим, метаболическим, геропротекторным, противовоспалительным и противовирусным эффектам ПФ. Это дает основания считать их весьма перспективными микронутриентами, включение которых в рацион питания может снизить риск развития сердечно-сосудистых, онкологических, нейродегенеративных заболеваний, диабета, метаболического синдрома, ожирения, преждевременного старения, т.е. основных причин смертности, снижения продолжительности и качества жизни современного человека.

Заключение. Расширение ассортимента обогащенных ПФ пищевых продуктов с их высокой биодоступностью представляется перспективным направлением научных исследований и развития производства с целью профилактики социально значимых возраст-ассоциированных заболеваний.

Ключевые слова: полифенолы; биологическая активность; антиоксидантные; противовоспалительные; органопротекторные; геропротекторные; антиканцерогенные свойства

Polyphenols are diverse and widespread bioactive plant-based compounds. These compounds are found in various foods such as berries, fruits, vegetables, cereals, nuts, coffee, cacao, spices, seeds. They are divided into phenolic acids, stilbenes, flavonoids, lignans depending on their molecular structure. They attract the attention of researchers due to wide range of biological effects on human body.

The purpose of this work was to analyze modern scientific publications on the biological effects of polyphenols.

Material and methods. The review is based on publications presented in the PubMed, Google Scholar, ResearchGate, Elsevier, eLIBRARY, Cyberleninka databases using “polyphenols”, “flavonoids”, “resveratrol”, “quercetin”, “catechins” as keywords. Preference was given to original researches over the past 10 years published in refereed journals.

Results. Oxidative stress, chronic inflammation, microbiome disorders, insulin resistance, excessive protein glycation, and genotoxic effects are at the heart of the pathogenesis of many diseases, including those associated with age. A large amount of material has been accumulated on the antioxidant, anticarcinogenic, epigenetic, metabolic, geroprotective, anti-inflammatory and antiviral effects of polyphenols. This gives reasons to consider polyphenols as very promising micronutrients, which inclusion in the diet can reduce the risk of developing cardiovascular, oncological, neurodegenerative diseases, diabetes mellitus, obesity, metabolic syndrome, premature aging, that is, the main causes of death, a decrease in the duration and quality of life of a modern person.

Conclusion. Expanding the range of products enriched with polyphenols with their high bioavailability is a promising area of scientific research and development of production in order to prevent socially significant age-associated diseases.

Keywords: polyphenols; bioactivity; antioxidant; anti-inflammatory; organ protective; geroprotective; anticancerogenic properties

Полифенолы (ПФ) в последние годы привлекают большое внимание как исследователей в области физиологии и медицины, так и производителей функциональных и специализированных пищевых продуктов для

диетического (лечебного и профилактического) питания, что связано с накоплением данных о положительных биологических эффектах этих веществ. Это одна из самых многочисленных и широко распространенных

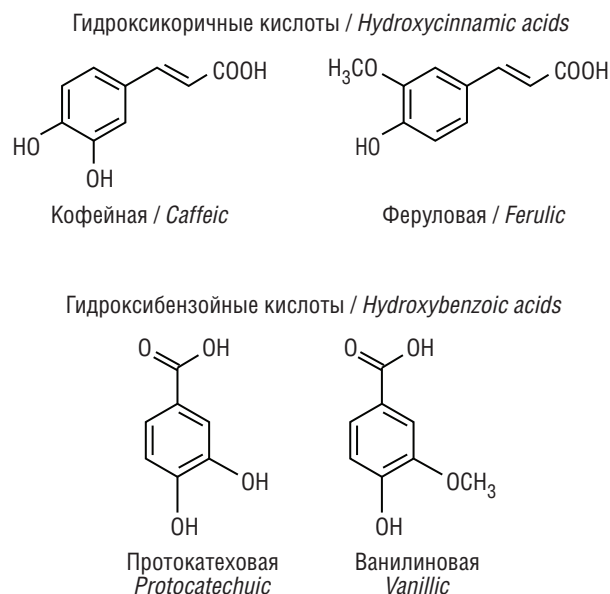


Рис. 1. Фенольные кислоты, типичные представители

Fig. 1. Phenolic acids, typical representatives

групп веществ растительного мира. К данной группе относятся соединения, имеющие гидроксильные группы в ароматических кольцах.

Классификация полифенолов

В литературе можно встретить различные варианты классификации ПФ [1–3]. Общепринято выделение следующих групп.

- **Фенольные кислоты** (рис. 1). Они содержатся в тканях растений, чаще в связанной с сахарами или другими полифенолами форме. В организме человека они образуются в результате микробного расщепления в толстой кишке либо при внутриклеточном

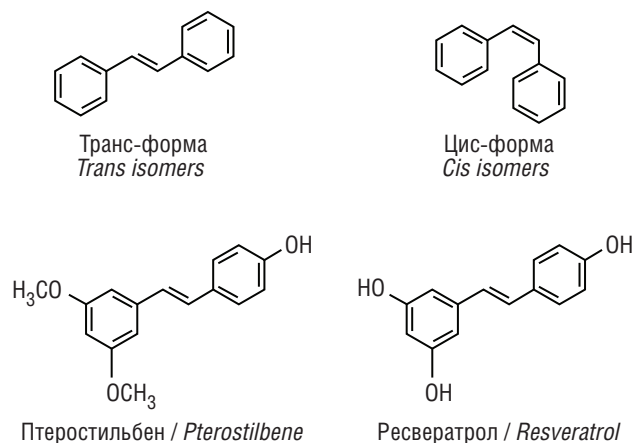


Рис. 2. Стильбены: общая формула и типичные представители

Fig. 2. Stilbenes: the general formula and typical representatives

метаболизме более конденсированных молекул [4]. В зависимости от строения молекул их разделяют на 2 основные группы: производные гидроксикоричной и гидроксibenзойной кислот. Наибольший интерес исследователей привлекают галловая, эллаговая, кофейная и ее производные – хлорогеновая, неохлорогеновая, розмариновая кислоты и др.

- **Стильбены** (рис. 2). Представлены цис- и транс-изомерами, способными к взаимному переходу. Большую биологическую активность проявляет транс-форма. В растениях наиболее распространены гидроксильрованные (ресвератрол) и метоксилированные (птеростильбен) производные. В значительных количествах они содержатся в винограде, чернике и орехах [1].

- **Флавоноиды** (рис. 3). Наиболее разнообразная группа. В зависимости от структурных изменений в кольцах (степени гидрирования, гидроксильрования, окисления) флавоноиды подразделяют на несколько семейств: флавонолы, флавоны, флаваноны, катехины, лейкоантоцианидины, антоцианы и др. Наиболее распространены и изучены представители флавонолов кверцетин и кемпферол. Они содержатся в овощах, фруктах и зерновых культурах [2]. Типичный представитель флавонолов – дигидрокверцетин. В больших количествах он содержится в древесине лиственницы сибирской *Larix sibirica* L. и некоторых других хвойных растений [5], что служит сырьем для его производства. Среди катехинов чаще встречаются эпикатехин, эпигаллокатехин, эпигаллокатехин галлат (ЭГКГ), представленные несколькими стереоизомерами. Они, как правило, не гликозилированы, могут полимеризоваться и этерифицироваться, образуя танины [1]. В большом количестве катехины содержатся в чае, особенно в зеленом, а также в некоторых фруктах [2]. Близкими к катехинам являются лейкоантоцианидины. При окислении эти бесцветные вещества образуют антоцианидины. Антоцианы (антоцианины) – гликозилированные антоцианидины – это пигменты красного, фиолетового цвета (пеларгонидин, цианидин, дельфинидин, мальвидин и др.). Углеводные остатки могут быть представлены моносахаридами – глюкозой, галактозой, ксилозой и др., а также различными ди-, три- и тетрасахаридами, что и определяет их разнообразие. Также в растениях широко распространены конденсированные антоцианидины, называемые проантоцианидинами и относящиеся к классу танинов.

Лигнаны – производные димеров фенолпропановых единиц, соединенных между собой β -углеродными атомами боковых цепей. Наиболее богаты ими семена льна, кунжута, лимонника китайского, корни элеутерококка колючего [2, 6].

Помимо широко известных и хорошо изученных источников ПФ в литературе постоянно появляются сообщения о новых растениях, богатых полифенолами, которые

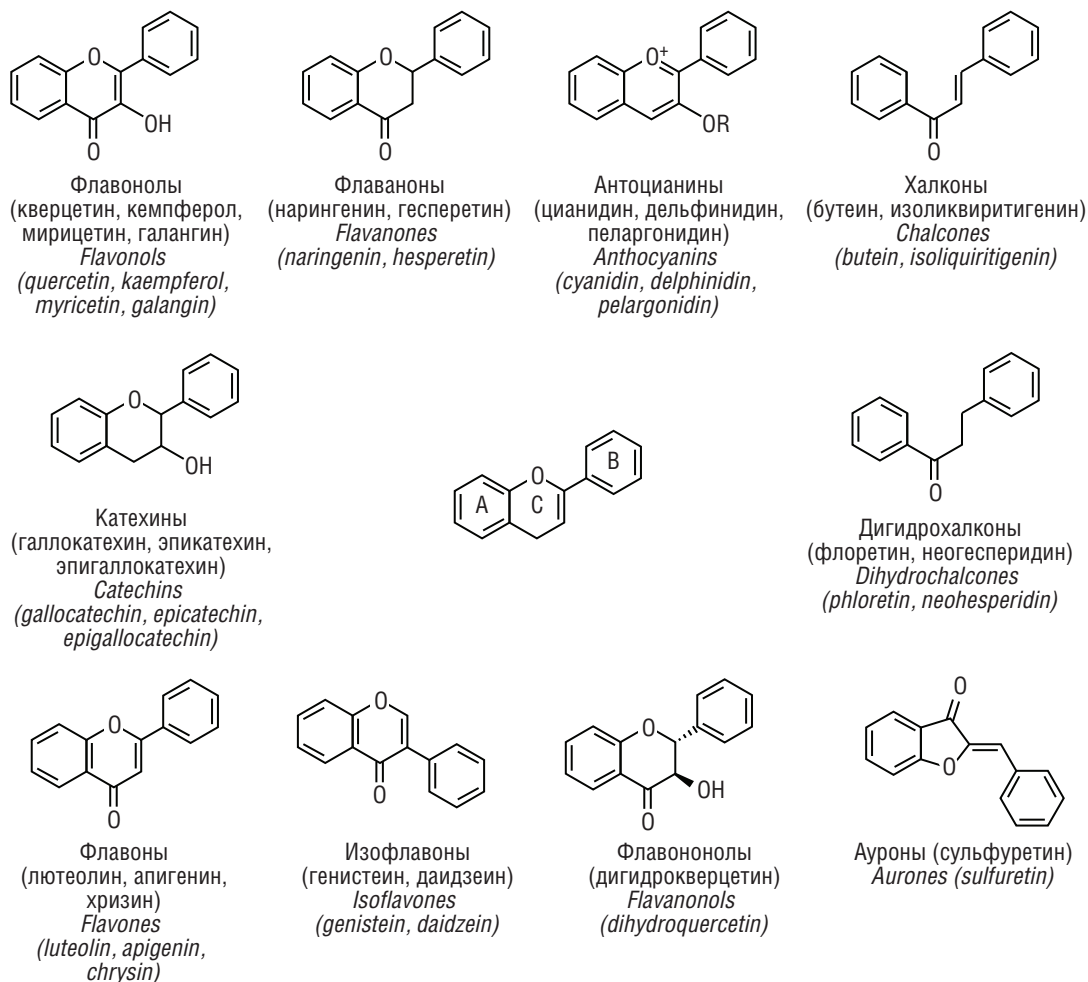


Рис. 3. Флавоноиды: общая формула, основные группы и наиболее распространенные представители

Fig. 3. Flavonoids: the general formula, the main groups and the most common representatives

могут быть использованы при производстве специализированной пищевой продукции. Например, облепиха блестящая (*Rhamnus prinoides*) содержит более 60 различных флавоноидов, в том числе кемпферол, апигенин и кверцетин [7]; шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.) содержит розмариновую кислоту, ресвератрол, кверцетин, рутин, лютеолин-7-О-глюкозид [8] и др.

К сожалению, в данной статье не представляется возможным подробно рассмотреть всех представителей столь разнообразной группы веществ, как полифенолы, каждый из которых по-своему интересен.

Биологические эффекты полифенолов

В современной нутрициологии ПФ относят к минорным биологически активным соединениям, которые необходимо включать в состав нутриома, т.е. формулы оптимального питания, поскольку они играют значительную роль в метаболизме человека [9, 10]. В литературе представлено множество данных о благоприятном действии на организм как экстрактов растений, так и изо-

лированных, очищенных фенольных соединений. При анализе научных публикаций отчетливо выделяется ряд таких эффектов.

Антиоксидантные свойства

Первоначально интерес к ПФ был обусловлен открытием их антиоксидантных свойств. В патогенезе многих заболеваний современного человека лежит повреждение клеток активными формами кислорода (АФК), такими как супероксидный анион-радикал, перекись водорода (H_2O_2), гидроксильный радикал. Средствами защиты при окислительном стрессе выступают антиоксидантные системы организма. Наряду с ферментами, такими как супероксиддисмутаза, каталаза, глутатион-трансфераза, антиоксидантными свойствами обладают экзогенные вещества – витамины А, С, Е, D, а также ПФ. Антирадикальные свойства фенольных соединений обусловлены наличием нескольких гидроксильных групп. Так, на основе теоретической модели строения молекул кверцетина и кверцитрина была установлена решающая роль атома кислорода в В-кольце в проявлении антиоксидантной активности (АОА) [11]. Пер-

вым окисляется катехольный фрагмент с образованием бензофуранона. Вследствие этого С-3 гидроксигруппа уже не может вовлекаться в дальнейшее окисление или другие биохимические реакции. Преобразование отдельных гидроксигрупп кверцетина оказывает значительное влияние на его окислительно-восстановительные свойства и, что особенно важно, антирадикальную активность и стабильность [12]. Степень АОА может меняться, например, она снижается при гликозилировании. При этом имеет значение место присоединения конъюгата [13].

Оценка антиоксидантных свойств плодов таких растений, как черники, красной и черной малины, клубники, ежевики, джекфрута выявила корреляцию между степенью АОА и суммарным содержанием фенольных соединений [14].

В исследовании [15] сравнивали зеленый чай, черный чай и улун. Изменение АОА всех 3 экстрактов коррелировало с концентрацией в них полифенолов. Наибольшей АОА обладали экстракты зеленого чая, наименьшей – черного.

Антиоксидантные свойства листьев куркумы связывают с содержащимися в них куркумином, флавоноидами (диосметинном, кверцитрином, рутином) и другими фенольными соединениями. Их эффективность в защите от окислительного стресса была продемонстрирована в исследованиях *in vitro* на линии клеток Vero и *in vivo* на эмбрионах рыбки *Danio rerio*. Добавление водных экстрактов к культуре клеток дозозависимо уменьшало внутриклеточный уровень АФК и долю клеток в фазе sub-G1 после обработки H₂O₂. Защитный эффект ПФ при H₂O₂-индуцированном окислительном стрессе подтвержден и на модели эмбрионов: выявлено снижение перекисного окисления липидов, продукции АФК [16]. Эти наблюдения согласуются с данными других авторов. Например, предварительная инкубация макрофагов костного мозга с экстрактами баугинии ножничной (*Bauhinia forficata Link*), богатыми полифенолами, ограничивала образование АФК и повышала выживаемость клеток [17].

В исследовании на добровольцах изучали влияние потребления черники на АОА крови [18]. Молодые и пожилые женщины в течение 6 нед получали по 38 г лиофилизированных ягод в день. Авторами отмечено увеличение АОА, определяемой методом FRAP (ferric reducing antioxidant power), особенно в группе пожилых добровольцев. По данным [19], при потреблении с жирной жареной пищей экстракта виноградных косточек полностью предотвращается постпрандиальное повышение концентрации гидроперекисей в плазме крови. Также наблюдалось увеличение общей АОА крови. Это позволило авторам сделать вывод, что дополнительная саплементация экстрактом виноградных косточек позволяет существенно ограничить окислительный стресс, развивающийся в ответ на прием пищи.

Флавоноиды не только связывают свободные радикалы, но и способны хелатировать ионы металлов с переменной валентностью, которые иницируют их по-

явление. Более того, в исследовании *in vitro* комплексы флавоноидов с Fe (II), Fe (III), Cu (I), Cu (II) эффективнее связывают свободные радикалы благодаря проявлению супероксиддисмутазной активности [20].

Антиоксидантные свойства ПФ могут быть использованы даже при формировании пищевого рациона сельскохозяйственных животных. Показано, что добавление виноградных выжимок в рацион коров приводило к повышению окислительной стабильности сыров, полученных из их молока [21].

Противовоспалительные свойства

В патогенезе многих заболеваний лежит развитие хронического воспаления [22]. Противовоспалительное действие иридина из группы изофлавонов убедительно показано как на клеточных линиях макрофагов RAW264.7, так и *in vivo* на мышах. Механизм подобного действия связан с подавлением продукции ряда медиаторов воспаления, таких как оксид азота (NO), фактор некроза опухоли α , интерлейкин-1 β , цитокин MCP-1 и АФК, а также воспалительных цитокинов за счет подавления пируваткиназы M2 (ПКМ2-опосредованного пути) [23]. На клетках нейроглии BV-2 выявлена способность ягодных экстрактов, содержащих антоцианы, сокращать индуцированную липополисахаридом продукцию NO. Наиболее выраженный эффект получен при использовании экстракта клюквы [24]. Корейские ученые ведут поиск природных соединений, способных ингибировать гистонацетилтрансферазу с целью профилактики хронического воспаления. Ими была выявлена высокая эффективность ЭГКГ в подавлении процесса ацетилирования в NF- κ B-опосредованном воспалительном сигнальном пути, блокаде экспрессии цитокинов и последующей трансформации лимфоцитов [25].

Ограничение неадекватных воспалительных реакций позволяет ожидать возможность коррекции с помощью ПФ и аллергических состояний. Действительно, противоаллергические эффекты выявлены у кемпферола, гликозидов гесперетина и даидзеина. На модели *in vitro* эти соединения сокращали выброс гистамина из тучных клеток крыс [26].

Подавление гликирования

В основе окислительного стресса и хронического воспаления лежит усиленное образование конечных продуктов гликирования (КПГ), что получило название «карбонильного стресса». Он во многом обуславливает патогенез естественного старения организма, развития сахарного диабета 2 типа и сердечно-сосудистых расстройств. В свою очередь, меры, направленные на подавление процессов гликирования, являются важной частью стратегии по профилактике развития заболеваний и преждевременного старения. Анализ современной литературы показывает, что ПФ могут успешно справляться и с этой задачей. В работе [17] убедительно продемонстрирована антигликирующая способность экстрактов *Bauhinia forficata Link*, содержащих 11 флавоноидов, при использовании фруктозы

в качестве гликирующего агента. На моделях *in silico* показана способность ПФ-содержащих экстрактов малины, черники, голубики подавлять образование КПП за счет связывания метилглиоксала, причем свободные от антоцианов аналогичные экстракты таким свойством не обладали [24]. ПФ кожуры лесного ореха наряду с антиоксидантным эффектом способны дозозависимо снижать образование КПП при взаимодействии бычьего сывороточного альбумина с метилглиоксалем [27]. В исследовании [28] мясо цыпленка, говядины, лосося и индейки инкубировали в присутствии глиоксала при температуре 60 °С. При добавлении экстрактов смородины *Ribes cucullatum*, содержащих ПФ, снижалось образование карбоксиметиллизина. Экстракты *Salvia officinalis* L., которые содержат вербаскозид, розмариновую кислоту, ресвератрол, кверцетин, рутин, лютеолин-7-О-гликозид, проявили способность ограничивать образование КПП и предотвращать гликирование альбумина за счет сокращения потерь тиоловых групп [8]. На 4 клеточных линиях показана способность экстрактов перовский лебедолистной *Perovskia atriplicifolia* Benth., богатых розмариновой кислотой, предотвращать гликирование альбумина, ослабляя его цитотоксичность [29].

Антиканцерогенные свойства

Исследования последних лет позволили накопить большой массив данных, свидетельствующих о перспективности использования полифенолов как эффективных компонентов противораковой терапии. Если первоначально механизм их антиканцерогенного эффекта видели в способности поглощать свободные радикалы, то в настоящее время получены доказательства их непосредственной вовлеченности в регуляцию сигнальных путей канцерогенеза, взаимодействие с белками, контролируемыми клеточный цикл.

На культуре 3 различных линий раковых клеток предстательной железы показана дозозависимая стимуляция кверцетином апоптоза за счет фосфорилирования ключевых сигнальных белков и повреждения митохондрий. Подобный эффект по отношению к здоровым эпителиальным клеткам простаты отсутствовал. Авторами сделан вывод о возможности использования кверцетина как дополнительного компонента при химиотерапии рака предстательной железы, особенно в случаях низкой эффективности традиционного лечения [30]. Апоптотическая активность на 2 линиях клеток рака простаты изучена и для каликоптерина – тетраметоксифлавона. Выбор препарата был обусловлен тем, что метоксилированные флавоны обладают большей биодоступностью. Установлено, что через 48 ч после обработки увеличивается доля клеток в фазе subG1 с блестящими конденсированными ядрами. Общее снижение жизнеспособности по сравнению с контролем составило 50%. Важно, что на здоровые клетки каликоптерин подобного эффекта не оказывал. Значительное снижение миграционной активности клеток под влиянием каликоптерина свидетельствует о подавлении их метастазирования этим соединением [31]. Эффективность каликоптерина была

показана и при раке молочной железы. Механизм этого защитного действия связан с экспрессией генов каспаз-3 и -8 [32].

Исследования кверцетина и ресвератрола *in vivo* на трансгенной линии мышей TRAMP показали их способность изолированно и/или совместно предотвращать развитие аденокарциномы простаты. Однако при лечении уже сформировавшейся опухоли эффективным оказывается только их сочетанное использование. Механизм антиканцерогенного действия этих полифенолов авторы связывают с подавлением клеточной пролиферации, окислительного стресса в тканях, активацией апоптоза. Данные соединения способны метилировать промоторы генов, регулирующих клеточный цикл, апоптоз, синтез факторов транскрипции, а также метаболизм жирных кислот [33].

В эксперименте на крысах обнаружен защитный эффект полифенолов вина на фоне введения канцерогенов азоксиметана или 1,2-диметилгидразина дигидрохлорида. В группах, получавших перорально в течение 16 нед безалкогольный сухой экстракт из красного вина «Каберне» в дозе 50 мг на 1 кг массы тела, содержащий мономерные и полимерные полифенолы, достоверно снижалась частота доброкачественных и злокачественных новообразований в кишечнике по сравнению с контролем, получавшим воду [34].

Эпигенетические эффекты

Рядом исследований показана способность ПФ взаимодействовать непосредственно с ДНК клеток, изменяя экспрессию определенных генов. Механизм подобного действия объясняется усилением метилирования ДНК за счет повышенной экспрессии генов ДНК-метилтрансферазы 1 (*Dnmt1*) и *Dnmt3a*. Такие свойства описаны у куркумина, ресвератрола и других полифенолов [35, 36]. Другой возможный механизм – это модификация гистонов путем ацетилирования, метилирования отдельных аминокислот в их составе, что влечет за собой изменение экспрессии. Для куркумина и ЭГКГ описан ингибиторный эффект в отношении гистонацетилтрансферазы [25]. ПФ влияют на экспрессию микроРНК (мРНК) – значимых регуляторов многих клеточных процессов, включая канцерогенез. При анализе эффекта ЭГКГ в клетках гепатоцеллюлярной карциномы HepG2 выявлены разнонаправленные изменения экспрессии различных мРНК [37]. Среди них, по мнению авторов, особый интерес представляет miR-16. Она регулирует антиапоптотный белок Bcl-2, за счет стимуляции ее экспрессии ЭГКГ может запускать апоптоз раковых клеток. По данным [38], ресвератрол снижает экспрессию генов провоспалительных маркеров, повышает количество нейротрофического фактора головного мозга и фосфопротеинкиназы. Это приводит к снижению риска когнитивных расстройств у самок крыс, содержащихся на высокожировой диете, и у их потомков. В исследовании P. Dolara и соавт. при введении в рацион крыс сухих безалкогольных винных экстрактов обнаружено снижение экспрессии большого набора

генов, связанных с внутриклеточной сигнализацией, ответом клеток на окислительный стресс, пищеварением и адсорбцией в клетках кишечника. Эти гены преимущественно участвуют в 2 регуляторных путях – ответе на воспаление и метаболизме стероидных гормонов [34].

Противомикробные эффекты

Серьезную угрозу здоровью человека и животных представляют плесневые грибы. Поэтому актуальным является поиск натуральных, безопасных фунгицидных средств. В частности, была установлена фунгицидная активность кверцетина в отношении *Aspergillus flavus* [39]. При исследовании механизма подобных эффектов было установлено, что кверцетин не вызывает апоптоз, дезинтеграцию ядер, повышение продукции АФК в клетках *Aspergillus flavus*, как это ожидалось. В то же время были выявлены погибшие (некротизированные) клетки. Методом транскриптомного секвенирования продемонстрировано влияние кверцетина на экспрессию целого ряда семейств генов, регулирующих развитие мицелия, конидиев, метаболизм, функционирование рибосом и половое размножение гриба [39]. Результатом становится подавление не только пролиферации клеток, но и биосинтеза афлатоксина.

Антибактериальные свойства ПФ подтверждены рядом исследований. Было показано, что полифенольный экстракт оливкового масла ингибирует рост *Listeria monocytogenes* [40], *Bacillus cereus* [41], *Salmonella typhimurium* и *Staphylococcus aureus* [42]. Авторами отмечается сходный механизм такого эффекта – существенное снижение концентрации внутриклеточной АТФ, бактериального белка и ДНК, повреждение клеточных мембран. При использовании зубной пасты, содержащей теофлавины, у добровольцев в полости рта снижалось количество патогенов, таких как *Prevotella*, *Selenomonas* и *Atopobium*, и, напротив, увеличивалось число полезных бактерий [43]. В исследовании М.Н. Школьниковой и соавт. [44] сравнивали активность рутина, кверцетина и облепихового шрота на тестовых культурах микроорганизмов. Максимальную антибактериальную активность в отношении *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* проявлял кверцетин. При этом не только уменьшалась зона бактериального роста, но и менялась морфология клеток: палочки приобретали более округлую форму, что свидетельствует об их переходе к инцистированию.

На фоне пандемии COVID-19 особую актуальность приобретают исследования, демонстрирующие *противовирусные* свойства ПФ, что открывает возможность использования продуктов, обогащенных этими соединениями, в качестве средств профилактики [45]. Метод молекулярного докинга показал сильное взаимодействие 1,2,3,4,6-пентагаллоилглюкозы и ЭГКГ с 3-химотрипсиноподобной протеазой SARS-CoV-2 (3CLpro), в том числе с ее каталитическими центрами, вследствие чего происходит подавление активности вирусной протеазы, остановка репликации и блокада распространения вируса [46, 47].

Противовирусная активность также выявлена у ПФ чая – проантоцианидина А2, катехинов и их производных, по отношению к вирусу репродуктивного и респираторного синдрома свиней [48]. Обработка клеток, инфицированных различными штаммами вируса, приводила к подавлению стадии прикрепления вируса, интернализации, синтеза вирусной РНК, экспрессии вирусного белка и продукции новых вирусных частиц. В работе [49] показана *in vitro* способность кверцетина связывать респираторно-синцитиальный вирус человека (hRSV), блокируя тем самым вирусную адгезию.

Метаболические эффекты

Неадекватный рацион питания влечет за собой нарушения липидного и углеводного обмена. Следствием становится развитие ожирения, инсулинорезистентности, метаболического синдрома, сердечно-сосудистых заболеваний, справедливо называемых болезнями цивилизации, распространенность которых в мире достигает эпидемического уровня. В связи с этим интерес представляют данные об оптимизации липидного профиля под влиянием ПФ у мышей, содержащихся на высокожировой диете. При пероральном введении в дозе 100 и 200 мг/сут на 1 кг массы тела в течение 5 нед экстракта одуванчика корейского *Taraxacum koreanum Nakai*, содержащего цикориювую и хлорогеновую кислоты, лютеолин и кверцетин, на фоне высокожировой диеты наблюдалось уменьшение прироста массы тела, снижение уровня триглицеридов, общего холестерина, активности аланин- и аспартатаминотрансферазы, повышался уровень липопротеидов высокой плотности, усиливалось β-окисление жирных кислот по сравнению с контролем, получавшим аналогичную диету. При гистологическом исследовании обнаружены менее выраженные патологические изменения гистоструктуры печени. Активация экспрессии гена АМФ-зависимой протеинкиназы свидетельствует об участии LKB1/AMPK сигнального пути в механизме действия изученных экстрактов. Подавление синтеза липидов обусловлено снижением активности ацетил-СоА карбоксилазы, а стимуляция β-окисления – активацией карнитин-пальмитилтрансферазы I и митохондриального разобщающего белка UCP2 через рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами (PPAR) α [50].

В исследовании Н. Jiang и соавт. показана способность кверцетина и его гликозидов снижать уровень глюкозы и инсулина у крыс при пероральном приеме в дозе 50 мг на 1 кг массы тела в течение 15 сут на фоне высокожировой диеты [51]. С этими данными согласуются результаты отечественных исследователей: высокоуглеводный высокожировой рацион на протяжении 150 сут индуцировал нарушения углеводного и жирового обмена у мышей, но при добавлении в пищу экстрактов ягод черники, адсорбированных на гречневой муке, содержащих 58,7 мг-экв галловой кислоты в 100 г корма, у мышей отмечалось снижение выраженности гипергликемии [52]. Механизм такого благоприятного эф-

фекта может быть связан со значительным повышением фосфорилирования АМФ-зависимой протеинкиназы как в стандартных условиях, так и при высококалорийной диете. Следствием этого было усиление транслокации транспортера глюкозы GLUT4 в мышцах [51]. Эти результаты свидетельствуют о превентивном действии изученных полифенолов в отношении ожирения и гипергликемии путем модуляции АМФ-зависимой протеинкиназы.

Антигликемический эффект ПФ может проявляться также за счет ингибирования гликолитических ферментов уже в просвете кишечника, что замедляет расщепление и всасывание глюкозы в кровь. Например, в исследовании *in vitro* было показано, что экстракты *Bauhinia forficata* Link, богатые ПФ, способны подавлять активность α -амилазы и α -глюкозидазы, и их эффект был сопоставим с эффективностью акарбозы – широко используемого гипогликемического лекарственного препарата. Это свидетельствует об их значимом антидиабетическом потенциале [17]. В этом исследовании продемонстрировано также ингибирование активности липазы, хотя и менее эффективно, чем орлистатом, применяемым в клинической практике для лечения ожирения.

Флавоноиды экстрактов листьев шелковицы (перорально в дозе 50, 100 или 200 мг/сут на 1 кг массы тела) способны подавлять аккумуляцию жира и ослаблять повреждение органа при моделировании неалкогольной жировой болезни печени в эксперименте на крысах [53]. Сходный гепатопротекторный эффект продемонстрирован и у кверцетина на линии мышей db/db *in vivo* при введении перорально в дозе 100 мг/кг в течение 8 нед [54]. Это сочеталось с восстановлением активности супероксиддисмутазы, каталазы, содержания глутатиона, ослаблением выработки провоспалительных интерлейкинов [54]. Гепатопротекторные эффекты гликозидов кверцетина, особенно его агликонов, выявлены также в отношении повреждений клеток печени, индуцированных алкоголем [55].

Благоприятное действие ПФ на организм человека может быть обусловлено их воздействием на кишечную микробиоту. Ряд полифенолов, в частности рутин (витамин Р), не расщепляется в тонкой кишке, и только микробиота толстой кишки вырабатывает рамнозидазу, которая отщепляет рамнозу с образованием агликона [4]. Аналогичным образом расщепляются и многие другие гликозилированные ПФ. Остатки сахаридов служат пищевым субстратом для бактерий, а агликоны адсорбируются стенками кишки. Кроме того, конденсированные ПФ могут метаболизироваться микрофлорой до растворимых и легко всасываемых фенольных кислот. Таким образом, гликозилированные ПФ выступают в качестве пребиотиков, способствуя росту кишечной микробиоты. Благоприятное изменение микробиологического спектра при потреблении продуктов, богатых ПФ, подтверждено рядом исследований. Причем различные таксоны бактерий проявляют неодинаковую чувствительность к отдельным группам фе-

нольных соединений. Увеличение альфа-разнообразия микробиома показано на модели толстой кишки на фоне применения экстрактов ягод черники, особенно фракций, содержащих антоцианины, гликозиды флавонолов и проантоцианидины [18]. Смешанные фракции полифенолов более выражено увеличивали долю *Bifidobacterium* spp. Благоприятные сдвиги микробиома отмечались и у добровольцев (пожилых женщин) при употреблении лиофилизированных ягод черники [18]. Следует отметить, что изменения состава микробиоты положительно коррелировали с изменением АОА крови и отрицательно – с уровнем глюкозы в крови.

По данным [56], потребление флавоноидов с пищей значимо коррелировало с обилием рода *Veillonella*, который благоприятно влияет на физическую работоспособность. Потребление стильбена, в свою очередь, способствовало увеличению доли *Lachnospira* и *Faecalibacterium*, продуцирующих бутират. В исследовании [34] выявлено значимое увеличение *Lactobacillus* и менее выраженное – *Bifidobacterium* на фоне снижения *Clostridium* и *Bacteroides* у крыс под влиянием ПФ, содержащихся в вине. Важно, что при этом в толстой кишке отмечалось снижение числа опухолей при введении канцерогенов и повреждений ДНК при окислительном стрессе.

В двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании добровольцам предлагалось в течение 12 нед принимать экстракт аронии в форме капсул или порошок из цельных ягод с содержанием общих ПФ соответственно 116 и 12 мг [57]. У участников, принимавших экстракты, отмечено увеличение на 10,2% доли *Anaerostipes* в составе кишечной микробиоты, а при потреблении порошка цельных ягод – *Bacteroides* на 193%. Изменения микробиоты достоверно коррелировали с увеличением количества фенольных метаболитов в крови. Также авторы оценивали такие показатели, как поток-опосредованная вазодилатация и жесткость сосудов. Благоприятные изменения отмечались даже спустя 2 ч после приема экстракта или порошка ягод, еще более выраженными они оказались спустя 12 нед. Состояние сосудистой стенки, оцениваемое таким образом, также существенно коррелировало с изменением микробиоты (родов *Dialister*, *Phascolarctobacterium* и *Roseburia*) у обследованных, потреблявших экстракты. Существенного изменения артериального давления не отмечалось у всех участников исследования.

Благоприятное влияние ПФ на состояние сосудистой стенки является также весьма значимым. Развитие сердечно-сосудистых заболеваний во многом связано с нарушением свойств эндотелия, что приводит к развитию атеросклероза. В работе N.P. Bondonno и соавт. оценивали изменение функции эндотелия сосудов при использовании ферментативно модифицированного изокверцетина (EMIQ[®]) на здоровых добровольцах с риском сердечно-сосудистых заболеваний. Авторами также было выявлено увеличение поток-опосредованной вазодилатации по сравнению с плацебо [58].

Нейропротекторные свойства

Отдельно следует отметить способность ПФ оказывать действие на функционирование мозга. Весьма актуальна в настоящее время проблема возраст-ассоциированных нейродегенеративных изменений мозговой ткани – болезней Альцгеймера (БА), Паркинсона и др. Ученые сходятся во мнении, что в основе патогенеза таких заболеваний лежат хроническое воспаление и повреждения тканей в результате окислительного стресса. Защитный эффект ПФ, таким образом, может осуществляться за счет их противовоспалительных и антиоксидантных свойств [59]. Например, β -амилоид подавляет активность супероксиддисмутазы и экспрессию соответствующих мРНК, а также усиливает продукцию АФК и малондальдегида. На культуре клеток микроглии при использовании фаррерола (6,8-ди-С-метил-флавоноида, выделенного из рододендрона) наблюдалось существенное ослабление этого эффекта. Это сочеталось с уменьшением индуцированного β -амилоидом роста продукции интерлейкинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6) и фактора некроза опухоли α . Важно отметить, что фаррерол не оказывал влияния на базовый уровень этих показателей. Одним из механизмов антиоксидантного и противовоспалительного действия фаррерола может выступать активация сигнального пути Nrf2/Keap1, поскольку при его блокаде эффективность фаррерола существенно снижалась [59].

Вышеописанное антигликирующее действие ПФ также обеспечивает защиту белков мозговой ткани, микроглии, снижая воспалительные процессы и тем самым предотвращая нейродегенеративные изменения [24].

Однако имеются указания и на прямые нейротропные эффекты ПФ. Например, кверцетин ингибирует фибрилляцию тау-белка, что лежит в основе развития нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона и БА. Кверцетин снижает склонность тау-белка к агрегации, образуя с ним водородные и гидрофобные связи [60]. Ресвератрол и экстракты ягод черники, голубики и особенно клюквы подавляли индуцированную как термически, так и метилглиоксалем фибрилляцию β -амилоида – второго важного элемента в патогенезе БА [24]. Ингибирование в клетках BV-2 микроглии каспаз-3/7, индуцированных H_2O_2 , также можно рассматривать как нейропротекторный механизм [24]. Значимую роль в развитии нейродегенеративных заболеваний играют такие ферменты, как ацетилхолинэстераза и моноаминоксидаза А и В. Повреждение холинергических нейронов и быстрая избыточная деградация ацетилхолина рассматриваются как одна из причин когнитивных нарушений. Ингибиторы ацетилхолинэстеразы являются одним из основных классов препаратов, используемых в клинической практике для ослабления симптомов БА. В связи с этим поиск природных веществ с подобными свойствами весьма актуален. В исследовании *in vitro* с использованием культуры клеток нейробластомы SH-SY5Y и фибробластов BJ-5ta установлено ингиби-

рование ацетил- и бутирилхолинэстераз, моноаминоксидазы А и В полифенольными экстрактами яблочной мякоти [61]. Причем даже в высоких дозах экстракты не проявляли цитотоксичности и не влияли на выживаемость и морфологию клеток. Нейропротекторные свойства ПФ можно объяснить хелатированием двухвалентных металлов, что показано с помощью молекулярно-динамического моделирования. Куркумин препятствует образованию β -листов при взаимодействии β -амилоида (A β 42) с Cu^{2+} и стабилизирует участки α -спирали [62]. В результате значительно снижаются агрегация белков и нейротоксичность.

Угрозу здоровью мозга может представлять также акриламид, который, с одной стороны, является отходом производства, а с другой – продуктом реакции Майяра и образуется в процессе высокотемпературной обработки пищи, богатой углеводами. Его нейротоксические эффекты связывают с усилением апоптоза, нарушением функции митохондрий, развитием окислительного стресса. На культуре клеток PC12 показано, что ЭГКГ ограничивает нарушения, индуцированные акриламидом [63].

Свою эффективность ПФ проявляют и в отношении когнитивных нарушений, связанных со стрессом и старением. У взрослых здоровых добровольцев экстракты зеленого овса при применении в течение 4 нед в дозах от 430 до 1290 мг/сут ослабляли электрокожную реакцию в социальном стресс-тесте Трира, отражающую степень стрессорной активации симпатического отдела нервной системы [64]. При этом отмечены благоприятные сдвиги показателей краткосрочной рабочей памяти при выполнении зрительно-пространственного теста Корси. У пожилых людей и лиц с легкими когнитивными расстройствами, по данным метаанализа, наиболее выраженными эффектами в отношении когнитивных функций обладает ресвератрол [65]. Отмеченную авторами значительную индивидуальную вариабельность таких эффектов можно объяснить различиями усвоения и метаболизма ресвератрола. На экспериментальной модели – мышцах, склонных к ускоренному старению, установлено, что на фоне высокожировой диеты ресвератрол (в дозе 1 г на 1 кг массы тела в течение 2 мес) предотвращает снижение когнитивных функций (улучшает краткосрочную и долгосрочную память), снижает уровень триглицеридов и лептина в мозге, меняет синаптическую пластичность [38]. Следует отметить, что благоприятные изменения краткосрочной памяти сохраняются даже у потомков первого поколения. Когнитивные сдвиги при этом коррелировали с 6А-метилированием РНК и 5С-метилированием ДНК. У мышей с генетически обусловленным сахарным диабетом при включении в рацион функционального пищевого ингредиента – полифенолов листьев черники, сорбированных на гречневой муке, наблюдали снижение тревожности, оптимизацию показателей краткосрочной памяти [66], что оценивается авторами как повышение обучаемости и оптимизация закрепления памятного следа.

Геропротекторные свойства

Детальный анализ геропротекторных свойств ПФ представлен в монографии [67]. С одной стороны, они могут быть обусловлены АОА, а с другой – имеются данные о прямых геропротекторных эффектах ПФ. При оценке влияния средиземноморской диеты на старение была показана прямая связь между суммарным содержанием ПФ в рационе питания и разницей между хронологическим и биологическим возрастом. Причем зависимость этого показателя от суммарной АОА пищи не выявлялась. Это означает, что геропротекторные свойства ПФ обусловлены не только их АОА [68]. Антоцианины, флавоноиды и другие фенольные соединения обуславливают высокий геропротекторный потенциал аронии *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot [69]. По мнению авторов, в его основе лежат антиоксидантные, антимикробные, противовоспалительные, органопротекторные и антипролиферативные свойства.

Для более глубокого понимания механизмов геропротекторного действия ПФ на традиционных модельных животных – нематод *Caenorhabditis elegans* и плодовой мушки *Drosophila melanogaster* – было изучено влияние нарингина, лютеолина и хризина на продолжительность жизни, устойчивость к окислительному (введение параквата) и термическому стрессу и голоданию [70]. Выявлено увеличение продолжительности жизни *Caenorhabditis elegans* в диапазоне от 7 до 30%. Однако у мутантной линии *aak2* данный эффект не проявлялся, что указывает на его обусловленность АМФ-зависимой протеинкиназой. У самок *Drosophila melanogaster* значимое увеличение продолжительности жизни наблюдалось при включении в питательные среды лютеолина и хризина. Все 3 изученных флавоноида значительно снижали количество погибших мух при отравлении паракватом, а хризин также повышал их устойчивость к термическому стрессу. Ведущую роль в поддержании внутриклеточного гомеостаза при окислительном стрессе, действии токсических веществ играет сигнальная система Nrf2/Keap1, ключевым звеном которой является глутатион-S-трансфераза D1 (GstD1). Использование мутантной линии *GstD1-GFP* позволило выявить способность 3 изученных флавоноидов значительно усиливать экспрессию гена *GstD1* в условиях стресса. Увеличение продолжительности жизни *Drosophila melanogaster* выявлено и при краткосрочном, но не длительном применении кверцетина и (-)-эпикатехина [71].

Старение и развитие ассоциированных с возрастом заболеваний во многом обусловлены повреждениями генома, которые накапливаются с возрастом из-за снижения эффективности систем репарации ДНК [72]. ПФ вовлекаются в процессы репарации ДНК, ослабляя генотоксические эффекты окислительного стресса, химических препаратов. У мышей предварительное (за 48 ч) однократное пероральное введение хризина в дозе 40 мг на 1 кг массы тела существенно ограничивало степень фрагментации ДНК и частоту хромосомных aberrаций, индуцированных митомицином С [73]. С этим согласуются данные о выраженном радио-

протекторном действии кверцетина и (-)-эпикатехина. Были изучены некоторые молекулярные механизмы подобного эффекта. Обнаружено, что кверцетин стимулировал у самок и самцов *Drosophila melanogaster* экспрессию генов *Sod1* (участвует в детоксикации свободных радикалов), *Mus210* и *Spn-B* (обеспечивают эксцизионную репарацию и репарацию двухцепочечных разрывов ДНК соответственно) и у самок – *Gadd45* (регуляторных генов, координирующих ответ на повреждения ДНК) [71].

С целью сравнения защитных эффектов различных ПФ был проведен крупномасштабный скрининг на модели мезенхимальных стволовых клеток, по результатам которого наиболее перспективным геропротектором оказалась галловая кислота. Показана ее способность эффективно предотвращать старение и истощение стволовых клеток при возраст-ассоциированных заболеваниях [74].

По мнению авторов монографии [75], куркумин, кверцетин, генистеин и другие фенольные соединения могут рассматриваться как пищевые горметины – умеренно стрессовые факторы, способствующие активации адаптационных механизмов – аутофагии, антиоксидантной системы, белков теплового шока, механизмов репарации ДНК [76].

Таким образом, накоплены убедительные экспериментальные и клинические данные о важной роли фенольных соединений как естественных регуляторов метаболизма. Однако стремление обогатить рацион питания продуктами с высоким их содержанием сталкивается с проблемой низкой биодоступности полифенолов. В пище преимущественно присутствуют их гликозилированные формы. В желудке они не могут расщепляться, поскольку отсутствуют ферменты с гидролазной активностью. В тонкой кишке происходит отщепление углеводного компонента, но этот процесс существенно зависит от характера углеводного конъюгата. Например, успешно расщепляются глюкозиды, но не рамнозиды или арабинозиды [77]. Непереваренные в тонкой кишке гликозиды направляются в толстую, где подвергаются расщеплению при участии ферментов симбиотной микрофлоры [78]. Также происходит частичное расщепление конденсированных молекул с образованием фенольных кислот [4]. Высвободившиеся агликоны адсорбируются мембранами энтероцитов благодаря их умеренной липофильности. Однако этого недостаточно для достижения высоких концентраций в системном кровотоке, так как часть молекул возвращается сразу в просвет кишки мембранными транспортерами, в частности MRP-транспортером [79], остальная фракция поступает в воротную систему печени, в гепатоцитах ПФ наряду с другими ксенобиотиками проходят путь конъюгации (сульфатирования, метилирования и др.) и с желчью экскретируются в просвет кишки [80]. Таким образом, лишь незначительная доля поступивших с пищей ПФ оказывается в системном кровотоке и может проявить свои благоприятные биологические свойства.

Заключение

Широкий спектр благоприятных биологических эффектов ПФ делает их ценными микронутриентами. Поступая в организм в небольших количествах, они выступают в роли естественных регуляторов метаболизма. Диетическое воздействие разнообразных овощей и фруктов обусловлено присутствием в них, помимо некоторых витаминов и минеральных веществ, пищевых волокон, и минорных веществ фенольной природы. Для обеспечения потребности организма человека в этих биологически активных веществах требуется адекватная коррекция пищевого рациона. В методических рекомендациях МР 2.3.1.0253-21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации» регламентируется включение

этих веществ в рацион и устанавливаются нормы их потребления [10]. При этом они обладают специфическим вяжущим вкусом и низкой биодоступностью, что существенно затрудняет обеспечение организма данными микронутриентами в адекватных количествах. Это диктует необходимость поиска технологических решений для создания обогащенных ПФ пищевых продуктов с их высокой биодоступностью. Спрос потребителей на подобную продукцию неуклонно растет, как и объем ее производства. Потребление таких продуктов может внести весомый вклад в профилактику социально значимых, возраст-ассоциированных заболеваний, способствовать укреплению здоровья и повышению качества жизни населения, а расширение ассортимента подобной продукции является весьма перспективным направлением научных исследований и развития производства.

Сведения об авторах

Бобрышева Татьяна Николаевна (Tatyana N. Bobrysheva) – кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник центра биотехнологического инжиниринга ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет» (Ставрополь, Российская Федерация)

E-mail: bobryshevatn@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0312-0441>

Анисимов Георгий Сергеевич (Georgy S. Anisimov) – кандидат технических наук, директор центра биотехнологического инжиниринга ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет» (Ставрополь, Российская Федерация)

E-mail: ags88@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9257-9571>

Золоторева Марина Сергеевна (Marina S. Zolotoreva) – кандидат технических наук, старший научный сотрудник центра биотехнологического инжиниринга ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет» (Ставрополь, Российская Федерация)

E-mail: zolotoreva@mokostav.com

<https://orcid.org/0000-0001-8882-0668>

Бобрышев Дмитрий Викторович (Dmitry V. Bobryshev) – кандидат медицинских наук, начальник Центра персонализированной медицины ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России (Ставрополь, Российская Федерация)

E-mail: bobryshevrg@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3947-4786>

Будкевич Роман Олегович (Roman O. Budkevich) – кандидат биологических наук, доцент, заведующий научно-исследовательской лабораторией нанобиотехнологии и биофизики ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет» (Ставрополь, Российская Федерация)

E-mail: budkev@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-8777-8592>

Москалев Алексей Александрович (Alexey A. Moskalev) – член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, заведующий лабораторией геропротекторных и радиопротекторных технологий ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, заведующий лабораторией генетики и эпигенетики старения обособленного структурного подразделения «Российский геронтологический научно-клинический центр» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Москва, Российская Федерация)

E-mail: amoskalev@list.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3248-1633>

Литература

1. Singla R.K., Dubey A.K., Garg A., Sharma R., Fiorino M., Ameen S. et al. Natural polyphenols: chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures // J. AOAC Int. 2019. Vol. 102, N 5. P. 1397–1400. DOI: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-0133>
2. Zhang L., Han Z., Granato D. Polyphenols in foods: Classification, methods of identification, and nutritional aspects in human health // Adv. Food Nutr. Res. 2021. Vol. 98. P. 1–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2021.02.004>
3. Truzzi F., Tibaldi C., Zhang Y., Dineli G., D'Amen E. An overview on dietary polyphenols and their Biopharmaceutical Classification System (BCS) // Int. J. Mol. Sci. 2021. Vol. 22, N 11. P. 5514. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22115514>
4. Jaganath I.B., Mullen W., Edwards C.A., Crozier A. The relative contribution of the small and large intestine to the absorption and metabolism of rutin in man // Free Radic. Res. 2006. Vol. 40, N 10. P. 1035–1046. DOI: <https://doi.org/1080/10715760600771400>

5. Остроухова Л.А., Федорова Т.Е., Онучина Н.А., Левчук А.А., Бабкин В.А. Определение количественного содержания экстрактивных веществ древесины, корней и коры деревьев хвойных видов Сибири: лиственницы (*Larix sibirica* L.), сосны (*Pinus sylvestris* L.), пихты (*Abies sibirica* L.), ели (*Picea obovata* L.) и кедр (*Pinus sibirica* du tour.) // Химия растительного сырья. 2018. № 4. С. 185–195. DOI: <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018044245>
6. Мамот Т.В., Кушнерова Н.Ф. Обоснование выбора сырьевых источников из дальневосточной флоры для получения фармацевтических препаратов // Известия Самарского научного центра РАН. 2016. Т. 18, № 2. С. 146–149.
7. Chen G.-L., Munyao M.F., Xu Y.-B., Saleri F.D., Hu G.-W.W., Mutie F.M. et al. Antioxidant, anti-inflammatory activities and polyphenol profile of *Rhamnus prinoides* // Pharmaceuticals. 2020. Vol. 13, N 4. P. 55. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph13040055>
8. Ben Khedher M.R., Hafsa J., Haddad M., Hammami M. Inhibition of Protein Glycation by combined antioxidant and antiglycation constituents from a phenolic fraction of sage (*Salvia officinalis* L.) // Plant Foods Hum. Nutr. 2020. Vol. 75, N 4. P. 505–511. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00838-8>
9. Тутельян В.А., Никитюк Д.Б., Батурич А.К. и др. Нутриом как направление «главного удара»: определение физиологических потребностей в макро- и микронутриентах, минорных биологически активных веществах пищи // Вопросы питания. 2020. Т. 8, № 4. С. 24–34. DOI: <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10039>
10. Попова А.Ю., Тутельян В.А., Никитюк Д.Б. О новых (2021) Нормах физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации // Вопросы питания. 2021. Т. 90, № 4. С. 6–19. DOI: <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-4-6-19>
11. Tang J., Diao P., Shu X., Li L., Xiong L. Quercetin and quercitrin attenuates the inflammatory response and oxidative stress in LPS-induced RAW264.7 cells: in vitro assessment and a theoretical model // Biomed. Res. Int. 2019. Vol. 2019. Article ID 7039802. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/7039802>
12. Heřmáňková E., Zatloukalová M., Biler M., Sokolova R., Banarova M., Tzakos A.G. et al. Redox properties of individual quercetin moieties // Free Radic. Biol. Med. 2019. Vol. 143. P. 240–251. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.08.001>
13. Gonzalez-Alfonso J.L., Peñalver P., Ballesteros A.O., Morales J.C., Plou F.J. et al. Effect of α -glucosylation on the stability, antioxidant properties, toxicity, and neuroprotective activity of (–)-epigallocatechin gallate // Front. Nutr. 2019. Vol. 6. P. 30. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00030>
14. Basu P., Maier C. In vitro antioxidant activities and polyphenol contents of seven commercially available fruits // Pharmacognosy Res. 2016. Vol. 8, N 4. P. 258. DOI: <https://doi.org/10.4103/0974-8490.188875>
15. Yang X., Kong F. Evaluation of the in vitro α -glucosidase inhibitory activity of green tea polyphenols and different tea types // J. Sci. Food Agric. 2016. Vol. 96, N 3. P. 777–782. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.7147>
16. Kim S., Kim M., Kang M., Lee H.H.L., Cho C.H., Choi I. et al. Antioxidant effects of turmeric leaf extract against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in vitro in vero cells and in vivo in zebrafish // Antioxidants. 2021. Vol. 10, N 1. P. 112. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10010112>
17. Franco R.R., Alves V.M.A., Zabinsky L.F.R., Justino A.B., Martins M.M., Saraiva A.L. et al. Antidiabetic potential of Bauhinia forficata Link leaves: a non-cytotoxic source of lipase and glycoside hydrolases inhibitors and molecules with antioxidant and antiglycation properties // Biomed. Pharmacother. 2020. Vol. 123. Article ID 109798. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109798>
18. Ntemiri A., Ghosh T., Gheller M., Tran T.T.T., Blum J.E., Pellanda P. et al. Whole blueberry and isolated polyphenol-rich fractions modulate specific gut microbes in an in vitro colon model and in a pilot study in human consumers // Nutrients. 2020. Vol. 12, N 9. P. 2800. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12092800>
19. Natella F., Belefi F., Gentili V., Ursini F., Scaccini C. Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans // J. Agric. Food Chem. 2002. Vol. 50, N 26. P. 7720–7725. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf020346o>
20. Malesev D., Kuntic V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions // J. Serb. Chem. Soc. 2007. Vol. 72, N 10. P. 921–939. DOI: <https://doi.org/10.2298/JSC0710921M>
21. Ianni A., Di Maio G., Pittia P., Grotta L., Perpetuini G., Tofalo R. et al. Chemical-nutritional quality and oxidative stability of milk and dairy products obtained from Friesian cows fed with a dietary supplementation of dried grape pomace // J. Sci. Food Agric. 2019. Vol. 99, N 7. P. 3635–3643. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9584>
22. Furman D., Campisi J., Verdin E., Carrera-Bastos P., Targ S., Franceschi P. et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span // Nat. Med. 2019. Vol. 25, N 12. P. 1822–1832. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0>
23. Ying Z.H., Li H., Yu W., Yu C.-H.C. Iridin prevented against lipopolysaccharide-induced inflammatory responses of macrophages via inactivation of PKM2-mediated glycolytic pathways // J. Inflamm. Res. 2021. Vol. 14. P. 341–354. DOI: <https://doi.org/10.2147/JIR.S292244>
24. Ma H., Johnson S., Liu W., DaSilva N., Meschwitz S., Dain J. et al. Evaluation of polyphenol anthocyanin-enriched extracts of blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry for free radical scavenging, reactive carbonyl species trapping, antiglycation, anti- β -amyloid aggregation, and microglial neuroprotective effects // Int. J. Mol. Sci. 2018. Vol. 19, N 2. P. 461. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19020461>
25. Choi K.-C., Jung M., Lee Y., Yoon J.C., Kwon S.H., Kang H.B. et al. Epigallocatechin-3-gallate, a histone acetyltransferase inhibitor, inhibits EBV-induced B lymphocyte transformation via suppression of RelA acetylation // Cancer Res. 2009. Vol. 69, N 2. P. 583–592. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2442>
26. Fujitaka Y., Hamada H., Uesugi D., Kuboki A., Shimoda K., Iwaki T. et al. Synthesis of daidzein glycosides, α -tocopherol glycosides, hesperetin glycosides by bioconversion and their potential for anti-allergic functional-foods and cosmetics // Molecules. 2019. Vol. 24, N 16. P. 2975. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24162975>
27. Spagnuolo L., Della Posta S., Fanali C., Dugo L., De Gara L. Antioxidant and antiglycation effects of polyphenol compounds extracted from hazelnut skin on advanced glycation end-products (AGEs) formation // Antioxidants. 2021. Vol. 10, N 3. P. 424. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10030424>
28. Ávila F., Ravello N., Manriquez C., Jiménez-Aspee F., Schmeda-Hirschmann G., Teoduloc C. Antiglycating effect of phenolics from the Chilean currant *Ribes cucullatum* under thermal treatment // Antioxidants. 2021. Vol. 10, N 5. P. 665. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10030424>
29. Miroliaei M., Aminjafari A., Ślusarczyk S., Nawrot-Hadzik I., Rahimmalek M., Matkowski A. et al. Inhibition of glycation-induced cytotoxicity, protein glycation, and activity of proteolytic enzymes by extract from *Perovskia atriplicifolia* roots // Pharmacogn. Mag. 2017. Vol. 13, N 51. P. 676. DOI: https://doi.org/10.4103/pm.pm_559_16
30. Ward A.B., Mir H., Kapur N., Dales G.N., Carriere P.P., Singh S. Quercetin inhibits prostate cancer by attenuating cell survival and inhibiting anti-apoptotic pathways // World J. Surg. Oncol. 2018. Vol. 16, N 1. P. 108. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12957-018-1400-z>
31. Lotfizadeh R., Sepehri H., Attari F., Delohi L. Flavonoid calycopterin induces apoptosis in human prostate cancer cells in-vitro // Iran. J. Pharm. Res. 2020. Vol. 19, N 3. P. 391–401. DOI: <https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.113410.14283>
32. Moradi M., Gholipour H., Sepehri H., Attari F., Delohi L., Arefian E. et al. Flavonoid calycopterin triggers apoptosis in triple-negative and ER-positive human breast cancer cells through activating different patterns of gene expression // Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 2020. Vol. 393, N 11. P. 2145–2156. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00210-020-01917-y>
33. Singh C.K., Chhabra G., Ndiaye M.A., Siddiqui I.A., Panackal J.E., Mintie C.A. et al. Quercetin-resveratrol combination for prostate cancer management in tramp mice // Cancers (Basel). 2020. Vol. 12, N 8. P. 2141. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers12082141>
34. Dolara P., Luceri C., Filippo C., Femia A.P., Giovannelli L., Caderni G. et al. Red wine polyphenols influence carcinogenesis, intestinal microflora, oxidative damage and gene expression profiles of colonic mucosa in F344 rats // Mutat. Res. 2005. Vol. 591, N 1–2. P. 237–246. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.04.022>
35. Paluszczak J., Krajka-Kuzniak V., Baer-Dubowska W. The effect of dietary polyphenols on the epigenetic regulation of gene expression in MCF7 breast cancer cells // Toxicol. Lett. 2010. Vol. 192, N 2. P. 119–125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.10.010>
36. Kuck D., Singh N., Lyko F., Medina-Franco J.L. Novel and selective DNA methyltransferase inhibitors: Docking-based virtual screening and experimental evaluation // Bioorg. Med. Chem. 2010. Vol. 18, N 2. P. 822–829. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.11.050>
37. Tsang W.P., Kwok T.T. Epigallocatechin gallate up-regulation of miR-16 and induction of apoptosis in human cancer cells // J. Nutr. Biochem. 2010. Vol. 21, N 2. P. 140–146. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.12.003>
38. Izquierdo V., Palomera-Ávalos V., Pallàs M., Griñán-Ferré C. Resveratrol supplementation attenuates cognitive and molecular alterations under maternal high-fat diet intake: Epigenetic inheritance over generations // Int. J. Mol. Sci. 2021. Vol. 22, N 3. P. 1453. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22031453>
39. Li X.-M., Li Z., Wang Y., Wang J.-Q., Yang P.-L. Quercetin inhibits the proliferation and aflatoxins biosynthesis of *Aspergillus flavus* // Toxins (Basel). 2019. Vol. 11, N 3. P. 154. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins11030154>

40. Guo L., Sun Q., Gong S., Bi X., Jiang W., Xue W. Antimicrobial activity and action approach of the olive oil polyphenol extract against *Listeria monocytogenes* // Front. Microbiol. 2019. Vol. 10. P. 1586. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01586>
41. Fei P., Xu Y., Zhao S., Gong S., Guo L. Olive oil polyphenol extract inhibits vegetative cells of *Bacillus cereus* isolated from raw milk // J. Dairy Sci. 2019. Vol. 102, N 5. P. 3894–3902. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15184>
42. Guo L., Gong S., Wang Y., Sun Q., Duo K., Fei P. et al. Antibacterial activity of olive oil polyphenol extract against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*: possible mechanisms // Foodborne Pathog. Dis. 2020. Vol. 17, N 6. P. 396–403. DOI: <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2713>
43. Kong J., Zhang G., Xia K., Diao C., Yang X., Zuo X. et al. Tooth brushing using toothpaste containing theaflavins reduces the oral pathogenic bacteria in healthy adults // 3 Biotech. 2021. Vol. 11, N 3. P. 150. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02699-7>
44. Школьникова М.Н., Аверьянова Е.В., Рожнов Е.Д., Баташов Е.С. Исследование антибактериальной активности флавоноидов облепихового шрота // Индустрия питания. 2020. Т. 5, № 3. С. 61–69. DOI: <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2020-5-3-7>
45. Khalil A., Tazeddinova D. The upshot of Polyphenolic compounds on immunity amid COVID-19 pandemic and other emerging communicable diseases: An appraisal // Nat. Prod. Bioprospect. 2020. Vol. 10, N 6. P. 411–429. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13659-020-00271-z>
46. Chiou W.-C., Chen J.C., Chen Y.T., Yang J.M., Hwang L.H., Lyu Y.S. et al. The inhibitory effects of PGG and EGCG against the SARS-CoV-2 3C-like protease // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2022. Vol. 591. P. 130–136. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.02.012>
47. Du A., Zheng R., Disoma C., Li S., Chen Z., Li S. et al. Epigallocatechin-3-gallate, an active ingredient of Traditional Chinese Medicines, inhibits the 3CLpro activity of SARS-CoV-2 // Int. J. Biol. Macromol. 2021. Vol. 176. P. 1–12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.012>
48. Wang X., Dong W., Zhang X., Zho Z., Chen Y., Liu X. et al. Antiviral mechanism of tea polyphenols against porcine reproductive and respiratory syndrome virus // Pathogens. 2021. Vol. 10, N 2. P. 202. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens10020202>
49. Lopes B.R.P., da Costa M., Ribeiro A.G., da Silva T.F., Lima C.S., Caroso I.P. et al. Quercetin pentaacetate inhibits in vitro human respiratory syncytial virus adhesion // Virus Res. 2020. Vol. 276. Article ID 197805. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197805>
50. Shin M.-R., Kim M.J., Park H.J., Han J., Roh S.S. Beneficial effect of *Taraxacum coreanum* nakai via the activation of LKB1-AMPK signaling pathway on obesity // Evid. Based Complement. Altern. Med. 2021. Vol. 2021. Article ID 6655599. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/6655599>
51. Jiang H., Horiuchi Y., Hironao K., Kitakaze T., Yamashita Y., Ashida H. Prevention effect of quercetin and its glycosides on obesity and hyperglycemia through activating AMPK α in high-fat diet-fed ICR mice // J. Clin. Biochem. Nutr. 2020. Vol. 67, N 1. P. 75–83. DOI: <https://doi.org/10.3164/jcbn.20-47>
52. Петров Н.А., Сидорова Ю.С., Кочеткова А.А., Мазо В.К. Влияние полифенолов ягод черники, сорбированных на гречневой муке, на индуцированные нарушения углеводного обмена у мышеч-самцов линии C57BL/6с // Вопросы питания. 2020. Т. 89, № 6. С. 82–90. DOI: <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10081>
53. Hu Y., Xu J., Chen Q., Liu M., Wang S., Yu H. et al. Regulation effects of total flavonoids in *Morus alba* L. on hepatic cholesterol disorders in orotic acid induced NAFLD rats // BMC Complement. Med. Ther. 2020. Vol. 20, N 1. P. 257. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03052-w>
54. Yang H., Yang T., Heng C., Zhou Y., Jiang Z., Qian X. et al. Quercetin improves nonalcoholic fatty liver by ameliorating inflammation, oxidative stress, and lipid metabolism in db/db mice // Phytother. Res. 2019. Vol. 33, N 12. P. 3140–3152. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.6486>
55. Lee S., Lee J., Lee H., Sung J. Relative protective activities of quercetin, quercetin-3-glucoside, and rutin in alcohol-induced liver injury // J. Food Biochem. 2019. Vol. 43, N 11. Article ID e13002. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfbc.13002>
56. Mompeo O., Spector T.D., Matey Hernandez M., Le Roy C., Istaq G., Le Sayec M. et al. Consumption of stilbenes and flavonoids is linked to reduced risk of obesity independently of fiber intake // Nutrients. 2020. Vol. 12, N 6. P. 1871. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12061871>
57. Istaq G., Wood E., Le Sayec M., Rawlings C., Yoon J., Dandavate V. et al. Effects of aronia berry (poly)phenols on vascular function and gut microbiota: a double-blind randomized controlled trial in adult men // Am. J. Clin. Nutr. 2019. Vol. 110, N 2. P. 316–329. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz075>
58. Bondonno N.P., Bondonno C.P., Ward N., Woodman R.J., Hodgson J.M., Croft K.D. Enzymatically modified isoquercitrin improves endothelial function in volunteers at risk of cardiovascular disease // Br. J. Nutr. 2020. Vol. 123, N 2. P. 182–189. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114519002137>
59. Cui B., Zhang S., Wang Y., Guo Y. Ferrerol attenuates β -amyloid-induced oxidative stress and inflammation through Nrf2/Keap1 pathway in a microglia cell line // Biomed. Pharmacother. 2019. Vol. 109. P. 112–119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.053>
60. Kumar S., Krishnakumar V.G., Morya V., Gupta S., Datta B. Nanobio-catalyst facilitated aglycosidic quercetin as a potent inhibitor of tau protein aggregation // Int. J. Biol. Macromol. 2019. Vol. 138. P. 168–180. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.081>
61. Nasso R., Pagliara V., D'Angelo S., Rullo R., Masullo M., Arcone R. Annurca apple polyphenol extract affects acetylcholinesterase and mono-amine oxidase in vitro enzyme activity // Pharmaceuticals. 2021. Vol. 14, N 1. P. 62. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph14010062>
62. Kozmon S., Tvaroška I. Molecular dynamic studies of amyloid-beta interactions with curcumin and Cu²⁺ ions // Chem. Papers. 2015. Vol. 69, N 9. P. 1262–1276. DOI: <https://doi.org/10.1515/chempap-2015-0134>
63. He Y., Tan D., Mi Y., Dai B., Jiang D., Zhou X. et al. Effect of epigallocatechin-3-gallate on acrylamide-induced oxidative stress and apoptosis in PC12 cells // Hum. Exp. Toxicol. 2017. Vol. 36, N 10. P. 1087–1099. DOI: <https://doi.org/10.1177/0960327116681648>
64. Kennedy D.O., Bonnländer B., Lang S., Pischel I., Forster J., Khan J. et al. Acute and chronic effects of green oat (*Avena sativa*) extract on cognitive function and mood during a laboratory stressor in healthy adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled study in healthy humans // Nutrients. 2020. Vol. 12, N 6. P. 1598. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12061598>
65. Poti F., Santi D., Spaggiari G., Zimetti F., Zanotti I. Polyphenol health effects on cardiovascular and neurodegenerative disorders: A review and meta-analysis // Int. J. Mol. Sci. 2019. Vol. 20, N 2. P. 351. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20020351>
66. Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Шипелин В.А., Зорин С.Н., Кочеткова А.А., Мазо В.К. Влияние полифенолов листьев черники на степень тревожности, пространственное обучение и память у мышей линии db/db // Вопросы питания. 2019. Т. 88, № 3. С. 53–62. DOI: <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10029>
67. Фоменко А.Н., Прошкина Е.Н., Фединцев А.Ю. Цветков В.О., Шапошников М.В., Москалев А.А. Потенциальные геропротекторы. Санкт-Петербург: Европейский дом, 2016. 680 с. ISBN 978-5-8015-0373-8.
68. Esposito S., Gialluisi A., Costanzo S., Di Castelnuovo A., Ruggero E., De Curtis A. et al. Dietary polyphenol intake is associated with biological aging, a novel predictor of cardiovascular disease: Cross-sectional findings from the Moli-sani study // Nutrients. 2021. Vol. 13, N 5. P. 1701. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13051701>
69. Platonova E.Y., Shaposhnikov M.V., Lee H., Lee J.H., Min K.-J., Moskalev A. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extracts in terms of geroprotector criteria // Trends Food Sci. Technol. 2021. Vol. 114. P. 570–584. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.020>
70. Lashmanova E., Zemskaya N., Proshkina E., Kudryavtseva A., Volosnikova M., Marusich E. et al. The evaluation of geroprotective effects of selected flavonoids in *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans* // Front. Pharmacol. 2017. Vol. 8. P. 884. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00884>
71. Proshkina E., Lashmanova E., Dobrovolskaya E., Zemskaya N., Kudryavtseva A., Shaposhnikov M. et al. Geroprotective and radioprotective activity of quercetin, (-)-epicatechin, and ibuprofen in *Drosophila melanogaster* // Front. Pharmacol. 2016. Vol. 7. P. 505. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00505>
72. Proshkina E., Shaposhnikov M., Moskalev A. Genome-protecting compounds as potential geroprotectors // Int. J. Mol. Sci. 2020. Vol. 21, N 12. P. 4484. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21124484>
73. Sassi A., Boubaker J., Loussaief A., Jomaa K., Ghedira K., Chekir-Ghedira L. Protective effect of chrysin, a dietary flavone against genotoxic and oxidative damage induced by mitomycin C in Balb/C mice // Nutr. Cancer. 2021. Vol. 73, N 2. P. 329–338. DOI: <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1749289>
74. Shan H., Geng L., Jiang X., Song M., Wang J., Liu Z. et al. Large-scale chemical screen identifies Gallic acid as a geroprotector for human stem cells // Protein Cell. 2022. Vol. 13, N 7. P. 532–539. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13238-021-00872-5>
75. Nutrition, Food and Diet in Ageing and Longevity / eds Rattan S.I.S., Kaur G. Cham : Springer International Publishing, 2021. Vol. 14. 642 p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-83017-5>
76. Leri M., Scuto M., Ontario M., Calabrese V., Bucciantini M., Stefani M. Healthy effects of plant polyphenols: molecular mechanisms // Int. J. Mol. Sci. 2020. Vol. 21, N 4. P. 1250. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21041250>

77. Arts I.C.W., Sesink A., Faassen-Peters M., Hollman P.C.H. The type of sugar moiety is a major determinant of the small intestinal uptake and subsequent biliary excretion of dietary quercetin glycosides // *Br. J. Nutr.* 2004. Vol. 91, N 6. P. 841–847. DOI: <https://doi.org/10.1079/BJN20041123>
78. Marín L., Miguélez E.M., Villar C., Lombo F. Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: Antimicrobial properties // *Biomed. Res. Int.* 2015. Vol. 2015. P. 1–18. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/905215>
79. Hu M., Chen J., Lin H. metabolism of flavonoids via enteric recycling: mechanistic studies of disposition of apigenin in the Caco-2 cell culture model // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003. Vol. 307, N 1. P. 314–321. DOI: <https://doi.org/10.1124/jpet.103.053496>
80. Crespy V., Morand C., Manach C., Besson C., Demigne C., Remy C. Part of quercetin absorbed in the small intestine is conjugated and further secreted in the intestinal lumen // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1999. Vol. 277, N 1. P. G120–G126. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1999.277.1.G120>

References

1. Singla R.K., Dubey A.K., Garg A., Sharma R., Fiorino M., Ameen S., et al. Natural polyphenols: chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *J AOAC Int.* 2019; 102 (5): 1397–400. DOI: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-0133>
2. Zhang L., Han Z., Granato D. Polyphenols in foods: Classification, methods of identification, and nutritional aspects in human health. *Adv Food Nutr Res.* 2021; 98: 1–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2021.02.004>
3. Truzzi F., Tibaldi C., Zhang Y., Dineli G., D'Amen E. An overview on dietary polyphenols and their Biopharmaceutical Classification System (BCS). *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (11): 5514. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22115514>
4. Jagannath I.B., Mullen W., Edwards C.A., Crozier A. The relative contribution of the small and large intestine to the absorption and metabolism of rutin in man. *Free Radic Res.* 2006; 40 (10): 1035–46. DOI: <https://doi.org/10.1080/10715760600771400>
5. Ostroukhova L.A., Fedorova T.E., Onuchina N.A., Levchuk A.A., Babkin V.A. Quantitative content of extractives from wood, roots and bark of coniferous trees in siberia: larch (*Larix sibirica* L.), pines (*Pinus sylvestris* L.), fir (*Abies sibirica* L.), spruce (*Picea obovata* L.) and cedar (*Pinus sibirica* du tour.). Khimiya rastitel'nogo syr'ia [Chemistry of Plant Raw Material]. 2018; (4): 185–95. DOI: <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018044245> (in Russian)
6. Mamot T.V., Kushnerova N.F. Justification of the choice of raw sources from far east flora for receiving the pharmaceutical preparations. Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN [Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences]. 2016; 18 (2): 146–9. (in Russian)
7. Chen G.-L., Munday M.F., Xu Y.-B., Saleri F.D., Hu G.-W.W., Mutie F.M., et al. Antioxidant, anti-inflammatory activities and polyphenol profile of *Rhamnus prinoides*. *Pharmaceuticals.* 2020; 13 (4): 55. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph13040055>
8. Ben Khedher M.R., Hafsa J., Haddad M., Hammami M. Inhibition of Protein Glycation by combined antioxidant and antiglycation constituents from a phenolic fraction of sage (*Salvia officinalis* L.). *Plant Foods Hum Nutr.* 2020; 75 (4): 505–11. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00838-8>
9. Tutelyan V.A., Nikityuk D.B., Baturin A.K., Vasil'ev A.V., Gaparov M.M.G., Zhilinskaya N.V., et al. Nutriome as the direction of the «main blow»: determination of physiological needs in macro- and micronutrients, minor biologically active substances. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2020; 89 (4): 24–34. DOI: <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10039> (in Russian)
10. Popova A.Yu., Tutelyan V.A., Nikityuk D.B. On the new (2021) Norms of physiological requirements in energy and nutrients of various groups of the population of the Russian Federation. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2021; 90 (4): 6–19. DOI: <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-4-6-19> (in Russian)
11. Tang J., Diao P., Shu X., Li L., Xiong L. Quercetin and quercitrin attenuates the inflammatory response and oxidative stress in LPS-induced RAW264.7 cells: in vitro assessment and a theoretical model. *Biomed Res Int.* 2019; 2019: 7039802. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/7039802>
12. Heřmánková E., Zatloukalová M., Biler M., Sokolova R., Banarova M., Tzakos A.G., et al. Redox properties of individual quercetin moieties. *Free Radic Biol Med.* 2019; 143: 240–51. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.08.001>
13. Gonzalez-Alfonso J.L., Peñalver P., Ballesteros A.O., Morales J.C., Plou F.J., et al. Effect of α -glucosylation on the stability, antioxidant properties, toxicity, and neuroprotective activity of (–)-epigallocatechin gallate. *Front Nutr.* 2019; 6: 30. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00030>
14. Basu P., Maier C. In vitro antioxidant activities and polyphenol contents of seven commercially available fruits // *Pharmacognosy Res.* 2016; 8 (4): 258. DOI: <https://doi.org/10.4103/0974-8490.188875>
15. Yang X., Kong F. Evaluation of the in vitro α -glucosidase inhibitory activity of green tea polyphenols and different tea types. *J Sci Food Agric.* 2016; 96 (3): 777–82. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.7147>
16. Kim S., Kim M., Kang M., Lee H.H.L., Cho C.H., Choi I., et al. Antioxidant effects of turmeric leaf extract against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in vitro in vero cells and in vivo in zebrafish. *Antioxidants.* 2021; 10 (1): 112. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10010112>
17. Franco R.R., Alves V.M.A., Zabinsky L.F.R., Justino A.B., Martins M.M., Saraiva A.L., et al. Antidiabetic potential of Bauhinia forficata Link leaves: a non-cytotoxic source of lipase and glycoside hydrolases inhibitors and molecules with antioxidant and antiglycation properties. *Biomed Pharmacother.* 2020; 123: 109798. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109798>
18. Ntemiri A., Ghosh T., Gheller M., Tran T.T.T., Blum J.E., Pellanda P., et al. Whole blueberry and isolated polyphenol-rich fractions modulate specific gut microbes in an in vitro colon model and in a pilot study in human consumers. *Nutrients.* 2020; 12 (9): 2800. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12092800>
19. Natella F., Beleti F., Gentili V., Ursini F., Scaccini C. Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. *J Agric Food Chem.* 2002; 50 (26): 7720–5. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf0203460>
20. Malesev D., Kuntic V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *J Serb Chem Soc.* 2007; 72 (10): 921–39. DOI: <https://doi.org/10.2298/JSC0710921M>
21. Ianni A., Di Maio G., Pittia P., Grotta L., Perpetuini G., Tofalo R., et al. Chemical-nutritional quality and oxidative stability of milk and dairy products obtained from Friesian cows fed with a dietary supplementation of dried grape pomace. *J Sci Food Agric.* 2019; 99 (7): 3635–43. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9584>
22. Furman D., Campisi J., Verdin E., Carrera-Bastos P., Targ S., Franceschi P., et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med.* 2019; 25 (12): 1822–32. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0>
23. Ying Z.H., Li H., Yu W., Yu C.-H.C. Iridin prevented against lipopolysaccharide-induced inflammatory responses of macrophages via inactivation of PKM2-mediated glycolytic pathways. *J Inflamm Res.* 2021; 14: 341–54. DOI: <https://doi.org/10.2147/JIR.S292244>
24. Ma H., Johnson S., Liu W., DaSilva N., Meschwitz S., Dain J., et al. Evaluation of polyphenol anthocyanin-enriched extracts of blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry for free radical scavenging, reactive carbonyl species trapping, anti-glycation, anti- β -amyloid aggregation, and microglial neuroprotective effects. *Int J Mol Sci.* 2018; 19 (2): 461. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19020461>
25. Choi K.-C., Jung M., Lee Y., Yoon J.C., Kwon S.H., Kang H.B., et al. Epigallocatechin-3-gallate, a histone acetyltransferase inhibitor, inhibits EBV-induced B lymphocyte transformation via suppression of RelA acetylation. *Cancer Res.* 2009; 69 (2): 583–92. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2442>
26. Fujitaka Y., Hamada H., Uesugi D., Kuboki A., Shimoda K., Iwaki T., et al. Synthesis of daidzein glycosides, α -tocopherol glycosides, hesperetin glycosides by bioconversion and their potential for anti-allergic functional-foods and cosmetics. *Molecules.* 2019; 24 (16): 2975. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24162975>
27. Spagnuolo L., Della Posta S., Fanali C., Dugo L., De Gara L. Antioxidant and antiglycation effects of polyphenol compounds extracted from hazelnut skin on advanced glycation end-products (AGEs) formation. *Antioxidants.* 2021; 10 (3): 424. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10030424>
28. Ávila F., Ravello N., Manriquez C., Jiménez-Aspee F., Schmeda-Hirschmann G., Teoduloz C. Antiglycating effect of phenolics from the Chilean currant *Ribes cucullatum* under thermal treatment. *Antioxidants.* 2021; 10 (5): 665. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10030424>
29. Miroliaei M., Aminjafari A., Ślusarczyk S., Nawrot-Hadzik I., Rahim-malek M., Matkowski A., et al. Inhibition of glycation-induced cytotoxicity, protein glycation, and activity of proteolytic enzymes by extract from *Perovskia atriplicifolia* roots. *Pharmacogn Mag.* 2017; 13 (51): 676. DOI: https://doi.org/10.4103/pm.pm_559_16

30. Ward A.B., Mir H., Kapur N., Dales G.N., Carriere P.P., Singh S. Quercetin inhibits prostate cancer by attenuating cell survival and inhibiting anti-apoptotic pathways. *World J Surg Oncol.* 2018; 16 (1): 108. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12957-018-1400-z>
31. Lotfizadeh R., Sepehri H., Attari F., Delohi L. Flavonoid calycoperin induces apoptosis in human prostate cancer cells in-vitro. *Iran J Pharm Res.* 2020; 19 (3): 391–401. DOI: <https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.113410.14283>
32. Moradi M., Gholipour H., Sepehri H., Attari F., Delohi L., Arefian E., et al. Flavonoid calycoperin triggers apoptosis in triple-negative and ER-positive human breast cancer cells through activating different patterns of gene expression. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2020; 393 (11): 2145–56. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00210-020-01917-y>
33. Singh C.K., Chhabra G., Ndiaye M.A., Siddiqui I.A., Panackal J.E., Mintie C.A., et al. Quercetin–resveratrol combination for prostate cancer management in tramp mice. *Cancers (Basel).* 2020; 12 (8): 2141. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers12082141>
34. Dolara P., Luceri C., Filippo C., Femia A.P., Giovannelli L., Caderni G., et al. Red wine polyphenols influence carcinogenesis, intestinal microflora, oxidative damage and gene expression profiles of colonic mucosa in F344 rats. *Mutat Res.* 2005; 591 (1–2): 237–46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.04.022>
35. Paluszczak J., Krajka-Kuzniak V., Baer-Dubowska W. The effect of dietary polyphenols on the epigenetic regulation of gene expression in MCF7 breast cancer cells. *Toxicol Lett.* 2010; 192 (2): 119–25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.10.010>
36. Kuck D., Singh N., Lyko F., Medina-Franco J.L. Novel and selective DNA methyltransferase inhibitors: Docking-based virtual screening and experimental evaluation. *Bioorg Med Chem.* 2010; 18 (2): 822–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.11.050>
37. Tsang W.P., Kwok T.T. Epigallocatechin gallate up-regulation of miR-16 and induction of apoptosis in human cancer cells. *J Nutr Biochem.* 2010; 21 (2): 140–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.12.003>
38. Izquierdo V., Palomera-Ávalos V., Pallàs M., Griñán-Ferré C. Resveratrol supplementation attenuates cognitive and molecular alterations under maternal high-fat diet intake: Epigenetic inheritance over generations. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (3): 1453. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22031453>
39. Li X.-M., Li Z., Wang Y., Wang J.-Q., Yang P.-L. Quercetin inhibits the proliferation and aflatoxins biosynthesis of *Aspergillus flavus*. *Toxins (Basel).* 2019; 11 (3): 154. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins11030154>
40. Guo L., Sun Q., Gong S., Bi X., Jiang W., Xue W. Antimicrobial activity and action approach of the olive oil polyphenol extract against *Listeria monocytogenes*. *Front Microbiol.* 2019; 10: 1586. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01586>
41. Fei P., Xu Y., Zhao S., Gong S., Guo L. Olive oil polyphenol extract inhibits vegetative cells of *Bacillus cereus* isolated from raw milk. *J Dairy Sci.* 2019; 102 (5): 3894–902. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15184>
42. Guo L., Gong S., Wang Y., Sun Q., Duo K., Fei P., et al. Antibacterial activity of olive oil polyphenol extract against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*: possible mechanisms. *Foodborne Pathog Dis.* 2020; 17 (6): 396–403. DOI: <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2713>
43. Kong J., Zhang G., Xia K., Diao C., Yang X., Zuo X., et al. Tooth brushing using toothpaste containing theaflavins reduces the oral pathogenic bacteria in healthy adults. *3 Biotech.* 2021; 11 (3): 150. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02699-7>
44. Shkol'nikova M.N., Aver'yanova E.V., Rozhnov E.D., Batashov E.S. Study of the antibacterial activity of sea buckthorn meal flavonoids. *Industriya pitaniia [Food Industry].* 2020; 5 (3): 61–9. DOI: <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2020-5-3-7> (in Russian)
45. Khalil A., Tazeddinova D. The upshot of Polyphenolic compounds on immunity amid COVID-19 pandemic and other emerging communicable diseases: An appraisal. *Nat Prod Bioprospect.* 2020; 10 (6): 411–29. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13659-020-00271-z>
46. Chiou W.-C., Chen J.C., Chen Y.T., Yang J.M., Hwang L.H., Lyu Y.S., et al. The inhibitory effects of PGG and EGCG against the SARS-CoV-2 3C-like protease. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022; 591: 130–6. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13659-020-00271-z>
47. Du A., Zheng R., Disoma C., Li S., Chen Z., Li S., et al. Epigallocatechin-3-gallate, an active ingredient of Traditional Chinese Medicines, inhibits the 3CLpro activity of SARS-CoV-2. *Int J Biol Macromol.* 2021; 176: 1–12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.012>
48. Wang X., Dong W., Zhang X., Zho Z., Chen Y., Liu X., et al. Antiviral mechanism of tea polyphenols against porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Pathogens.* 2021; 10 (2): 202. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens10020202>
49. Lopes B.R.P., da Costa M., Ribeiro A.G., da Silva T.F., Lima C.S., Caroso I.P., et al. Quercetin pentaacetate inhibits in vitro human respiratory syncytial virus adhesion. *Virus Res.* 2020; 276: 197805. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197805>
50. Shin M.-R., Kim M.J., Park H.J., Han J., Roh S.S. Beneficial effect of *Taraxacum coreanum* nakai via the activation of LKB1-AMPK signaling pathway on obesity. *Evid Based Complement Altern Med.* 2021; 2021: 6655599. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/6655599>
51. Jiang H., Horiuchi Y., Hironao K., Kitakaze T., Yamashita Y., Ashida H. Prevention effect of quercetin and its glycosides on obesity and hyperglycemia through activating AMPK α in high-fat diet-fed ICR mice. *J Clin Biochem Nutr.* 2020; 67 (1): 75–83. DOI: <https://doi.org/10.3164/jcbn.20-47>
52. Petrov N.A., Sidorova Yu.S., Kochetkova A.A., Mazo V.K. Effect of blueberry polyphenols adsorbed on buckwheat flour on induced disorders of carbohydrate metabolism in C57BL/6c male mice. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition].* 2020; 89 (6): 82–90. DOI: <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10081> (in Russian)
53. Hu Y., Xu J., Chen Q., Liu M., Wang S., Yu H., et al. Regulation effects of total flavonoids in *Morus alba* L. on hepatic cholesterol disorders in orotic acid induced NAFLD rats. *BMC Complement Med Ther.* 2020; 20 (1): 257. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03052-w>
54. Yang H., Yang T., Heng C., Zhou Y., Jiang Z., Qian X., et al. Quercetin improves nonalcoholic fatty liver by ameliorating inflammation, oxidative stress, and lipid metabolism in db/db mice. *Phytother. Res.* 2019; 33 (12): 3140–52. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.6486>
55. Lee S., Lee J., Lee H., Sung J. Relative protective activities of quercetin, quercetin-3-glucoside, and rutin in alcohol-induced liver injury. *J Food Biochem.* 2019; 43 (11): e13002. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfbc.13002>
56. Mompeo O., Spector T.D., Matey Hernandez M., Le Roy C., Iastas G., Le Sayec M., et al. Consumption of stilbenes and flavonoids is linked to reduced risk of obesity independently of fiber intake. *Nutrients.* 2020; 12 (6): 1871. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12061871>
57. Iastas G., Wood E., Le Sayec M., Rawlings C., Yoon J., Dandavate V., et al. Effects of aronia berry (poly)phenols on vascular function and gut microbiota: a double-blind randomized controlled trial in adult men. *Am J Clin Nutr.* 2019; 110 (2): 316–29. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz075>
58. Bondonno N.P., Bondonno C.P., Ward N., Woodman R.J., Hodgson J.M., Croft K.D. Enzymatically modified isocoumarin improves endothelial function in volunteers at risk of cardiovascular disease. *Br J Nutr.* 2020; 123 (2): 182–9. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114519002137>
59. Cui B., Zhang S., Wang Y., Guo Y. Farrerol attenuates β -amyloid-induced oxidative stress and inflammation through Nrf2/Keap1 pathway in a microglia cell line. *Biomed Pharmacother.* 2019; 109: 112–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.053>
60. Kumar S., Krishnakumar V.G., Morya V., Gupta S., Datta B. Nanobiocatalyst facilitated aglycosidic quercetin as a potent inhibitor of tau protein aggregation. *Int J Biol Macromol.* 2019; 138: 168–80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.081>
61. Nasso R., Pagliara V., D'Angelo S., Rullo R., Masullo M., Arcore R. Annurca apple polyphenol extract affects acetylcholinesterase and mono-amine oxidase in vitro enzyme activity. *Pharmaceuticals.* 2021; 14 (1): 62. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph14010062>
62. Kozmon S., Tvaroška I. Molecular dynamic studies of amyloid-beta interactions with curcumin and Cu²⁺ ions. *Chem Papers.* 2015; 69 (9): 1262–76. DOI: <https://doi.org/10.1515/chempap-2015-0134>
63. He Y., Tan D., Mi Y., Dai B., Jiang D., Zhou X., et al. Effect of epigallocatechin-3-gallate on acrylamide-induced oxidative stress and apoptosis in PC12 cells. *Hum Exp Toxicol.* 2017; 36 (10): 1087–99. DOI: <https://doi.org/10.1177/0960327116681648>
64. Kennedy D.O., Bonnländer B., Lang S., Pischel I., Forster J., Khan J., et al. Acute and chronic effects of green oat (*Avena sativa*) extract on cognitive function and mood during a laboratory stressor in healthy adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled study in healthy humans. *Nutrients.* 2020; 12 (6): 1598. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12061598>
65. Poti F., Santi D., Spaggiari G., Zimetti F., Zanotti I. Polyphenol health effects on cardiovascular and neurodegenerative disorders: A review and meta-analysis. *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (2): 351. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20020351>
66. Sidorova Yu.S., Petrov N.A., Shipelin V.A., Zorin S.N., Kochetkova A.A., Mazo V.K. Effect of blueberry leaf polyphenols on anxiety, spatial learning, and memory in db/db mice. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition].* 2019; 88 (3): 53–62. DOI: <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10029> (in Russian)
67. Fomenko A.N., Proshkina E.N., Fedintsev A.Yu., Tsvetkov V.O., Shaposhnikov M.V., Moskalev A.A. Potential geroprotectors. *Saint Petersburg: Evropeyskiy dom,* 2016: 680 p. ISBN 978-5-8015-0373-8 (in Russian)
68. Esposito S., Gialluisi A., Costanzo S., Di Castelnuovo A., Ruggiero E., De Curtis A., et al. Dietary polyphenol intake is associated with biological aging, a novel predictor of cardiovascular disease: Cross-sectional findings from the Moli-sani study. *Nutrients.* 2021; 13 (5): 1701. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13051701>

69. Platonova E.Y., Shaposhnikov M.V., Lee H., Lee J.H., Min K.-J., Moskalev A. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extracts in terms of geroprotector criteria. *Trends Food Sci Technol.* 2021; 114: 570–84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.020>
70. Lashmanova E., Zemsкая N., Proshkina E., Kudryavtseva A., Volosnikova M., Marusich E., et al. The evaluation of geroprotective effects of selected flavonoids in *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. *Front Pharmacol.* 2017; 8: 884. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00884>
71. Proshkina E., Lashmanova E., Dobrovolskaya E., Zemsкая N., Kudryavtseva A., Shaposhnikov M., et al. Geroprotective and radioprotective activity of quercetin, (-)-epicatechin, and ibuprofen in *Drosophila melanogaster*. *Front Pharmacol.* 2016; 7: 505. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00505>
72. Proshkina E., Shaposhnikov M., Moskalev A. Genome-protecting compounds as potential geroprotectors. *Int J Mol Sci.* 2020; 21 (12): 4484. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21124484>
73. Sassi A., Boubaker J., Loussaief A., Jomaa K., Ghedira K., Chekir-Ghedira L. Protective effect of chrysin, a dietary flavone against genotoxic and oxidative damage induced by mitomycin C in Balb/C mice. *Nutr Cancer.* 2021; 73 (2): 329–38. DOI: <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1749289>
74. Shan H., Geng L., Jiang X., Song M., Wang J., Liu Z., et al. Large-scale chemical screen identifies Gallic acid as a geroprotector for human stem cells. *Protein Cell.* 2022; 13 (7): 532–9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13238-021-00872-5>
75. Nutrition, Food and Diet in Ageing and Longevity. In: Rattan S.I.S., Kaur G. (eds). Cham: Springer International Publishing, 2021; 14: 642 p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-83017-5>
76. Leri M., Scuto M., Ontario M., Calabrese V., Bucciantini M., Stefani M. Healthy effects of plant polyphenols: molecular mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2020; 21 (4): 1250. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21041250>
77. Arts I.C.W., Sesink A., Faassen-Peters M., Hollman P.C.H. The type of sugar moiety is a major determinant of the small intestinal uptake and subsequent biliary excretion of dietary quercetin glycosides. *Br J Nutr.* 2004; 91 (6): 841–7. DOI: <https://doi.org/10.1079/BJN20041123>
78. Marín L., Miguélez E.M., Villar C., Lombo F. Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: Antimicrobial properties. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 1–18. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/905215>
79. Hu M., Chen J., Lin H. metabolism of flavonoids via enteric recycling: mechanistic studies of disposition of apigenin in the Caco-2 cell culture model. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003; 307 (1): 314–21. DOI: <https://doi.org/10.1124/jpet.103.053496>
80. Crespy V., Morand C., Manach C., Besson C., Demigne C., Remesy C. Part of quercetin absorbed in the small intestine is conjugated and further secreted in the intestinal lumen. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 1999; 277 (1): G120–6. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1999.277.1.G120>

УДК 616-092.18: 616.074[092.4+092.9]

DOI: 10.22141/2224-0586.4.83.2017.107428

Никонов В.В., Курсов С.В., Белецкий А.В.

Харьковская медицинская академия последипломного образования, г. Харьков, Украина

Дикарбонильный стресс: гипотеза клеточного повреждения в условиях гипоксии. Пусковой механизм развития мультиорганной дисфункции

Резюме. Актуальность. Различные критические состояния организма часто ассоциированы с развитием гипоксии, в результате чего активируются механизмы гликолиза, под влиянием выброса стрессовых гормонов развивается гипергликемия. Показано, что в условиях анаэробного гликолиза на фоне гипергликемии в клетках продуцируются токсичные соединения, вызывающие гликолизирование протеинов и нуклеиновых кислот. Вместе с нарушением функции клеточных белков развивается митохондриальная дисфункция, которая приводит к энергетическому дефициту и нарушению функционирования органов. **Цель исследования:** выявить основные механизмы дикарбонильного стресса, их значение для формирования критических состояний организма и определить наиболее перспективные способы коррекции для специалистов в области интенсивной терапии. **Материалы и методы.** Детальное изучение результатов современных научных исследований процессов углеводного обмена при патологических состояниях на основании информации, представленной в Интернете. **Результаты.** Ведущая роль в повреждении клеточных структур организма при дикарбонильном стрессе принадлежит глиоксалу и метилглиоксалу. Эти вещества образуются в качестве побочных продуктов анаэробного гликолиза. Увеличению их синтеза способствуют активация анаэробного гликолиза и гипергликемия. Дикарбонильные соединения вступают в химические реакции с аминокруппами протеинов, нуклеиновых кислот и других биологически активных соединений, нарушая их функционирование. Естественная детоксикация осуществляется глиоксалазной системой с участием восстановленного глутатиона, который является основным компонентом антиоксидантной системы. Усиление окислительного стресса и появление антиоксидантного дефицита обуславливают увеличение тяжести повреждений, связанных с повышенной продукцией глиоксала и метилглиоксала. Профилактика дикарбонильного стресса осуществляется с помощью увеличения мощности антиоксидантной системы, прежде всего за счет увеличения продукции восстановленного глутатиона. Для нейтрализации токсичных дикарбонильных метаболитов могут быть использованы препараты, выполняющие функцию «ловушек». Перспективно применение терапии, направленной на устранение митохондриальной дисфункции. **Выводы.** Новая проблема повреждения организма в условиях дикарбонильного стресса диктует необходимость анализа и переоценки множества мероприятий интенсивной терапии. Детальное изучение особенностей углеводного обмена при различных критических состояниях, включая определение концентрации глиоксала и метилглиоксала, мониторинг уровня гликемии и клиренса лактата в сочетании с возвращением к оценочную состояния компенсации функции прооксидантной/антиоксидантной системы организма, является одним из перспективных направлений предстоящих научных исследований в клинике. Специалисты по интенсивной терапии ежедневно сталкиваются с ситуациями, когда дикарбонильный стресс может выступать в качестве одного из действительных механизмов формирования органной и мультиорганной дисфункции и определяет развитие декомпенсации жизненно важных функций. Научиться противостоять ему является актуальной ближайшей задачей.

Ключевые слова: дикарбонильный стресс; анаэробный гликолиз; глиоксаль; метилглиоксаль; глутатион; антиоксидантная система; митохондриальная дисфункция

© «Медицина неотложных состояний», 2017

© Издатель Заславский А.Ю., 2017

© «Emergency Medicine», 2017

© Publisher Zaslavsky O.Yu., 2017

Для корреспонденции: Никонов Вадим Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой медицины неотложных состояний и медицины катастроф, Харьковская медицинская академия последипломного образования, ул. Амосова, 58, г. Харьков, 61176, Украина; e-mail: nikonov.vad@gmail.com

For correspondence: Vadym Nikonov, MD, Professor, Head of the Department of emergency medicine and medicine of disasters, Kharkiv State Medical Academy of Postgraduate Education, Amosova st., 58, Kharkiv, 61176, Ukraine; e-mail: nikonov.vad@gmail.com

Введение

Термин «гипоксия» подразумевает снижение напряжения кислорода и его объемного содержания в тканях. Дефицит кислорода любого происхождения ассоциирован с уменьшением энергопродукции через угнетение реакции аэробного гликолиза. Реакции цикла трикарбонных кислот весьма чувствительны к недостатку кислорода и подавляются уже при гипоксии средней степени тяжести. В таких условиях главными путями энергопродукции становятся анаэробный гликолиз и сукцинатный шунт. В то время как особенности реакций сукцинатного типа дыхания до конца не изучены, механизмы анаэробного гликолиза хорошо известны. Конечным его продуктом является молочная кислота. Определение концентрации лактата в крови в состоянии покоя как обособленно, так и в динамике (клиренс лактата) является оценкой тяжести гипоксии и имеет серьезное прогностическое значение в интенсивной терапии [1–3]. Между тем лактат является веществом совершенно не токсичным и успешно метаболизируется, не нанося ущерба организму. У высококлассных ватерполистов концентрация лактата в крови в процессе интенсивной нагрузки возрастает от начальной $1,34 \pm 0,35$ мМоль/л до 14–16 мМоль/л. У юных велосипедистов и бегунов-аматоров уровень лактата достигает 9–10 мМоль/л. Тем не менее организм подавляющего большинства спортсменов справляется с задачей быстрой утилизации этого продукта обмена весьма успешно, без неблагоприятных последствий.

В клинической практике избыток лактата представляет не более чем маркер наличия и тяжести кислородной задолженности. Повреждения организму наносят совсем другие химические соединения [4–6].

В процессе активации анаэробного гликолиза в организме могут накапливаться вещества, отличные от лактата, несущие в своей химической структуре две карбонильные группы ($>C=O$), в связи с чем и названы дикарбонильными. Эти вещества обладают значительной цитотоксичностью, повреждая протеины и нарушая процессы тканевого дыхания, инициируют воспаление. Неблагоприятное интегративное действие на организм химических соединений, несущих в себе пару карбонильных групп, в ситуациях, характеризующихся их усиленной продукцией и нарушением инактивации, получило название «дикарбонильный стресс» [7–9].

Цель исследования: выявить основные механизмы дикарбонильного стресса, их значение для формирования критических состояний организма и определить наиболее перспективные способы коррекции для специалистов в области интенсивной терапии.

Материалы и методы

Детальное изучение результатов современных научных исследований процессов углеводного обмена при патологических состояниях. Анализ проведен на основании последней информации, пред-

ставленной в Интернете на специализированных сайтах для профессионалов биологии и медицины — Frontiers in Neuroscience, Hindawi Publishing Corporation, PLoS One, Realize Health, Scientific Reports, в журналах «Archives of Physiology and Biochemistry», «Biochemical and Biophysical Research Communications», «Critical Care Medicine», «Free Radical Biology and Medicine», «International Journal of Biochemistry & Cell Biology», «International Journal of Molecular Sciences», «Journal of Neuroscience», «Nature Cell Biology», «Toxicology Research» и других источниках.

Результаты

Из известных дикарбонильных соединений, образующихся в организме в условиях активации анаэробного гликолиза, особое внимание уделяется глиоксалу и метилглиоксалу. Реактивные дикарбонильные соединения, в том числе указанные, образуются в организме в процессе анаэробного гликолиза, глюконеогенеза и перекисного окисления липидов. Основным механизмом действия этих веществ считают гликолизирование протеинов, вследствие чего меняются их свойства и нарушаются функции. Структура белков нарушается при взаимодействии дикарбонильных соединений с аминокетонами. В процесс вовлекаются как белки внутриклеточного протоплазматического матрикса, так и внеклеточные протеины. В свою очередь, измененные протеины активируют клетки сосудистого эндотелия, мезангиальные клетки и макрофаги, продуцирующие активные формы кислорода. Таким образом, дикарбонильные соединения принимают участие в формировании механизмов окислительного стресса [7, 8, 10].

Глиоксаль

Глиоксаль является простейшим диальдегидом. Он принимает активное участие в гликолизировании протеинов. В качестве маркера наличия и тяжести белковой модификации вследствие гликолизирования используется определение концентрации N-(карбоксиметил)-лизина. Концентрация этого химического соединения бывает высокой при сепсисе и различных критических состояниях. Высокое содержание в крови N-(карбоксиметил)-лизина ассоциировано с увеличением внутрибольничной летальности. Увеличение продукции как N-(карбоксиметил)-лизина, так и близкого к нему по химической структуре N-(карбоксиэтил)-лизина, который накапливается вследствие наличия метилированного производного глиоксаля — метилглиоксаля, ассоциировано с увеличением оценки тяжести пациентов по шкале SOFA и встречается при множестве заболеваний [10–12]. Показано, что кумуляция N-(карбоксиметил)-лизина в астроцитах спинно-

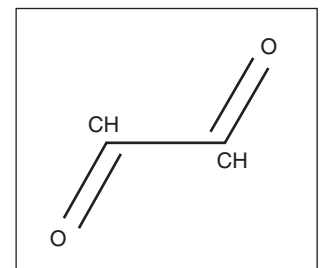


Рисунок 1

го мозга у страдающих боковым амиотрофическим склерозом была сопряжена с угнетением активности транспортера глутамата, в связи с чем последний накапливался и создавал эффект эксайтотоксичности. Инкубация культур нервных клеток с глиоксалем приводит к угнетению обратного захвата глутамата, вследствие чего его концентрация в межклеточной жидкости также возрастает. Токсичный эффект глиоксала определяет гибель двигательных нейронов при боковом амиотрофическом склерозе [13]. Примечательно, что глиоксаль представляет не что иное, как один из продуктов превращения (или летального синтеза) в организме этиленгликоля — вещества, обладающего высокой токсичностью и повреждающего центральную нервную систему, а также почки.

При окислении глиоксала образуются глиоксидовая кислота $\text{CHO}-\text{COOH}$ и щавелевая кислота $\text{HOOC}-\text{COOH}$. Оба соединения относятся к дикарбонильным. Георге Могош утверждает, что из метаболитов этиленгликоля для центральной нервной системы наиболее токсична глиоксидовая кислота [14].

Основная масса глиоксала подвергается превращению в гликолевую кислоту. Это происходит в основном под действием глиоксалазы-1, наибольшая активность которой отмечена в цитоплазме клеток поджелудочной железы, легких, почек и головного мозга. Активность глиоксалазы-1 фетальных тканей в 3 раза выше, чем в тканях взрослого организма. Конверсия глиоксала в гликолевую кислоту происходит при участии восстановленного глутатиона. В условиях окислительного стресса, когда отмечается дефицит восстановленного глутатиона, в превращении глиоксала принимают участие альдегидредуктаза, карбонилредуктаза, альдегиддегидрогеназа и 2-оксоальдегиддегидрогеназа. Избыток глиоксала приводит к активации процессов свободнорадикального окисления и образованию формальдегида. Все это способствует повреждению клеточных мембран. Повреждающее действие глиоксала может быть уменьшено при использовании для его нейтрализации специальных «ловушек», к которым относятся D-пеницилламин, аминоксантидин, аргинин, цистеин и пиридоксалин. Подверженность гепатоцитов к токсическому действию глиоксала снижается

при наличии тиамин. Пока методы защиты с помощью перечисленных веществ не нашли применения в клинической практике. Разработка методов фармакологической детоксикации развивается в других направлениях [8, 10, 15].

Метилглиоксаль

Метилглиоксаль всегда продуцируется как побочный продукт анаэробного гликолиза. Образование его возрастает вместе с увеличением скорости гликолиза и количеством превращающейся глюкозы. Метилглиоксаль образуется в процессе неферментной деградации глицеральдегида-3-фосфата и дегидроксиацетона фосфата. Гликолиз поддерживает продукцию метилглиоксала на уровне 125 мкмоль/кг клеточной массы в сутки при условии нормогликемического состояния. Гипергликемия и активация анаэробного гликолиза при гипоксии определяют значительное увеличение образования метилглиоксала. В меньшей степени метилглиоксаль образуется в процессе окисления ацетона и других кетонных тел. Другими путями продукции метилглиоксала являются окисление аминокетона при превращении треонина, липидная пероксидация и метаболизм гликолизованных протеинов и моносахаридов. Концентрация метилглиоксала у здоровых добровольцев в плазме крови составляет 50–150 мкмоль/л, а внутриклеточная — 1–4 ммоль/л. Превышение этих концентраций ассоциируют с развитием дикарбонильного стресса. В физиологическом состоянии более 99 % метилглиоксала обезвреживаются ферментом глиоксалазой. Соответственно, значительно меньшее количество этого токсичного вещества подвергается превращению под действием альдокеторедуктазы и альдегиддегидрогеназы, в результате чего образуются гидроксиацетон и пировиноградная кислота. Глиоксалазная система включает действие глиоксалазы-1 и -2, которое катализируется восстановленным глутатионом. Конечным продуктом этого процесса является D-лактат. В процессе окислительного стресса концентрация восстановленного глутатиона снижается, темп инактивации метилглиоксала уменьшается, вследствие чего происходит накопление указанного токсического продукта. Таким образом, окислительный стресс тесно связан с дикарбонильным стрессом [8–10].

Глиоксалазная система защиты нейронов более уязвима, чем защита астроцитов. Внесенный в культуру нейронов в концентрациях 250–750 мкмоль/л метилглиоксаль наносит серьезный ущерб их жизнедеятельности, в то время как концентрация метилглиоксала, достигающая 1 ммоль/л, не влияет на целостность астроцитов и других глиальных клеток [9, 16]. Токсичность метилглиоксала обусловлена активной продукцией и накоплением конечных продуктов гликолизования, а также участием в механизмах окислительного стресса. Глутатионзависимые антиоксидантные процессы серьезно снижаются при культивации нейронных клеток с метилглиоксалем. Внесение антиокси-

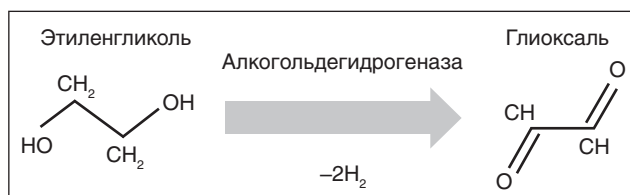


Рисунок 2

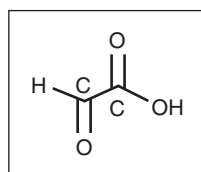


Рисунок 3.
Глиоксидовая кислота

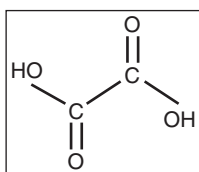


Рисунок 4.
Щавелевая кислота

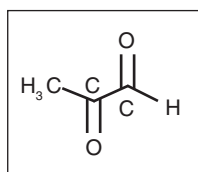


Рисунок 5.
Метилглиоксаль

данта и предшественника образования глутатиона N-ацетилцистеина предотвращает гибель нейронов при наличии метилглиоксаля [9, 17]. Увеличение скорости гликолиза снижает емкость глиоксалазной системы и способствует накоплению метилглиоксаля. Компенсация достигается посредством увеличения окисления глюкозы по пентозофосфатному пути, который участвует в регенерации восстановленного глутатиона посредством образования восстановительного эквивалента в форме восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФ) [9, 18, 19]. Активация пентозофосфатного пути окисления углеводов стимулируется метионином, вследствие чего увеличивается синтез НАДФ, что способствует превращению окисленного глутатиона в восстановленный. В печени происходит синтез восстановленного глутатиона с участием метионина. В настоящее время препараты, содержащие метионин, рассматриваются в качестве средства защиты от токсического действия метилглиоксаля при дикарбонильном стрессе [20–22].

Патофизиологические последствия дикарбонильного стресса

Агрессивные «медиаторы» дикарбонильного стресса, включая прежде всего глиоксаль и метилглиоксаль, образуются как побочный продукт гликолиза. Таким образом, высокий уровень глюкозы в крови и все ситуации, способствующие развитию гипергликемии (тяжелый стресс, гиперпродукция глюкокортикостероидов и катехоламинов, экзогенное их введение, повышение концентрации моносахаридов в крови в результате их поступления извне в составе растворов глюкозы и фруктозы, дефицит инсулина, гипоксия и др.), определяют усиленное накопление глиоксаля и метилглиоксаля. Основным механизмом повреждения заключается в гликолизировании протеинов и биологически активных субстанций полипептидного происхождения, в результате чего нарушаются их основные функции по обеспечению нормальной клеточной жизнедеятельности. Снижение функции глиоксалазной системы на фоне окислительного стресса ограничивает возможность естественной детоксикации. Вследствие этого формируются тяжелые нарушения обменных процессов, которые принимают участие в механизмах формирования болезни Альцгеймера и Паркинсона, сахарного диабета, эндотелиальной дисфункции, сосудистой дисфункции, нейродегенерации, хронической почечной недостаточности и старения [8, 10].

Для специалистов в области медицины критических состояний наиболее актуальным механизмом реализации карбонильного стресса является гипоксия. Гипоксия ассоциирована с усиленным высвобождением гормонов стресса, гипергликемией и активацией анаэробного гликолиза. Гипоксия не только способствует угнетению функции глиоксалазной системы, но и через накопление продуктов карбонильного стресса инициирует в организме системную воспалительную реакцию. В условиях дикарбонильного

стресса происходят усиление продукции и высвобождение медиаторов воспаления, что предопределяет формирование эндотелиальной и мультиорганной дисфункции [23–25]. Существуют данные о том, что повышение концентрации метилглиоксаля способствует усилению болевой импульсации [26].

Установлено, что метилглиоксаль индуцирует формирование митохондриальной дисфункции. Отмечены увеличение образования супероксидного аниона, радикала оксида азота и истощение запасов восстановленного глутатиона при внесении в культуры клеток метилглиоксаля. При этом возрастает активность ферментов (аминотрансфераз) как один из маркеров мембранного повреждения и цитолиза. При наличии метилглиоксаля патологически возрастает проницаемость митохондриальных мембран, вследствие чего снижается энергопродукция. Выявлено, что метилглиоксаль угнетает активность III митохондриального дыхательного комплекса, переносащего электроны с убихинона на цитохромы. Вызванный метилглиоксалем клеточный апоптоз блокируется при наличии циклоспорина А, который препятствует увеличению мембранной проницаемости [27–29].

При критических состояниях концентрация дикарбонильных соединений в клетках возрастает вместе с уровнем гипергликемии. Отмечено угнетение активности митохондриальных дыхательных ферментов в условиях экспериментальной ожоговой болезни на 25–62 % при стойком повышении уровня глюкозы в крови [30].

Хроническая инфузия глиоксаля и метилглиоксаля подопытным животным приводит к развитию у них сахарного диабета 2-го типа. В культуре бета-клеток поджелудочной железы были выявлены снижение продукции аденозинтрифосфата, потребления кислорода и активация процессов апоптоза при инкубации с метилглиоксалем [31].

Перспективы коррекции

Направления коррекции очевидны, поскольку определяются необходимостью устранения гипоксии любого происхождения, что подразумевает:

- оптимизацию функции внешнего дыхания и ее протезирование в случаях неэффективности с дополнительным использованием кислорода;
- поддержание эффективного сердечного выброса и перфузионного давления вместе с мероприятиями, направленными на увеличение количества функционирующих капилляров и улучшение реологии крови;
- обеспечение эффективной кислородной емкости крови вместе с профилактикой образования патологических форм гемоглобина;
- применение препаратов, способствующих улучшению функции тканевого дыхания.

Немаловажным аспектом является мониторинг уровня гликемии с проведением ее жесткой коррекции для достижения нормогликемического состояния. Возможны длительные дискуссии при оказании помощи пациентам, нуждающимся в по-

вышенном энергетическом обеспечении, которое ассоциировано с применением большого количества углеводов.

Интенсивная терапия должна включать мероприятия по поддержанию достаточной мощности антиоксидательной системы организма, что предполагает применение препаратов, способствующих увеличению пула восстановленного глутатиона, который называют «матерью всех антиоксидантов». Увеличению синтеза глутатиона способствует включение в схемы лечения N-ацетилцистеина, липоевой кислоты. Рециркуляции глутатиона способствуют препараты селена, фолиевая кислота, особенно в активной форме 5-метилтетрагидрофолата, а также активные формы витаминов B₆ и B₁₂ — пиридоксальфосфат и метилкобаламин. Альфа-токоферол и витамин С не только «работают» совместно с восстановленным глутатионом, но и значительно снижают его расходование в процессе реализации антиоксидантной защиты. Такими же свойствами обладают некоторые флавоноиды, например силибинин [32, 33]. Применение флавоноидов способствует уменьшению гликолизации и препятствует формированию митохондриальной дисфункции. Отмечено снижение содержания конечных продуктов гликолизирования при использовании в качестве «ловушек» для глиоксаля (50,5 %) и метилглиоксаля (80,1 %) флавоноида кверцетина. Проявления митохондриальной дисфункции и апоптоза уменьшались при наличии катехина [34, 35]. В исследовании М. Хуе (2016) у 32 пациентов с ожирением, находящихся на обогащенной углеводами диете, было установлено, что применение фитоалексина ресвератрола и флавоноида гесперидина обеспечивало повышение на 22 % активности глиоксалазы-1, снижало уровень гликемии, концентрацию метилглиоксаля в плазме на 37 % и имело преимущество перед применением метформина [36].

Еще одним путем профилактики развития карбонильного и окислительного стресса, как указывалось выше, является применение метионина. Для защиты важен не только сам метионин, но и его метаболит S-аденозилметионин, который синтезируется из фолата, метионина и витамина B₁₂. S-аденозилметионин предоставляет большое количество метильных групп для фосфатидилэтанолламин-N-метилтрансферазы, поставляющей фосфатидилхолин для построения клеточных мембран. Образовавшийся при этом S-аденозилгомоцистеин через цепь реакций гидролиза и трансметилирования вновь превращается в метионин или с участием пиридоксальфосфата используется для образования глутатиона. Стимуляция метионином пентозофосфатного пути окисления углеводов способствует накоплению восстановленного глутатиона [20, 21, 37].

В работе Р.В. LiPun (2014), построенной на изучении митохондриальных обменных процессов с помощью масс-спектрометрии, было установлено, что на фоне дикарбонильного стресса потенциал

митохондриальной мембраны возрастал после введения в среду сукцината и ожидаемо снижался при использовании разбавляющего окислительное фосфорилирование карбонилцианида [38]. Таким образом, определенную перспективу в профилактике дикарбонильного стресса представляет новый кристаллоидный раствор для инфузионной терапии, в состав которого включены сукцинат, метионин и одно из аденозиновых производных — инозин. Наш начальный опыт его клинического применения включает в основном позитивные результаты при оказании помощи пациентам с синдромом мультиорганной дисфункции.

Обсуждение

В практике специалистов по интенсивной терапии потенциально существует значительное количество случаев, когда интенсификация образования токсичных дикарбонильных метаболитов может серьезно повлиять на развитие критических состояний и исход заболевания. Все состояния, характеризующиеся развитием гипоксии, а значит, активацией процессов анаэробного гликолиза, могут быть ассоциированы с усиленной продукцией глиоксаля и метилглиоксаля. Нарушению обменных процессов, безусловно, способствуют развитие стрессовой гипергликемии в ответ на усиленный выброс контринсулярных гормонов и активацию катаболических процессов, множество мероприятий интенсивной терапии, таких как терапия глюкокортикостероидами, продолжительные непрерывные инфузии симпатомиметиков, парентеральное и энтеральное питание с включением большого количества глюкозы, применение несбалансированных аминокислотных растворов, препаратов со свойствами прооксидантов, разбавителей окислительного фосфорилирования. Пока последствия накопления токсических метаболитов дикарбонильного стресса в клинической практике недостаточно изучены. Поэтому в каждом конкретном случае трудно будет дать адекватную прогностическую оценку. Для прояснения вопроса об определении тяжести дикарбонильного стресса и ее связи с последующими клиническими вариантами течения заболеваний необходимы дальнейшие исследования.

Выводы

Открывающаяся проблема повреждения организма в условиях дикарбонильного стресса диктует необходимость анализа и переоценки множества мероприятий интенсивной терапии. Детальное изучение особенностей углеводного обмена при различных критических состояниях, включая определение концентрации глиоксаля и метилглиоксаля, мониторинг уровня гликемии и клиренса лактата в сочетании с возвращением к оцениванию состояния компенсации функции прооксидантной/антиоксидантной системы организма, представляет одно из перспективных направлений предстоящих научных исследований в клинике. Специалисты по

интенсивной терапии ежедневно сталкиваются с ситуациями, когда дикарбонильный стресс может выступать в качестве одного из действительных механизмов формирования органной, мультиорганной дисфункции и предопределять развитие декомпенсации жизненно важных функций. Научиться противостоять ему — актуальная ближайшая задача.

Конфликт интересов. Авторы статьи заявляют об отсутствии какого-либо конфликта интересов при подготовке данной статьи.

Список литературы

1. Lukyanova L.D., Kirova Y.I. Mitochondria-Controlled Signaling Mechanisms of Brain Protection in Hypoxia [Electronic resource] / L.D. Lukyanova, Y.I. Kirova // *Frontiers in Neuroscience*. — 2015. — Vol. 9. — Article 320. — Access mode: <https://pdfs.semanticscholar.org/afa0/4188911b94b9561da7f741a0c2c36d24e98c.pdf> (last access: 24.03.17).
2. Wheaton W.W., Chandel N.S. Hypoxia 2: Hypoxia Regulates Cellular Metabolism / W.W. Wheaton, N.S. Chandel // *American Journal of Physiology: Cell Physiology*. — 2011. — Vol. 300, № 3. — С. 385-393.
3. Solaina G., Baracca A., Lenaz G. et al. Hypoxia and Mitochondrial Oxidative Metabolism / G. Solaina, A. Baracca, G. Lenaz et al. // *Biochimica et Biophysica Acta Bioenergetics*. — 2010. — Vol. 1797, № 6-7. — P. 1171-1177.
4. Takagi H., Murase Y., Minami T. et al. Lactate Production and Clearance during High Intensity Swimming Test in Elite Water-Polo Players / H. Takagi, Y. Murase, T. Minami et al. // *Bulletin of Faculty of Health and Sport Sciences*. — 2013. — Vol. 36, № 1. — P. 77-84.
5. Melchiorri G., Castagna C., Sorge R. et al. Game Activity and Blood Lactate in Men's Elite Water-Polo Players / G. Melchiorri, C. Castagna, R. Sorge et al. // *The Journal of Strength & Conditioning Research*. — 2010. — Vol. 24, № 10. — P. 2647-2651.
6. Rapoport B.I. Metabolic Factors Limiting Performance in Marathon Runners [Electronic resource] / B.I. Rapoport // *PLoS One; Computational Biology*. — 2010. — Vol. 6, № 10. — e1000960. — Access mode: <http://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1000960> (last access: 24.03.17).
7. Van Bussel B.C.T., van der Poll M.C.G., Schalkwijk C.G. et al. Increased Dicarbonyl Stress as a Novel Mechanism of Multi-Organ Failure in Critical Illness / B.C.T. van Bussel, M.C.G. van der Poll, C.G. Schalkwijk et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2017. — Vol. 18. — P. 346.
8. Nigro C., Leone A., Raciti G.A. et al. Methylglyoxal-Glyoxalase 1 Balance: The Root of Vascular Damage / C. Nigro, A. Leone, G.A. Raciti et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2017. — Vol. 18. — P. 188.
9. Allaman I., Belanger M., Magistretti P.J. Methylglyoxal, the Dark Side of Glycolysis [Electronic resource] / I. Allaman, M. Belanger, P.J. Magistretti // *Frontiers in Neuroscience*. — 2015. — Vol. 9. — P. 23. — Access mode: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4321437/> (last access: 24.03.17).
10. Rabbani N., Thornalley P.J. Dicarbonyl Stress in Cell and Tissue Dysfunction Contributing to Ageing and Disease / N. Rabbani, P.J. Thornalley // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. — 2015. — Vol. 458, № 2. — P. 221-226.
11. Meertens J.H., Nienhuis H.L., Lefrandt J.D. et al. The Course of Skin and Serum Biomarkers of Advanced Glycation End-products and Its Association with Oxidative Stress, Inflammation, Disease Severity, and Mortality during ICU Admission in Critically Ill Patients: Results from a Prospective Pilot Study [Electronic resource] / J.H. Meertens, H.L. Nienhuis, J.D. Lefrandt et al. // *PLoS One*. — 2016. — Vol. 11, № 8. — e0160893. — Access mode: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27529340> (last access: 31.03.17).
12. Vincent J.L., de Mendonca A., Cantraine F. et al. Use of the SOFA Score to Assess the Incidence of Organ Dysfunction/Failure in Intensive Care Units: Results of a Multicenter, Prospective Study. Working Group on «Sepsis-Related Problems» of the European Society of Intensive Care Medicine / J.L. Vincent, A. de Mendonca, F. Cantraine et al. // *Critical Care Medicine*. — 1998. — Vol. 26. — P. 1793-1800.
13. Kawaguchi M., Shibata N., Horiuchi S. et al. Glyoxal Inactivates Glutamate Transporter-1 in Cultured Rat Astrocytes / M. Kawaguchi, N. Shibata, S. Shibata et al. // *Neuropathology*. — 2005. — Vol. 25, № 1. — P. 27-36.
14. Могош Г. Острые отравления. Диагноз. Лечение: Пер. с рум. / Г. Могош — Бухарест: Медицинское издательство, 1984. — С. 452-453.
15. Lange J.N., Wood K.D., Knight J. et al. Glyoxal Formation and Its Role in Endogenous Oxalate Synthesis [Electronic resource] / J.N. Lange, K.D. Wood, J. Knight et al. // *Hindawi Publishing Corporation; Advances in Urology*. — 2012. — Vol. 2012. — ID 819202. — Access mode: [doi:10.1155/2012/819202](https://doi.org/10.1155/2012/819202) (last access: 28.03.17).
16. Hansen F., de Souza D.F., Silveira Sda L. et al. Methylglyoxal Alters Glucose Metabolism and Increases AGEs Content in C6 Glioma Cells / F. Hansen, D.F. de Souza, L. Silveira Sda et al. // *Metabolic Brain Disease*. — 2012. — Vol. 27, № 4. — P. 531-539.
17. Di Loreto S., Zimmiti V., Sebastiani P. et al. Methylglyoxal Causes Strong Weakening of Detoxifying Capacity and Apoptotic Cell Death in Rat Hippocampal Neurons / S. Di Loreto, V. Zimmiti, P. Sebastiani et al. // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. — 2008. — Vol. 40, № 2. — P. 245-257.
18. Bélanger M., Yang J., Petit J.M. et al. System in Astrocyte-Mediated Neuroprotection / M. Belanger, J. Yang, J.M. Petit et al. // *Journal of Neuroscience*. — 2011. — Vol. 31, № 50. — P. 18338-18352.
19. Herrero-Mendez A., Almeida A., Fernández E. et al. The Bioenergetic and Antioxidant Status of Neurons Is Controlled by Continuous Degradation of a Key Glycolytic Enzyme by APC/C-Cdh1 / A. Herrero-Mendez, A. Almeida, E. Fernandez et al. // *Nature Cell Biology*. — 2009. — Vol. 11, № 6. — P. 747-752.
20. Campbell K., Vowinckel J., Keller M.A. et al. Methionine Metabolism Alters Oxidative Stress Resistance via the Pentose Phosphate Pathway / K. Campbell, J. Vowinckel, M.A. Keller et al. // *Antioxidants & Redox Signaling*. — 2016. — Vol. 24, № 10. — P. 543-547.
21. Luo S., Levine R.L. Methionine in Proteins Defends against Oxidative Stress / S. Luo, R.L. Levine // *The FASEB Journal*. — 2009. — Vol. 23, № 2. — P. 464-472.
22. Bianchi G., Brizi M., Rossi B. et al. Synthesis of Glutathione in Response to Methionine Load in Control Subjects and in Patients with Cirrhosis / G. Bianchi, M. Brizi, B. Rossi et al. // *Metabolism*. — 2000. — Vol. 49, № 11. — P. 1434-1439.

23. Rabbani N., Xue M., Thornalley P.J. Methylglyoxal-Induced Dicarbonyl Stress in Aging and Disease: First steps towards Glyoxalase 1-Based Treatments / N. Rabbani, M. Xue, P.J. Thornalley // *Clinical Science*. — 2016. — Vol. 130, № 19. — P. 1677-1696.
24. Celec P., Jurkovičová I., Buchta R. et al. Antioxidant Vitamins Prevent Oxidative and Carbonyl Stress in an Animal Model of Obstructive Sleep Apnea / P. Celec, I. Jurkovicova, R. Buchta et al. // *Sleep and Breathing*. — 2013. — Vol. 17, № 2. — P. 867-871.
25. Xiao H., Gu Z., Wang G. et al. The Possible Mechanisms Underlying the Impairment of HIF-1 α Pathway Signaling in Hyperglycemia and the Beneficial Effects of Certain Therapies / H. Xiao, Z. Gu, G. Wang et al. // *International Journal of Medical Sciences*. — 2013. — Vol. 10, № 10. — P. 1412-1421.
26. Andersson D.A., Gentry C., Light E. et al. Methylglyoxal Evokes Pain by Stimulating TRPA1 [Electronic resource] / D.A. Andersson, C. Gentry, E. Light et al. // *PLoS One*. — 2013. — Vol. 8, № 10. — e77986. — Access mode: doi: 10.1371/journal.pone.0077986 (last access: 31.03.17).
27. Seo K., Ki S.H., Shin S.M. Methylglyoxal Induces Mitochondrial Dysfunction and Cell Death in Liver / K. Seo, S.H. Ki, S.M. Shin // *Toxicology Research*. — 2014. — Vol. 30, № 3. — P. 193-198.
28. Suh K.S., Choi E.M., Rhee S.Y. et al. Methylglyoxal Induces Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Osteoblastic MC3T3-E1 Cells [Electronic resource] / K.S. Suh, E.M. Choi, S.Y. Rhee et al. // *Free Radical Research*. — 2014. — Vol. 48, № 2. — P. 206-217. — Access mode: <http://dx.doi.org/10.3109/10715762.2013.859387> (last access: 31.03.17).
29. Wang H., Liu J., Wu L. Methylglyoxal-Induced Mitochondrial Dysfunction in Vascular Smooth Muscle Cells / H. Wang, J. Liu, L. Wu // *Biochemical Pharmacology*. — 2009. — Vol. 77, № 11. — P. 1709-1716.
30. Vanhorebeek I., Ellger B., De Vos R. et al. Tissue-Specific Glucose Toxicity Induces Mitochondrial Damage in a Burn Injury Model of Critical Illness / I. Vanhorebeek, B. Ellger, R. de Vos et al. // *Critical Care Medicine*. — 2009. — Vol. 37, № 4. — P. 1355-1364.
31. Chang T.J., Tseng H.C., Liu M.W. et al. Glucagon-Like Peptide-1 Prevents Methylglyoxal-Induced Apoptosis of Beta Cells through Improving Mitochondrial Function and Suppressing Prolonged AMPK Activation [Electronic resource] / T.J. Chang, H.C. Tseng, M.W. Liu et al. // *Scientific Reports*. — 2016. — Vol. 6. — Article 23403. — Access mode: <http://www.nature.com/articles/srep23403> (last access: 31.03.17).
32. Hyman M. Glutathione: The Mother of All Antioxidants [Electronic resource] / M. Hyman // *The Huffington Post*. — Access mode: http://www.huffingtonpost.com/dr-mark-hyman/glutathione-the-mother-of_b_530494.html (last access: 31.03.17).
33. Ezhilarasan D., Karthikeyan S. Silibinin Alleviates Nitrosodimethylamine-Induced Glutathione Dysregulation and Hepatotoxicity in Rats / D. Ezhilarasan, S. Karthikeyan // *Chinese Journal of Natural Medicine*. — 2016. — Vol. 14, № 1. — P. 40-47.
34. Li X., Zheng T., Sang S. et al. Quercetin Inhibits Advanced Glycation End Product Formation by Trapping Methylglyoxal and Glyoxal / X. Li, T. Zheng, S. Sang [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. — 2014. — Vol. 62, № 50. — P. 12152-12158.
35. Zhang T., Mu Y., Yang M. et al. Catechin Prevents Methylglyoxal-Induced Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis in EA.hy926 Cells / T. Zhang, Y. Mu, M. Yang et al. // *Archives of Physiology and Biochemistry*. — 2016. — Vol. 123, № 2. — P. 121-127.
36. Xue M., Weickert M.O., Qureshi S.A. et al. Improved Glycemic Control and Vascular Function in Overweight and Obese Subjects by Glyoxalase 1 Inducer Formulation [Electronic resource] / M.Xue, M.O.Weickert, S.A.Qureshi [et al.] // *Diabetes; The University of Warwick*. — Access mode: http://wrap.warwick.ac.uk/79041/3/WRAP_Thornalley_0670584-mv-120516-db16-0153.full.pdf (last access: 31.03.17).
37. Lambert E. Glucose Metabolism: Glycation and Methylation [Electronic resource] / E. Lambert // *Realize Health*. — Access mode: <https://www.realizehealth.com.au/2015/08/18/glucose-metabolism-glycation-and-methylation/> (last access: 31.03.17).
38. Li Pun P.B., Logan A., Darley-USmar V. et al. A Mitochondria-Targeted Mass Spectrometry Probe to Detect Glyoxals: Implications for Diabetes / P.B. Li Pun, A. Logan, V. Darley-USmar et al. // *Free Radical Biology and Medicine*. — 2014. — Vol. 67, № 100. — P. 437-450.

Получено 27.03.2017 ■

Ніконов В.В., Курсов С.В., Білецький О.В.
Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна

Дикарбонільний стрес: гіпотеза клітинного пошкодження в умовах гіпоксії. Пусковий механізм розвитку мультиорганної дисфункції

Резюме. *Актуальність.* Різноманітні критичні стани організму часто асоційовані з розвитком гіпоксії, у результаті чого активуються механізми гліколізу, під впливом звільнення стресових гормонів розвивається гіперглікемія. Показано, що в умовах анаеробного гліколізу на тлі гіперглікемії в клітинах продукуються токсичні речовини, що викликають гліколізування протеїнів та нуклеїнових кислот. Разом із порушенням функції клітинних білків виникає мітохондріальна дисфункція, що призводить до енергетичного дефіциту та порушення функціонування органів. **Мета дослідження:** виявити провідні механізми дикарбонільного стресу, їх значення для формування критичних станів організму та визначити найбільш перспек-

тивні способи корекції для фахівців у галузі інтенсивної терапії. **Матеріали та методи.** Детальне вивчення результатів сучасних наукових досліджень процесів вуглеводного обміну при патологічних станах на підставі інформації, поданої в Інтернеті. **Результати.** Провідна роль у пошкодженні клітинних структур організму при дикарбонільному стресі належить гліоксалу та метилгліоксалу. Ці хімічні сполуки утворюються як побічні продукти анаеробного гліколізу. Збільшенню їх синтезу сприяють активація анаеробного гліколізу та гіперглікемія. Дикарбонільні сполуки вступають у хімічні реакції з амініними групами протеїнів, нуклеїнових кислот та інших біологічно активних сполук, порушуючи їх функціонування. Природна деток-

сикація здійснюється гліоксалазною системою за участю відновленого глутатіону, що є основним компонентом антиоксидантної системи. Прогресування окислювального стресу та поява антиоксидантного дефіциту зумовлюють збільшення тяжкості пошкоджень, що викликає підвищене утворення гліоксалу та метилгліоксалу. Профілактика дикарбонільного стресу здійснюється за допомогою збільшення потужності антиоксидантної системи, насамперед за рахунок зростання утворення відновленого глутатіону. Для нейтралізації токсичних дикарбонільних метаболітів можуть бути використані препарати, що виконують функцію «пасток». Перспективне застосування терапії, що спрямована на усунення мітохондріальної дисфункції.

Висновки. Нова проблема пошкодження організму в умовах дикарбонільного стресу диктує необхідність аналізу та переоцінки численної кількості заходів інтенсивної тера-

пії. Докладне вивчення особливостей вуглеводного обміну при різних критичних станах, включаючи визначення концентрації гліоксалу та метилгліоксалу, моніторинг рівня глікемії та кліренсу лактату в поєднанні з поверненням до оцінювання стану компенсації функції прооксидантної/антиоксидантної системи організму, є одним із перспективних напрямів наукових досліджень у клініці, що має розпочатися. Фахівці з інтенсивної терапії щоденно стикаються із ситуаціями, коли дикарбонільний стрес може виступати як один із дійсних механізмів формування органної та мультиорганної дисфункції й визначає розвиток декомпенсації життєво важливих функцій. Навчитися протистояти йому є актуальною найближчою задачею.

Ключові слова: дикарбонільний стрес; анаеробний гліколіз; гліоксаль; метилгліоксаль; глутатіон; антиоксидантна система; мітохондріальна дисфункція

V.V. Nikonov, S.V. Kursov, O.V. Biletskiy
Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine

Dicarbonyl stress: the hypothesis of cell damage in conditions of hypoxia. The trigger mechanism for the development of multiorgan dysfunction

Abstract. Background. Various critical states of the body are often associated with the development of hypoxia, as a result of which the mechanisms of glycolysis are activated, under the influence of stress hormone release, hyperglycemia develops. It is shown that under the conditions of anaerobic glycolysis against a background of hyperglycemia, toxic compounds are produced in the cells, which cause the glycosylation of proteins and nucleic acids. Together with the violation of the cellular protein function, mitochondrial dysfunction develops, which leads to an energy deficiency and organ dysfunction. The aim of investigation was to identify the main mechanisms of dicarbonyl stress, their importance for the formation of critical states of the organism and determine the most promising methods of correction for specialists in the field of intensive care. **Materials and methods.** Detailed study of the results of modern scientific researches on the processes of carbohydrate metabolism in pathological conditions based on information provided on the Internet. **Results.** The leading role in the damage to the cellular structures of the body under dicarbonyl stress belongs to glyoxal and methylglyoxal. These substances are formed as by-products of anaerobic glycolysis. Increase in their synthesis is promoted by activation of anaerobic glycolysis and hyperglycemia. Dicarbonyl compounds enter into chemical reactions with amino groups of proteins, nucleic acids and other biologically active compounds, disrupting their functioning. Natural detoxification is carried out by the glyoxalase system with the participation of reduced glutathione, which is the main compo-

nent of the antioxidant system. The increase in oxidative stress and the appearance of antioxidant deficiency cause an increase in the severity of lesions associated with increased production of glyoxal and methylglyoxal. Prevention of dicarbonyl stress is achieved by increasing the power of the antioxidant system, primarily by increasing the production of reduced glutathione. To neutralize toxic dicarbonyl metabolites, drugs that perform the function of “traps” can be used. The use of therapy aimed at eliminating mitochondrial dysfunction is promising. **Conclusions.** The emerging problem of damage to the body in conditions of dicarbonyl stress dictates the need for the analysis and reassessment of a variety of intensive care interventions. A detailed study of the characteristics of carbohydrate metabolism in various critical states, including determination of glyoxal and methylglyoxal concentration, monitoring the level of glycemia and clearance of lactate, together with a return to assessing the state of compensation of the prooxidant/antioxidant system of the body, is one of the promising directions for upcoming scientific research in the clinic. Specialists in intensive care face daily situations where dicarbonyl stress can act as one of the real mechanisms for the formation of organ, multi-organ dysfunction and predetermine the development of decompensation of vital functions. Learning to resist him is the actual immediate task.

Keywords: dicarbonyl stress; anaerobic glycolysis; glyoxal; methylglyoxal; glutathione; antioxidant system; mitochondrial dysfunction

Молекулярный стресс и хронические нарушения обмена веществ

Э.А. Юрьева¹, Н.Н. Новикова², В.В. Длин¹, Е.С. Воздвиженская¹¹ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;²НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

Molecular stress and chronic metabolic disorders

E.A. Yurieva¹, N.N. Novikova², V.V. Dlin¹, E.S. Vozdvizhenskaya¹¹Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;²Kurchatov Institute, Moscow, Russia

Стрессы возникают в ответ на различные внешние и внутренние воздействия на организм. В секундо-минутный отрезок времени все ответные реакции организма переходят через изменение обменных процессов в развитие метаболических стрессов. Из них наиболее часто в литературе обсуждаются окислительный, нитрозативный и карбонильный стрессы, характеризующиеся накоплением в клетках и внеклеточной жидкости свободных радикалов и других активных форм кислорода, а также активных карбонильных соединений. Эти активные (сигнальные) молекулы являются мощными неспецифическими модификаторами структуры и функции белков, липидов, углеводов, вмешиваются в биоэнергетику. Активные сигнальные молекулы в небольших дозах необходимы для адаптивных реакций организма, вызывают торможение нарушений метаболизма, особенно белков, однако при избыточном накоплении приводят к патологическим процессам с выраженной модификацией белков с развитием сердечно-сосудистых, нейродегенеративных, аутоиммунных, соединительнотканых болезней и рака. Обсуждаются возможные меры защиты и профилактики от метаболических стрессов.

Ключевые слова: дети, метаболический стресс, сигнальные молекулы, модификация белков, хронизация патологии.

Для цитирования: Юрьева Э.А., Новикова Н.Н., Длин В.В., Воздвиженская Е.С. Молекулярный стресс и хронические нарушения обмена веществ. Рос вестн перинатол и педиатр 2020; 65:(5): 12–22. DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-5-12-22

Stress is the response of the organism to various external and internal events. All response reactions change from metabolic processes to metabolic stresses in minutes or even seconds. The scientists most often discuss oxidative, nitrosative and carbonyl stresses which are characterized by the accumulation of free radicals and other reactive oxygen species, as well as active carbonyl compounds, in the cells and extracellular fluid. These active (signal) molecules are powerful nonspecific modifiers of the structure and function of proteins, lipids, carbohydrates, and they interfere with bioenergetics. Small doses of active signal molecules are necessary for adaptive reactions of the body, they inhibit metabolic disorders, especially protein disorders, but their excessive accumulation causes pathological processes with pronounced modification of proteins and cardiovascular, neurodegenerative, autoimmune, connective tissue diseases and cancer. The authors discuss possible protection and prevention measures of metabolic stress.

Key words: children, metabolic stress, signal molecules, protein modification, chronicity of pathology.

For citation: Yurieva E.A., Novikova N.N., Dlin V.V., Vozdvizhenskaya E.S. Molecular stress and chronic metabolic disorders. Ros Vestn Perinatol i PEDIATR 2020; 65:(5): 12–22 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-5-12-22

По определению Г. Селье, стресс есть неспецифический ответ организма на любое предъявляемое воздействие, вызывающее неспецифическую потребность осуществлять приспособительные функции («бороться или бежать») [1–3]. При стрессе, наряду с адаптацией к сильным раздражителям, име-

ются элементы не только активации (напряжения) различных функций, но и повреждения структуры и функций как регуляторных систем, тканей и органов, так и клеток и их молекулярных компонентов. Увеличивается объем коркового вещества надпочечников, уменьшаются вилочковая железа, селезенка и лимфатические узлы, нарушается обмен веществ, а также изменяется состав крови: отмечаются лейкоцитоз, лимфопения, эозинопения, меняется структура и функции гемоглобина, альбумина, повышается содержание продуктов стрессового катаболизма белков (средние молекулы) и т.д. [1–4]. Стресс на уровне организма быстро (секунды) переходит в «метаболический, молекулярный», при котором образуются высокорекреационноспособные сигнальные агенты, в малых дозах вызывающие защитные реакции и становящиеся токсичными в больших дозах [1–4]. В результате значительного усиления окислительных процессов (окислительный стресс) в крови накапливаются сигнальные, биологически

© Коллектив авторов, 2020

Адрес для корреспонденции: Юрьева Элеонора Александровна – д.м.н., проф., гл. науч. сотр. лаборатории клинической геномики и биоинформатики Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID: 0000-0001-6062-8535

Длин Владимир Викторович – д.м.н., проф., и.о. дир. Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID: 0000-0002-3050-7748

Воздвиженская Екатерина Сергеевна – к.б.н., биолог лаборатории клинической патологии Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID: 0000-0002-6420-7858
125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Новикова Наталья Николаевна – д.физ.-мат.н., рук. лаборатории рентгеновских исследований Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»

123182 Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1

активные низкомолекулярные соединения, обуславливающие модификацию липидов, углеводов, белков, рецепторов, гормонов, митохондрий, нуклеиновых кислот и даже генома [4–7].

Окислительный стресс. Это понятие используется для обозначения ситуации, в которой увеличивается продукция свободных радикалов и других активных форм кислорода с нарушением баланса прооксиданты/антиоксиданты в пользу первых [1–3] с выраженным увеличением продукции активных форм кислорода и снижением антиоксидантных функций. Активные формы кислорода образуются в результате неблагоприятных (стрессорных) ситуаций: попадание в организм чужеродных ксенобиотиков, действие ультрафиолетовой или ионизирующей радиации, влияние стрессорной активации окислительных ферментов (ксантиноксидаза, НАДН-оксидаза, пероксисомальные оксидазы, цитохром P450) и др. [4]. Образующиеся как продукт аэробного метаболизма в норме в небольших количествах активные формы кислорода необходимы для различных физиологических процессов в клетке [5–8]. Напротив, их избыточная продукция оказывает вредное действие на здоровье, повреждая структуру и функции клеток, особенно при дефиците антиоксидантов [1, 9]. Степень повреждающего действия зависит от типа оксиданта, объема и интенсивности продукции свободных радикалов, качества и активности антиоксидантов и способности других систем адаптации к стрессу.

Термином «активные формы кислорода» обозначают все нестабильные метаболиты молекулярного кислорода, у которых отмечается более высокая активность по сравнению с O_2 : супероксидный радикал (O_2^-) и гидроксильный радикал (OH^-) и нерадикальные молекулы, такие как перекись водорода (H_2O_2). В норме O_2 способствует образованию АТФ в митохондриях через серию процессов окислительного фосфорилирования. В дыхательной цепи митохондрий используется 85% кислорода, попадающего в клетку [4, 5], но только 1–2% кислорода восстанавливается в норме с образованием первичного радикала – супероксидного аниона, который быстро преобразуется под действием супероксиддисмутазы в перекись водорода, в отличие от окислительного стресса, при котором избыток свободных радикалов преобразуется в активные формы кислорода [4, 5]. Повышению продукции активных форм кислорода при стрессе способствует активация выброса катехоламинов, что сочетается с периферической вазоконстрикцией, тканевой гипоксией и количественными изменениями клеток крови: появляются эритроцитоз, лейкоцитоз, нейтрофилия [8]. После 5–30-минутной гипоксии, обуславливающей нарушения структуры мембран митохондрий, наступает реперфузия (реоксигенация) с увеличением притока кислорода, который не может использоваться изме-

ненной дыхательной цепью митохондрий, а увеличивает образование активных форм кислорода в митохондриях и цитозоле клеток.

Свободнорадикальное окисление при патологических состояниях приобретает аутоокислительный характер с повреждением компонентов митохондрий, усиленно продуцирующих активные формы кислорода, нарушая их дыхательную функцию и энергетический статус клетки, способствуя снижению митохондриального мембранного потенциала и уровня АТФ. Этот процесс сопровождается истощением антиоксидантных защитных систем, повреждением клеток и тканей [5]. Происходят повреждение ядерной и митохондриальной ДНК и белков клетки, пероксидация липидов клеточных мембран, вход кальция в цитозоль, отек митохондрий и лизосом [10].

С накоплением активных форм кислорода нарушается их физиологическое действие, а именно: регуляция функции цитокинов, инсулина, факторов роста; сигнализация трансляционного нуклеарного фактора NF-κB; влияние на апоптоз, обусловленный цитохромом-С; влияние на постпрандиальную модификацию генов [11]. С повышением в организме количества активных форм кислорода увеличивается риск соматических мутаций [5], развиваются различные хронические обменные болезни (табл. 1). При этом одним из информативных маркеров стресса служит пероксидация полиненасыщенных жирных кислот с накоплением малонового диальдегида, а ненасыщенные альдегиды – продукты этих реакций – включаются в модификацию клеточных белков и других компонентов. Переокисленные липиды могут образовывать пероксидные радикалы, а также активированный (синглетный) кислород [10].

Среди метаболических заболеваний, сочетающихся с окислительным стрессом, наибольшее внимание привлечено к сердечно-сосудистым болезням (атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия), болезням центральной нервной системы (болезнь Паркинсона, Альцгеймера), почек, дисфункции эндокринных органов, аутоиммунным, хроническим воспалительным болезням, различным опухолям [5]. Оксидативное повреждение свободными радикалами, приводящее к модификации белков и в конечном счете к повреждению клеток, лежит в основе патогенеза заболеваний. Большое значение в этих условиях имеет клеточный уровень и равновесие между прооксидантами и антиоксидантами. Прооксиданты (эндо-или ксенобиотические) вовлекаются в развитие окислительного стресса либо через генерацию активных форм кислорода, либо через истощение антиоксидантной системы и подразделяются на несколько категорий [5, 12, 13] (табл. 2).

В соответствии с мощностью воздействия окислительного стресса в организме функционирует и система антиоксидантной защиты, обеспечива-

ющая адаптацию к окислительному стрессу [13]. Система антиоксидантной защиты включает ферментативные (первичные) и неферментативные (мусорщики, или скавенджеры, активных форм кислорода) компоненты. К антиоксидантным ферментам

относятся супероксиддисмутаза, каталаза и некоторые редуктазы, обеспечивающие превращение активных форм кислорода в стабильные молекулы – кислород и воду [14, 15]. Активность данных ферментов истощается по мере нарастания силы и длительности

Таблица 1. Жизнеугрожающие болезни, имеющие высокую степень положительной корреляции с окислительным стрессом [5]
Table 1. Life threatening diseases with a high degree of positive correlation with oxidative stress [5]

Болезнь	Вовлеченные органы	Этиологические факторы
Макулярная дегенерация	Глаза	Реактивные кислородные метаболиты
Сахарный диабет	Многие органы	Дефицит супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы
Синдром хронической усталости	Многие органы	C-реактивный белок
Атеросклероз	Сосуды крови	Дефицит NADPH-оксидазной системы
Аутоиммунные болезни (системная красная волчанка)	Иммунная система	Окислительная модификация рибонуклеопротеина 60 kDa
Нейродегенеративные болезни	Мозг	Активные формы кислорода (болезни Альцгеймера, Паркинсона)
Бронхиальная астма	Легкие	Активные формы кислорода, в частности H ₂ O ₂
Ревматоидный артрит	Суставы	Свободные радикалы кислорода
Нефриты	Почки	Глутатионтрансфераза-каппа (GSTK1-1)
Меланома	Кожа	Повреждение ДНК и липидная пероксидация
Инфаркт миокарда	Сердце	Свободные радикалы кислорода, активные формы кислорода

Таблица 2. Проксиданты и механизм их влияния на окислительный стресс [5]
Table 2. Prooxidants and the mechanism of their effect on oxidative stress

Класс прооксидантов	Пример	Механизм
Лекарства	Анальгетики (парацетомол) Антиканцерогены (метотрексат)	Синтез активных форм кислорода приводит к изменениям макромолекул, которые могут фатально повредить ткани, особенно почки и печень
Микроэлементы	Fe, Cu, Zn	Эти микроэлементы стимулируют образование активных форм кислорода, вызывают гемохроматоз (Fe), или болезнь Вильсона (Cu)
Пестициды	ДДТ и др.	Стимулируют синтез активных форм кислорода, пероксидацию липидов, изменяют антиоксидантные ферменты и GSH-redox-систему
Физические влияния	Бег, подъем тяжестей	Расслабление мышечного спазма сопровождается продукцией активных форм кислорода, особенно при высоких нагрузках
Психоэмоциональные влияния	Напряжение, опасения	Нейродегенерация, дисфункция митохондрий, изменения нервной сигнализации, ингибирование нейрогенеза
Патофизиологические изменения	Локальная ишемия	Повышается синтез активных форм кислорода
Внешние факторы	Экстремальная погода	Изменение свойств мембран митохондрий с нарушением транспорта электронов, повышением синтеза активных форм кислорода
Антиоксиданты	Аскорбиновая кислота, витамин E, полифенолы	Действуют как прооксиданты при некоторых условиях

воздействия. Существует возможность оказания помощи антиоксидантным ферментам: некоторые ферменты в соединении с низкомолекулярными антиоксидантами оказываются необходимыми как кофакторы.

Неферментативная антиоксидантная система включает глутатион (GSH), NADH, флавоноиды, витамины E, C и A, тиреодоксин, липоевую кислоту, мочевую кислоту, убиквинон, следовые металлы (в том числе Zn). Эта система «деликатно» поддерживает окислительно-восстановительный (редокс) баланс и снижает разрушительное действие активных форм кислорода [5, 14, 15]. Ряд компонентов высокой молекулярной массы также действует как антиоксидант: альбумин, трансферрин, металлотioneины, кроме того, пищевые антиоксиданты – флавоноиды, кверцетин, хелаторы металлов, бета-каротины. Однако возможен обратный эффект неферментативных антиоксидантов: в больших дозах они могут проявлять прооксидантное действие, особенно в присутствии Fe, Cu, тяжелых металлов [2, 5, 8]. В связи с тем, что митохондрии вынуждены постоянно бороться с избыточным образованием активных форм кислорода, антиоксидантная система защиты в этих органеллах отличается особой мощностью. Эффективность адаптации к окислительному стрессу зависит от функционирования всех компонентов антиоксидантной защиты организма, а также от «тренированности» системы адаптации к раздражителям средней силы [2, 4, 6, 7, 16].

Нитрозативный стресс характеризуется метаболическими изменениями, обусловленными повышением количества оксида азота (NO) и его производных в организме, оказывающими цитотоксическое действие. Сам по себе оксид азота – относительно стабильный короткоживущий агент – не обладает высокой реактивностью, оказывая многочисленные положительные эффекты в организме. Так,

при стрессе оксид азота быстро реагирует с органическими радикалами, прерывая цепь радикальных реакций [17]. Оксид азота синтезируется многими клетками и контролирует в них различные функции и биохимические процессы, выполняя роль клеточного мессенджера, сигнальной молекулы. Как сигнальная молекула он обеспечивает расслабление гладких мышц сосудов, участвует в защите от патогенов, является нейротрансмиттером, регулирует программируемую гибель и пролиферацию клеток, играет роль в секреторной (гормоны) и репродуктивной функциях, регулирует активность тромбоцитов [17–19]. Он образуется в результате окисления аргинина в присутствии фермента NO-синтазы (табл. 3), имеющей разные изоформы в зависимости от ее локализации в клетках [5, 17–19].

При стрессе образующиеся в избыточных количествах оксид азота и его производные – активные формы азота (NO, NO₂, ONOO, нитротирозин) оказывают противоположное действие, индуцируя повреждение многих клеточных структур вплоть до апоптоза клеток (макрофагов, тимоцитов, островков Лангерганса, нейронов). Повреждение ДНК активными формами азота приводит к накоплению p53, который (как и нитротирозин) выступает индикатором NO-опосредованного апоптоза. Активные формы азота изменяют функции белков, ионных каналов, ядерных факторов транскрипции, киназ, каспаз, металлопротеиназ, метилтрансфераз, фосфодиэстераз, что зависит от взаимодействия с различными молекулами-мишенями и образования активных метаболитов оксида азота [17, 19].

Образование токсичного пероксинитрита значительно нарушает баланс между про- и антиоксидантами с повышением риска повреждения не только наружных мембран клеток, но и мембран внутриклеточных структур, особенно митохондрий. Одновременное образование оксида азота и супероксида

Таблица 3. Сравнительная характеристика NO-синтазы (NOS) [17]

Table 3. Comparative characteristics of NO-synthase [17]

Характеристика	nNOS (нейрональная)	iNOS (индуцибельная)	eNOS (эндотелиальная)
Клетки, экспрессирующие NOS	Нейроны, эпителиоциты, эндотелиоциты, миоциты скелетных мышц и сосудов, нейтрофилы, тромбоциты, f3-клетки поджелудочной железы	Макрофаги, нейтрофилы, эпителиоциты, кардиомиоциты, глиальные клетки, миоциты сосудов, эндотелиоциты, нейроны	Эндотелиоциты, кардиомиоциты, тромбоциты, нейроны
Гены (локализация)	<i>NOS1</i> (12q24.2–12q24.3)	<i>NOS2</i> (17q11.2–q12)	<i>NOS2</i> (7q35–7q36)
Основные регуляторные механизмы	Ca ²⁺ -зависимый	Ca ²⁺ -независимый	Ca ²⁺ -зависимый (Ca-кальмодулиновый),
Субклеточная локализация	Цитоплазма, эндоплазматический ретикулум, саркоlemma	Фагосомы, пероксисомы, мембрана, ядро клетки, митохондрии	Аппарат Гольджи, мембрана клетки в области маленьких инвагинаций, которые содержат трансмембранный кавеолин, ядро клетки, митохондрии

в митохондриях приводит к синтезу пероксинитрита с необратимым подавлением работы дыхательной цепи митохондрий и повреждением многих ее компонентов, подвергая окислению комплексы I, II, IV, V дыхательной цепи, липиды мембран митохондрий, митохондриальную ДНК, супероксиддисмутазу, стимулируя выход Ca^{2+} из митохондрий и снижение синтеза АТФ [2]. Накопление активных форм азота, как и активных форм кислорода, вызывает структурные и функциональные изменения биомолекул, характерные для нитрозативного стресса. Образование пероксинитрита может быть одним из самых опасных процессов, происходящих в организме, поскольку пероксинитрит и продукты его распада (гидроксильный радикал и диоксид азота) – чрезвычайно сильные окислители. Пероксинитрит вызывает модификацию белков, нуклеиновых кислот и других биологически важных молекул. В частности, под действием перекисного окисления азота увеличивается количество карбоксильных групп в белках, усиливая другой метаболический стресс – карбонильный [17, 18].

Защитными адаптивными факторами при нитрозативном стрессе служат все антиоксиданты, повышающие адаптацию к окислительному стрессу, а также ингибиторы NO-синтазы – фермента синтеза оксида азота из L-аргинина (блокаторы кальциевых каналов, энерготропные препараты) [4, 16, 17, 20–22].

Карбонильный стресс. Образование активных форм кислорода и азота происходит в основном в митохондриях, где эти формы оказывают ингибирующее действие на дыхательные ферменты, нарушая движение электронов по электронно-транспортной цепи митохондрий с дополнительным образованием супероксида и снижением синтеза АТФ. В связи с этим включается более древний способ образования АТФ через гликолиз как в анаэробных, так и аэробных условиях [1]. В результате активации гликолиза и перекисидации мембранных липидов повышается синтез еще ряда активных модификаторов белков – активных карбонильных соединений, обуславливающих развитие карбонильного стресса: производных глюкозы (глиоксаль, метилглиоксаль, 4-гидроксиноненаль, активные карбонильные формы глюкозы, почти не встречающиеся в норме и содержание которых значительно повышается при гипергликозурии) и производных полиненасыщенных жирных кислот (альдегиды, кетоны, кетоальдегиды, кетокислоты, формальдегид, малоновый диальдегид). Активные карбонильные соединения способны карбонилировать (гликировать) белковые молекулы [1, 23].

К наиболее мощным карбонильным соединениям относится метилглиоксаль (CH_3COCHO). Активным карбоксильным соединениям посвящено множество работ, в которых употребляются термины «Carbonyl stress», «Glycated/Glycosylated Hemoglobin», «Reactive carbonyl compounds», «Maillard reaction», «Non enzymatic glycation». Чаще всего подчеркивается деструк-

тивное действие активных карбонильных соединений на клетки, подобно действию активных форм кислорода и азота. Вначале существовало мнение, что активные карбонильные соединения – «молекулярный мусор», появление которого в организме объясняет многие заболевания и даже старение, однако в дальнейшем стало известно, что участие этих метаболитов в физиологических процессах необходимо для поддержания на высоком уровне резистентности организма при стрессе. Метилглиоксаль, глиоксаль, формальдегид и другие активные карбонильные соединения можно причислить к классу сигнальных молекул, которые в низких концентрациях участвуют в регуляции окислительно-восстановительных процессов в клетке, в метаболической активности, контроле пролиферации и выживания, а также во многих аспектах общего метаболизма и клеточного гомеостазиса. Метаболическая роль метилглиоксаля подчеркивается наличием в организме специализированной ферментной глиоксилазной системы для его деградации. Снижение активности глиоксилазы усиливает карбонильный стресс и дисбаланс между образованием активных карбонильных соединений и их удалением [1, 24, 25]. Метилглиоксаль активно влияет на внутренние сигнальные пути: активирует гликолиз, может нарушать рецепторную инсулиновую сигнализацию, а также индуцировать провоспалительные факторы в нейтрофилах, эндотелиальных и гладкомышечных клетках [26]. Кроме того, метилглиоксаль влияет на программирование экспрессии генов [27], на внутриклеточную кальциевую сигнализацию [28, 29], на ионные каналы [29], на рецепторы гамма-аминомасляной кислоты [30].

Карбонильный, окислительный и нитрозативный стрессы в биологических системах неразделимы и образуют «порочный круг», вместе составляют элементы сложной сети реакций. Эти молекулярные стрессы с образованием сигнальных молекул необходимы для быстрых неспецифических реакций организма («бороться или бежать»), индуцируя неспецифические посттрансляционные модификации, обуславливающие механизм быстрого приобретения новых свойств [31]. Активные стрессорные сигнальные молекулы осуществляют неферментативную модификацию белков, липидов, нуклеиновых кислот, в том числе неферментативное гликирование. Защитное действие активных сигнальных молекул проявляется напрямую и опосредованно. Прямая защита заключается в стабилизации (выключении функции) белков клетки. Опосредованная защита включает участие сигнальных молекул в следующих процессах: 1) регуляция сигнальных путей клетки, в том числе ответственных за реакцию на стресс; 2) перепрограммирование эпигенома (через гистоны, ДНК метилазы); 3) появление дополнительных реакций метаболизма; 4) запуск механизма мутагенеза, индуцированного стрессом [1]. Защитой от карбо-

нильного стресса служат активация глиоксилазы I и II, кеторедуктазы, утилизация активных форм кислорода в организме, восстановленный глутатион, а также использование ферментов метилглиоксаля (метформин, карнозин) [1, 30–33].

Модифицированные белки. Целый ряд изменений, возникающих при стрессе, имеет биохимическую целесообразность, т.е. их до определенной степени выраженности можно считать адаптационными. Для каждого вида метаболического стресса имеются дозозависимые границы физиологического и патологического воздействия. Благодаря гормональной стимуляции (гормезису), малые дозы активных молекул, как и мягкие экологические стрессоры, не только не причиняют вред организму, но даже способствуют формированию устойчивого феномена, приспособлению к широкому разнообразию изменений внешней и внутренней среды [1, 16, 34].

В результате воздействия активных молекул в организме накапливаются модифицированные альбумин, гемоглобин, липопротеины низкой плотности (ЛПНП), коллаген [1]. Окисленные ЛПНП скапливаются в атеросклеротически измененных сосудах и плохо поддаются деградации в лизосомах из-за модификации и инактивирования лизосомных протеаз. Неферментативное гликирование белковых молекул приводит к появлению новых карбонильных групп, что сочетается с дальнейшим изменением свойств белков [1, 33]. В норме уровень активных молекул снижают антиокислительные ферменты (супероксиддисмутаза, глутатион-пероксидаза, каталаза и др.), а их неферментативное гликирование – важный фактор, усиливающий окислительный стресс [1].

Модифицированные белки со слегка измененной структурой при адекватном воздействии сигнальных молекул обратимо приобретают новые каталитические и агрегационные свойства, а также повышенную устойчивость к протеолизу, изменение коллоидных реакций, усиление агрегации и уменьшение степени дисперсности [1]. В то же время при метаболических стрессах активные сигнальные молекулы, образующиеся уже на начальных стадиях, могут быть факторами стабилизации белковых молекул. Модификация белков и нуклеотидов может благоприятствовать развитию защитных реакций на уровне организма, а именно – провоцировать воспалительную реакцию, запустить запрограммированную гибель поврежденных клеток (некроз, апоптоз, аутофагия), а также при повторных повреждениях индуцировать перестройки в эпигеноме [1]. После всех первичных изменений, появляющихся в секундно-минутной шкале в структуре макромолекул белков, происходят видимые изменения на уровне целой клетки и организма. В частности, при возникновении локальных конформационных перестроек отмечаются изменения рецепторных, транспортных и других белков

клетки под действием адекватных (гормоны, метаболиты, простагландины) и неадекватных (воздействия, к которым не существует комплементарных рецепторов) раздражителей [1]. Такие белки с измененной структурой обладают новыми патологическими и агрегационными свойствами, высокой чувствительностью к сорбции–десорбции, благодаря чему клетка может в течение секунд изменить метаболизм (древняя «система быстрого реагирования»). В настоящее время хорошо известно, что метаболические стрессы с высокой интенсивностью модификации белков приводят к развитию хронических, прогрессирующих обменных болезней: сердечно-сосудистых заболеваний (ЛПНП, альбумин и др.), сахарному диабету (рецепторы инсулина, гемоглобин), аутоиммунным (различные модифицированные белки с антигенными свойствами) и нейродегенеративным (паркин, металлотронеины) заболеваниям, генным мутациям в соматических клетках (гипоксантингуанинфосфорилтрансфераза), дисплазии соединительной ткани (гликированный коллаген) и др. [1, 5, 32].

Гликированный гемоглобин. Участие гликированного гемоглобина в развитии последствий карбонильного стресса заключается, в частности, в повреждении эритроцитов. Структурные перестройки гемоглобина происходят в результате окисления аминокислотных остатков (цистина, гистидина, тирозина, триптофана), нитрозилирования аминокислотных остатков (цистина, тирозина, триптофана, метионина), хлорирования остатков лизина, метионина, глицина, аргинина, образования стабильных соединений аминокислот с активными карбонильными соединениями [1]. Благодаря тому, что гемоглобин относится к долгоживущим белкам (120 ± 20 дней), аккумулирующим различные посттрансляционные модификации, его измененные формы используют в диагностике различных метаболических нарушений, например уровень гликированного гемоглобина (HbA) – более устойчивый показатель гипергликемии, который служит «золотым стандартом» при диагностике сахарного диабета.

Одно из последствий сахарного диабета – микроангиопатии, развивающиеся вследствие поражения эндотелиальных клеток и мембран эритроцитов активными карбонильными соединениями [1, 33]. Повреждение липидных компонентов мембран эритроцитов отрицательно влияет на их механические свойства и целостность, в результате чего повышается вероятность гемолиза и выхода гликированного гемоглобина в кровеносное русло с отложением в периферических артериолах. Имеет значение и то, что часть гемоглобина обратимо связана с мембраной эритроцита и увеличение его количества в мембране снижает ее устойчивость к гемолизу [34].

Структурные изменения гемоглобина сопровождаются его дестабилизацией, утратой ряда свойств. Установлено, что гликированный гемоглобин имеет

более высокое сродство к кислороду, в результате чего затрудняется отдача кислорода в тканях (тканевая гипоксия) с усилением анаэробного гликолиза [35, 36]. Патологически измененные эритроциты, помимо гемолиза, обнаруживают склонность к агрегации и апоптозу [1]. Показано, что токсическое действие гликированного гемоглобина связано со следующим: 1) развитие вазоконстрикции в результате окисления оксида азота до нитрита в реакции с окси-гемоглобином; 2) образование активных радикальных продуктов супероксидного анион-радикала, пероксинитрита, ферил- и оксиферилгемоглобина, которые индуцируют окисление ЛПНП в плазме; 3) реакция свободного гема, который стимулирует образование активных форм кислорода и медиаторов воспаления через активацию транскрипционного фактора NF-κB в эндотелиальных клетках, а также активирует макрофаги и нейтрофилы [37, 38]. В совокупности все эти явления приводят к нарушению реологических свойств крови, окклюзии и воспалительным изменениям в сосудах [39–41].

«Неэффективный» альбумин. Влияние стрессовых ситуаций на белки демонстрируют также структурно-функциональные изменения альбумина при патологии. Обнаружение таких изменений стало возможным после разработки специфических флуоресцентных зондов (в частности, K35) во второй половине прошлого века [42, 43]: интенсивность флуоресценции K35 коррелирует с количеством связывающих (эффективных) свойств альбумина. Альбумин – глобулярный полифункциональный транспортный белок, главным образом переносящий в клетки субстрат для образования АТФ в митохондриях – неэстерифицированные жирные кислоты (C16:0, C18:0, а также в небольших количествах C18:1 и C18:2), для которых в молекуле альбумина имеются специфические и неспецифические центры связывания; в результате заполнения этих центров обеспечивается стабильность молекулы. Нарушение таких связей приводит к катаболизму альбумина. Альбумин переносит 90% жирных кислот крови, в то время как липопротеины – только остальное количество. Кроме того, альбумин обратимо связывает и транспортирует такие низкомолекулярные эндогенные и экзогенные молекулы (лиганды), как билирубин, глюкоза, лекарственные препараты, гормоны, ионы металлов (Fe, Zn, Cu, Ni, Ca) и др., до 10 лигандов на 1 молекулу [42–45].

Молекула альбумина обладает высокой чувствительностью и при изменении окружающих условий может радикально менять свойства всей белковой глобулы: изменять расположение своих трех доменов в виде цепочки, что увеличивает проницаемость альбумина через гломерулярный фильтр [44, 46, 47]. Молекулы альбумина участвуют в неспецифической реакции адаптации, проявляют антиоксидантную активность [43]. При связывании активных сигналь-

ных молекул с альбумином в нем происходят конформационные перестройки с появлением новых доступных мест связывания с токсичными метаболитами, что усиливается при ацидозе.

Хотя альбумин устойчив к разрушению, его молекула быстро приспосабливается к новым условиям существования в здоровом организме, однако при развитии метаболического стресса, появлении активных форм кислорода, активных форм азота, активных карбонильных соединений и увеличении их количества отмечаются значительные отклонения в структуре и функциях альбумина [43]. Нарушение дисульфидных связей, в норме сохраняющих глобулярную структуру альбумина, приводит к разрыву этих связей активными сигнальными молекулами при стрессе и, как следствие, потере глобулярной структуры [46, 47]. Снижается количество специфических мест связывания («эффективной концентрации альбумина»), повышается индекс токсичности, зависящий от соотношения общего и «эффективного» количества альбумина, нарушается доставка необходимых субстанций к тканям [46]. Снижение транспортных функций альбумина выявлено при атеросклерозе, ожогах, перитоните, сепсисе, гепатитах, инфаркте миокарда, лейкозе, бронхиальной астме, психических заболеваниях, уремии [43, 44, 48]. При атеросклерозе нарушение переноса неэстерифицированных жирных кислот альбумином в клетки обуславливает гиперлипидемию и перегрузку липопротеинами низкой и очень низкой плотности с повышением риска повреждения сосудов и образования в них липидных атеросклеротических бляшек. Сами белковые компоненты липопротеинов также подвергаются изменению структуры и функции под действием «стрессорных» метаболитов, что еще более увеличивает риск развития атеросклероза [43, 49].

Белки и микроэлементы. При конформационной перестройке основной мишенью активных сигнальных молекул (и других эндогенных метаболитов) в белках служат SH-группы – регуляторные центры, молекулярные переключатели активности белков [1, 50, 51]. SH-группы имеют повышенную способность связываться с микроэлементами, вызывая изменение свойств белков. Активные молекулы, таким образом, являются модуляторами чувствительности и резистентности клетки, могут оказывать как стимулирующее, так и угнетающее действие на метаболизм, одновременно повышая устойчивость к протеолизу, изменяя коллоидные реакции, агрегацию белков и уменьшая степень их дисперсности [1, 52]. Часть белков с измененной структурой объединяется в кластеры, увеличивая вязкость внутриклеточной среды [53]. Однако часть «расплавленных белковых глобул» подвергается стабилизации и возвращается к первоначальному объему в связи с активным захватом микроэлементов, обеспечивающим плотную упаковку, возвращающим компакт-

ность, но не функциональную активность [54–56], обуславливая появление чужеродных (антигенных) свойств молекуле белка.

Модифицированные белки, перегруженные в 2–7 раз микроэлементами (Fe, Zn, Cu, Ni), были обнаружены в воспаленной интиме аорты под атеросклеротическими бляшками в аутопсийном материале людей (возраст 70–90 лет), умерших от атеросклероза, инфаркта миокарда, ишемической болезни сердца. В отличие от интимы под бляшкой в соседних областях сосуда не отмечалось увеличения содержания микроэлементов [41, 57]. Аналогичные данные были получены при исследовании атеросклеротически измененной аорты мышей и кроликов с экспериментальным атеросклерозом при скоплении ЛПНП в интиме поврежденных сосудов [58–61].

Повышение лигандных свойств белков по отношению к микроэлементам с высокой константой устойчивости образованных комплексов (Fe, Zn, Cu, Ni) было также установлено в модельных экспериментах *in vitro* на упорядоченных ленгмюровских белковых пленках при действии на них эндогенных токсикантов [54–56]. Для создания белковых ленгмюровских пленок на поверхности жидкости были использованы щелочная фосфатаза, глюкозооксидаза, альбумин, гемоглобин в присутствии 0,09 М мочевины. Эта концентрация мочевины не вызывает денатурацию белков, но достаточна для изменения их конформации с появлением новых лигандных локусов, обеспечивающих агрессивный захват микроэлементов из водной субфазы с высокой степенью очистки (не более 10^{-7} М микроэлементов). Такие белки на 70–80% теряют функциональную активность. Повышенное количество белков, перегруженных микроэлементами (микропротеинурия 120–450 мг/сут), обнаруживается в моче у детей с хронической интоксикацией (хронический гипоксический синдром) при наследственной дисплазии соединительной ткани – синдромах Элерса–Данло, Марфана, а также при приобретенных нефропатиях, эконефропатиях, развивающихся в результате воздействия токсикантов в среде проживания детей – пестицидов, продуктов цементного производства, электронной промышленности [62]. Микропротеинурия с повышенным содержанием микроэлементов в белках обнаруживается еще в доманифестный период нефропатии (при нормальной функции почек, в отсутствие лейкоцитов, эритроцитов в моче). Фракционирование выделенных из мочи белков позволило установить, что в их состав входят альбумины (30–50%) и низкомолекулярные белки (мм 20–60 кДа), в том числе микроглобулины, трансферрин, миоглобин и др. Эти белки, «неузнаваемые» реабсорбционными системами канальцев почек, в повышенных количествах выделяются с мочой. Переход от бессимптомной микропротеинурии к дисметаболической нефропатии сопровож-

дается появлением более или менее постоянной микрогематурии, лейкоцитурии. При этом в моче появляются различные признаки нарушения обмена: повышение содержания оксалатов, средних молекул, фибриногена, продуктов перекисного окисления липидов, снижение антиоксидантной защиты мочи, кристаллурия (соли фосфатов, кальция), что характерно для снижения биоэнергетики, риска развития мочекаменной болезни и постепенно развивающегося склероза почек [62]. В качестве защиты организма от модифицированных микроэлементами белков с риском антигенной агрессии предлагается применение антиоксидантов [1, 63, 64], а также хелатирующих агентов – бисфосфонатов, связывающих в прочные комплексы микроэлементы, освобождающиеся при белковых перестройках [65].

Заключение

Неспецифический ответ организма на любое предъявленное ему требование обычно сопровождается увеличением в крови содержания стрессорных гормонов – кортизола, адреналина, мобилизующих обменные процессы. При этом организм, несмотря на изменение своего состояния, приобретает способность сохранять относительную стабильность внутренней среды. Однако при сильных раздражителях, наряду с элементами адаптации, возникают элементы напряжения и даже повреждения. Ответ на разные стимулы может развиваться как на уровне целого организма, так и в различных его системах. Молекулярные механизмы на клеточном уровне затрагивают изменения мембранных липидов, углеводов и формирование адаптивного ответа через модификацию белков, их функций и сеть ферментативных и неферментативных процессов. Под действием активированных гормонами окислительных ферментов (ксантиноксидаза, моноаминоксидаза и др.) происходит накопление в организме супероксидного аниона и его производных – активных форм кислорода с развитием окислительного стресса. Активные формы кислорода – мощный модификатор структуры и функции белков, липидов, углеводов. Кроме того, супероксид, взаимодействуя с оксидом азота, образует активные формы азота – нитриты, нитраты, пероксинитриты, обуславливая развитие нитрозативного стресса. При взаимодействии с углеводами и липидами развивается карбонильный стресс с образованием активных карбонильных соединений, также играющих роль модификаторов белковых молекул. Такая модификация обусловлена свойством активных молекул спонтанно вступать в реакции с аминокислотными остатками белков. Реакционноспособные (сигнальные) молекулы оказывают дозозависимые влияния на метаболизм – от регуляторных до нарушающих структуру биологических систем. Активные молекулы сигнализируют клетке о наличии стрессовой ситуации, участвуют в органи-

защитной реакции или приводят к развитию хронических обменных заболеваний, для каждого из которых отмечается преимущественное повреждение «своих» белков. Неослабевающий интерес исследователей к проблеме метаболических стрессов объясняется не только новыми открытиями в проблеме, но и поиском эффективных средств защиты от патологического действия метаболических стрессов.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. *Космачевская О.В., Шумаев К.Б., Топунов А.Ф.* Карбонильный стресс: от бактерий до человека. Петрозаводск: ИП Марков Н.А., 2018; 225. [*Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Topunov A.F.* Carbonyl stress: from bacteria to humans. Petrozavodsk: IP N.A. Markov, 2018; 225. (in Russ.)]
2. *Владимиров Ю.А.* Нарушение барьерных свойств внутренней и наружной мембран митохондрий, некроз и апоптоз. Биологические мембраны 2002; 19(5): 356–377. [*Vladimirov Yu.A.* Violation of the barrier properties of the inner and outer membranes of mitochondria, necrosis and apoptosis. Biologicheskie membrany 2002; 19 (5): 356–377. (in Russ.)]
3. *Селье Г.* Как стать ученым. Под ред. М.Н. Кондрашовой, И.С. Хорола. М.: Прогресс, 1987; 368. [*Cellier G.* How to become a scientist. M.N. Kondrashova, I.S. Khorola (eds). Moscow: Progress, 1987; 368. (in Russ.)]
4. *Калинченко С.Ю., Ворслов Л.О., Тюзиков И.А., Тишова Ю.А.* Окислительный стресс как причина системного старения. Роль препаратов альфа-липоевой кислоты (ЭСПА-ЛИПОН) в лечении и профилактике возраст-ассоциированных заболеваний. Фарматека 2014; 6: 45–56. [*Kalinchenko S.Yu., Vorslov L.O., Tyuzikov I.A., Tishova Yu.A.* Oxidative stress as a cause of systemic aging. The role of alpha-lipoic acid (ESPA-LIPON) drugs in the treatment and prevention of age-related diseases. Farmateka 2014; 6: 45–56. (in Russ.)]
5. *Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S.* Oxidative stress. Prooxidants, and antioxidants. Interplay Biomed Res 2014; 7: 612–664. Doi: 10.1155/2014/761264
6. *Gralas-Delamarque A., Debre F., Vinsent S., Cillard J.* Physical inactivity, insulin resistance, and the oxidative-inflammation loop. Free Radic Res 2014; 48(1): 93–108. Doi: 10.3109/10715762.2013.847528
7. *Kim Y.W., Bysova T.V.* Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease. Blood 2014;123(5): 62–81. Doi: 10.1182/blood-2013-09-512749
8. *Robert A.M., Robert L.* Xantin-oxidoreductase, free radicals and cardiovascular disease. Pathol Oncol Res 2014; 20(1): 1–10. DOI: 10.1007/s12253-013-9698-x
9. *Inoue M., Sato E.F., Nishikawa M., Park A.M., Kira Y., Imada I., Utsumi K.* Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. Current Med Chem 2003; 10(23): 2495–2505. DOI: 10.2174/0929867033456477
10. *Marnette L.J.* Oxiradicals and DNA damage. Carcinogenesis 2000; 21(3): 361–370.
11. *Shames D.S., Minna J.D., Gazdar A.F.* DNA methylation in health, disease and cancer. Current Mol Med 2007; 7(1): 85–102. DOI: 10.2174/156652407779940413
12. *Halliwell B.* Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? Arch Biochem Biophys 2008; 476(2):107–112. DOI: 10.1016/j.abb.2008.01.028
13. *Durackova Z.* Some current insights into oxidative stress. Physiol Res 2010; 59(4): 459–469.
14. *Zhang F.-F., Zhang Y.-F., Zhu H.-J.* Effects of kaempferol quercetin on cytochrome 450 activities in primarily cultured and hepatocytes. Zhejiang Da Xue Xue Bai Yi Xue Ban 2006; 35(1): 18–22.
15. *Snedecok S.J. Sudharshan L., Cappeleri J.C., Sadosky A.B., Mehta S., Botteman M.F.* Sistematic review and meta-analysis

- of pharmacological therapies for painful diabetic peripheral neuropathy. Pain Pract 2014; 14(2): 167–184. DOI: 10.1111/papr.12054
16. *Гаркави Л.Х.* Активационная терапия. Антистрессорные реакции активации и тренировки и их использование для оздоровления, профилактики и лечения. Таганрог: 2005; 88. [*Garkavi L.Kh.* Activation therapy. Antistress activation and training reactions and their use for healing, prevention and treatment. Taganrog: 2005; 88. (in Russ.)] www.rak.by.https://www.skif.biz/files/454c39.pdf.
17. *Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г.* Оксид азота, биологическая роль, механизмы действия. Современные проблемы науки и образования 2015; 4: 1–9. [*Kuznetsova V.L., Solovyova A.G.* Nitric oxide, biological role, mechanisms of action. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya (Modern problems of science and education) 2015; 4: 1–9. (in Russ.)]
18. *Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L.* Nitric oxid and peroxinitrite in health and disease. Physiol Res 2007; 87: 315–424. DOI: 10.1152/physrev.00029.2006
19. *Tomomi G., Masataka M.* Nitric oxidt and endoplasmic reticulum stress. Arteriosclerosis, Trombos Vasc Biol 2006; 26: 1439–1445. DOI: 10.1161/01.ATV.0000223900.67024.15
20. *Knott A.B., Bossy-Wetzel E.* Nitric oxide in health and disease of the nervous system. Antioxidant Redox Signaling 2009;11(3): 541–553. DOI: 10.1089/ARS.2008.2234
21. *Ванин А.Ф.* Оксид азота в биомедицинских исследованиях. Вестник Российской АМН 2000; 4: 3–5. [*Vanin A.F.* Nitric oxide in biomedical research. Vestnik Rossiiskoi AMN 2000; 4: 3–5. (in Russ.)]
22. *Сосунов А.А.* Оксид азота как межклеточный посредник. Соровский образовательный журнал 2000; 6: 27–34. [*Sosunov A.A.* Nitric oxide as an intercellular mediator. Sorovskiy obrazovatelnyy zhurnal 2000; 6: 27–34. (in Russ.)]
23. *Turk Z.* Glycotoxines, carbonyl stress and relevance to diabetes and its complications. Physiol Res 2010; 49:147–156.
24. *Fiori F., Lombardi A., Miele C., Giudicelli J., Beguinot f., Van Obberghen E.* Methylglyoxal impairs insulin signaling and insulin action on glucose-induced insulin. Diabetologia 2011; 54: 2941–2952. DOI: 10.1007/s00125-011-2280-8
25. *Dhar A., Dhar I., Jiang B., Desai K.M., Wu I.* Chronic methylglyoxalic infusion by minipump causes pancreatic beta-cell dysfunction and induces type 2 diabetes in Sprague-Dawley rats. Diabetes 2011; 60: 899–908. DOI: 10.2337/db10-0627
26. *Uribari J., Cai W., Peppia M., Goodman S., Ferrucci L., Striker G., Vlassara H.* Circulating glycotoxins and dietary advanced glycation end products: two links to inflammatory response, oxidative stress and aging. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2007; 62: 427–433. DOI: 10.4236/ojps.2012.22003
27. *Oguri M., Nakajima T., Yamamoto Y., Takano N., Tanaka T. et al.* Effects methylglyoxal on human cardiac fibroblast: role of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA) channels. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2014; 307: 1339–1352. DOI: 0.1152/ajpheart.01021.2013
28. *Chan W.H., Wu Y.J.* Methylglyoxal and high glucose co-treatment induces apoptosis or necrosis in human vein endothelial cells. J Clin Biochem 2008; 103: 1144–1157. DOI: 10.1002/jcb.21489
29. *Radu B.M., Dumitrescu S.H.E., Mustaciosu C.C., Radu M.* Dual effect of methylglyoxal on the intracellular Ca²⁺ signaling and neurite outgrowth in mouse sensory neurons. Cel Mol

- Neurobiol 2012; 32: 1043–1057. DOI: 10.1007/s10571-012-9823-5
30. Ichihashi M., Yagy M., Monoto K., Yonet A. Glycation stress and photo-aging in skin. *Anti –Agig Med* 2011; 8: 23–29. DOI: 10.3793/jaam.8.23
 31. Piedrafita G., Keller M.A., Ralser M. The impact of non-enzymatic reactions and enzyme promiscuity on cellular metabolism during (oxidative) stress conditions. *Biomolecules* 2015; 5: 2101–2122. DOI: 10.3390/biom5032101
 32. Lankin V.Z., Konovalova G.G., Tikhaze A.K., Shumaev K.V., Kumskova E.M., Vigimaa M. The initiation of the free radical peroxidation of low-density lipoproteins by glucose and its metabolite methylglyoxal: a common molecular mechanism of vascular wall injury in atherosclerosis and diabetes. *Mol Cell Biochem* 2014; 395: 241–252. DOI: 10.1007/s11010-014-2131-2
 33. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.V., Nasybullina E.I., Gubkina S.A., Topunov A.F. Interaction of S-nitrosoglutathione with methemoglobin under conditions of modeling carbonyl stress. *Hemoglobin* 2013; 37: 205–218. DOI: 10.3109/03630269.2013.773911
 34. Stefanovic A., Jeremic K., Kadija S., Mitrovic M., Filimonovic D. et al. Uterine tumor resembling ovarian sex cord tumor. Case report and review of literature. *Eur J Gynecol Oncol* 2013; 34: 275–277.
 35. Громова Н.В., Мартынова М.И., Проснякова К.В., Ревин В.В., Ревина Э.С., Сейкина А.И., Столбова Т.А. Влияние гипоксии на конформацию и перераспределение гемоглобина в эритроцитах человека. *Ogarev-Online* 2016; 24(89): 7. [Gromova N.V., Martynova M.I., Prosnjakova K.V., Revin V.V., Revina E.S., Seikina A.I., Stolbova T.A. The effect of hypoxia on the conformation and redistribution of hemoglobin in human red blood cells. *Ogarev-Online* 2016; 24(89): 7. (in Russ.)]
 36. Бульон В.В., Хныченко Л.К., Сапронов Н.А., Коваленко А.Л., Алексеева Л.Е., Романцов М.Г. Оценка метаболических сдвигов при гипоксии на молекулярно-клеточном уровне и возможности их медикаментозной коррекции. *Успехи современного естествознания* 2006; 12: 29–32. [Bouillon V.V., Khnychenko L.K., Sapronov N.A., Kovalenko A.L., Alekseeva L.E., Romantsov M.G. Evaluation of metabolic changes in hypoxia at the molecular-cellular level and the possibility of their medical correction. *Uspekhi sovremenogo estestvoznaniya* 2006; 12: 29–32 (in Russ.)]
 37. Dutra F.F., Bozza M.T. Heme innate immunity and inflammation. *Front Pharmacol* 2014; 5: 115. DOI: 10.3389/fphar.2014.00115
 38. Schaer D.J., Buchler P.W., Alayash A.I., Belcher J.D., Vercellotti G.M. Hemolysis and free hemoglobin resisted: exploring hemoglobin and heme scavengers as a novel class of therapeutic proteins. *Blood* 2013; 121: 1276–1284. DOI: 10.1182/blood-2012-11-451229
 39. Buchner P.W., Agnello F.D. Toxicological consequences extracellular hemoglobin: biochemical and physiological perspectives. *Antioxid Redox Signal* 2010; 12: 275–291. DOI: 10.1089/ars.2009.2799
 40. Северин Ф.Ф., Фенюк Б.Ф., Скулачев В.Н. Возможная роль гликирования белков в «устройстве больших биологических часов». *Биохимия* 2013; 78(9): 1331–1336. [Severin F.F., Fenyuk B.F., Skulachev V.N. The possible role of protein glycation in the “device of a large biological clock”. *Biokhimiya (Biochemistry)* 2013; 78(9): 1331–1336. (in Russ.)]
 41. Юрьева Э.А., Сухоруков В.С., Царегородцев А.Д., Воздвиженская Е.С., Харабадзе М.Н., Новикова Н.Н., Ковальчук М.В. Изменение белковых молекул при эндогенной интоксикации организма как фактор риска хронических обменных болезней. *Молекулярная медицина* 2013; 3: 45–52. [Yuryeva E.A., Sukhorukov V.S., Tsaregorodtsev A.D., Vozdvizhenskaya E.S., Kharabadze M.N., Novikova N.N., Kovalchuk M.V. Modification of protein molecules under endogenous intoxication as a risk factor of chronic metabolic diseases. *Molekulyarnaya Meditsina* 2013; 3: 45–52. (in Russ.)]
 42. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. Под ред. Ю.А. Грызунова, Г.Е. Добрецова. М.: ГЭОТАР, 1998; 440. [Serum albumin in clinical medicine. Yu.A. Gryzunov, G.E. Dobretsov (eds). Moscow: GEOTAR, 1998; 440. (in Russ.)]
 43. Титов В.Н. Альбумин, транспорт насыщенных жирных кислот и метаболический стресс-синдром (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика* 1999; 4: 3–11. [Titov V.N. Albumin, saturated fatty acid transport, and metabolic stress syndrome (literature review). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 1999; 4: 3–11. (in Russ.)]
 44. Комарова М.Н., Грызунов Ю.А. Строение молекулы альбумина и ее связывающих центров. В кн.: Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. Под ред. Ю.А. Грызунова, Г.Е. Добрецова. М.: ГЭОТАР, 1998; 28–51. [Komarova M.N., Gryzunov Yu.A. The structure of the albumin molecule and its binding centers. In: Serum albumin in clinical medicine. Yu.A. Gryzunov, G.E. Dobretsov (eds). Moscow: GEOTAR, 1998; 28–51. (in Russ.)]
 45. Levit D.G., Levit M.D. Human serum albumin homeostasis: new look at the roles of synthesis, catabolism, renal and gastrointestinal excretion, and the clinical value of serum albumin measurements. *Int J Gen Med* 2016; 15(9): 229–255. DOI: 10.2147/IJGM.S102819
 46. Добрецов Г.Е. Параметры связывания зонда Л-35 с альбумином сыворотки крови. В кн.: Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. Под ред. Ю.А. Грызунова, Г.Е. Добрецова. М.: ГЭОТАР, 1998; 170–178. [Dobretsov G.E. The binding parameters of the probe L-35 with serum albumin. In: Serum albumin in clinical medicine. Yu.A. Gryzunov, G.E. Dobretsov (eds). Moscow: GEOTAR, 1998; 170–178. (in Russ.)]
 47. Комарова М.Н. Микроальбуминурия и заболевания человека. В кн.: Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. Под ред. Ю.А. Грызунова, Г.Е. Добрецова. М.: ГЭОТАР, 1998; 84–94. [Komarova M.N. Microalbuminuria and human diseases. In: Serum albumin in clinical medicine. Yu.A. Gryzunov, G.E. Dobretsov (eds). Moscow: GEOTAR, 1998; 84–94. (in Russ.)]
 48. Титов В.Н. Изменение связывающих свойств альбумина в динамике инфаркта миокарда: альбумин и транспорт жирных кислот. *Кардиология* 2001; 10: 19–23. [Titov V.N. Change in the binding properties of albumin in the dynamics of myocardial infarction: albumin and transport of fatty acids. *Kardiologiya* 2001; 10: 19–23. (in Russ.)]
 49. Титов В.Н. Филогенетическая теория общей патологии. Патогенез болезней цивилизации. Атеросклероз. М.: ИНФРА-М, 2015; 237. [Titov V.N. Phylogenetic theory of general pathology. The pathogenesis of diseases of civilization. Atherosclerosis. Moscow: INFRA-M, 2015; 237. (in Russ.)]
 50. Yang J., Carroll K.S., Liebler D.C. The expanding landscape of the thiol redox proteome. *Mol Cell Proteomics* 2016; 15(1): 1–11. DOI: 10.1074/mcp.O115.056051
 51. Klomsiri C., Karpus P.A., Poole L.B. Cysteine-based redox switches in enzymes. *Antioxid Redox Sygnal* 2011; 14: 1065–1077. DOI: 10.1089/ars.2010.3376
 52. Александров В.Я. Реактивность клеток и белки. Л.: Наука, 1985; 378. [Alexandrov V.Ja. Reactivity of cells and proteins. L.: Nauka, 1985; 378. (in Russ.)]
 53. Бычкова В.Е., Басова Л.Б., Балобанов В.А. Как мембранная поверхность действует на структуру белков. *Успехи биологической химии* 2014; 54: 133–202. [Bychkova V.E., Basova L.B., Balobanov V.A. How the membrane surface affects the structure of proteins. *Uspekhi biologicheskoi khimii* 2014; 54: 133–202. (in Russ.)]

54. Novikova N., Kovalchuk M., Stepina N., Gyautdinov R., Chukhrai E., Yurieva E. Distinct effect of xenobiotics on the metal-binding properties of protein molecules. *J Synchrotrons Rad* 2015; 22: 1001–1007. DOI: 10.1107/S1600577515005627
55. Новикова Н.Н., Ковальчук М.Н., Юрьева Э.А., Коновалов О.В., Рогачев А.В., Степина Н.Д. Рентгенофлуоресцентные измерения в условиях полного внешнего отражения для исследования взаимодействия белков с ионами металлов в биологических системах. Кристаллография 2012; 57(5): 727–734. [Novikova N.N., Kovalchuk M.N., Yurieva E.A., Kononov O.V., Rogachev A.V., Stepina N.D. The possibility of X-ray fluorescence measurement in term of air defence for the study of molecular mechanisms of disorders of microelement balance in body. *Kristallografiya* 2012; 57(5): 727–734. (in Russ.)]
56. Novikova N.N., Kovalchuk M.N., Yurieva E.A., Kononov O.V., Stepina N.D., Rogachev A.V. The enhancement of metal-binding properties in hemoglobin: the role of mild damaging factors. *J Physical Chem* 2019;123: 8370– 8377. DOI: 10.1021/acs.jpcc.9b06571
57. Юрьева Э.А., Сухоруков В.С., Воздвиженская Е.С., Новикова Н.Н. Атеросклероз: гипотезы и теории. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2014; 59(3): 6–17. [Yurieva E.A., Sukhorukov V.S., Vozdvizhenskaya E.S., Novikova N.N. Atherosclerosis: hypotheses and theories. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Peditrii* (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics) 2014; 59 (3): 6–17. (in Russ.)]
58. Gajda M., Banas K., Banas A., Jawien J., Mateuszuk L., Chlopicki S. Distribution of selected elements in atherosclerotic plaques of apoE/ LDLR-double Knockot mice assessed by synchrotron radiation-induced micro-XRF. *X-ray Spectrom* 2006; 37: 495–502. DOI: 10.1002/[rs.1075
59. Gajda M., Kowalska J., Banas A., Banas K., Kwiatek W.M., Kostogryz R.B. Distribution of selected elements in atherosclerotic plaques of apoE/ LDLR-double knockout mice subjected to dietary and pharmacological treatments. *Synchrotron Rad Nat Sci* 2010; 9(1): 114–115. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2011.02.021
60. Watt F., Rajendran R., Ren M.Q., Tan B.K.N., Halliwell B. A nuclear microscopy study of trace elements Ca, Fe, Zn, and Cu in atherosclerosis. *Nucl Instr And Meth In Phys Res* 2006; 249: 646–652. DOI: 10.1016/j.nimb.2006.03.073
61. Lee S.-J., Koh J.-Y. Roles of Zn and metallothionein-3 in oxidative stress-induced lysosomal dysfunction, cell death, and autophagy in neurons and astrocytes. *Molecular Brain* 2010; 3: 30. DOI: 10.1186/1756-6606-3-30
62. Юрьева Э.А., Длин В.В., Воздвиженская Е.С., Сухоруков В.С., Семьячкина А.Н., Харабадзе М.Н. Дисметаболическая нефропатия у детей с наследственной дисплазией соединительной ткани. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2020; 65(1): 71–76. [Yurieva E.A., Dlin V.V., Vozdvizhenskaya E.S., Sukhorukov V.S., Semyachkina A.N., Kharabadze M.N. Dysmetabolic nephropathy in children with hereditary connective tissue dysplasia. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Peditrii* (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics) 2020; 65(1): 71–76. (in Russ.)] DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-1-71-76
63. Shumaev K.V., Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Grjyvj S.V., Novikov A.A., Topunov A.F. New dinitrosyl iron complexes bound with physiologically active dipeptide carnosine. *J Biol Inorg Chem* 2017; 22: 153–160. DOI: 10.1007/s00775-016-1418-z.
64. Скулачев В.П., Скулачев М.В., Фенюк Б.А. Жизнь без старости. М.: Эксмо, 2014; 256. [Skulachev V.P., Skulachev M.V., Fenyuk B.A. Life without old age. Moscow: Eksmo, 2014; 256. (in Russ.)]
65. Yurieva E.A., Novikova N.N., Sukhorukov V.S., Kushnareva M.V., Vozdvizhenskaya E.S., Murashev A.N. Protective effect of bisphosphonates on the pathological changes in the blood and tissues in case of experimental atherosclerosis. *Amer J Pharm Pharmacol* 2016; 3(3): 14–19.

Поступила: 06.04.20

Received on: 2020.04.06

Источник финансирования:

Исследование проведено в рамках финансирования Государственного задания «Анализ клинико-генетического полиморфизма инвалидирующих моногенных заболеваний у детей для прогнозирования их течения и определения молекулярных мишеней для оптимизации лечения» АААА-А18-118051790107-2

Source of financing:

The study was carried out within the framework of state Funding «Analysis of clinical and genetic polymorphism of disabled monogenic diseases in children to predict their course and identify molecular targets for optimizing treatment» АААА-А18-118051790107-2

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest, which should be reported.

ФЛАВОНОИДЫ ГЛАЗАМИ ФАРМАКОЛОГА. АНТИОКСИДАНТНАЯ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ

УДК 615.322 + 615.072
DOI: 10.17816/RCF1545-13

© Я.Ф. Зверев

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Барнаул

Для цитирования: Зверев Я.Ф. Флавоноиды глазами фармаколога. Антиоксидантная и противовоспалительная активность // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – № 4. – С. 5–13. doi: 10.17816/RCF1545-13

Поступила в редакцию 10.10.2017

Принята к печати 04.12.2017

Ключевые слова:

флавоноиды; антиоксидантное, противовоспалительное действие флавоноидов.

Резюме

Обзор литературы посвящен рассмотрению механизмов антиоксидантного и противовоспалительного действия флавоноидов. При обсуждении антиоксидантного эффекта

подробно рассмотрены механизмы скавенирования реактивных форм кислорода, хелатирования переходных металлов, активации антиоксидантных ферментов. В рассмотрении противовоспалительного действия акцент сделан на воздействии флавоноидов на активность факторов и путей транскрипции, участвующих в формировании воспалительной реакции.

FLAVONOIDS THROUGH THE EYES OF A PHARMACOLOGIST. ANTIOXIDANT AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES

© Ya.F. Zverev

Altai State Medical University, Barnaul, Russia

For citation: Zverev YaF. Flavonoids through the eyes of a pharmacologist. antioxidant and anti-inflammatory activities. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(4):5-13. doi: 10.17816/RCF1545-13

Received: 10.10.2017

Accepted: 04.12.2017

◆ **Keywords:** flavonoids; antioxidant, anti-inflammatory actions of flavonoids.

◆ **Abstract.** Review discusses the mechanisms of antioxidant and anti-inflammatory actions of flavonoids. In discussing the antioxidant effect detail the mechanisms

of scavenging of reactive oxygen species, the chelation of transition metals, the activation of antioxidant enzymes. In consideration of anti-inflammatory action emphasis on the effects of flavonoids on the activity of the transcription factors and pathways involved in the formation of the inflammatory response.

Интерес к флавоноидам как к антиоксидантным средствам возник в середине 90-х гг. и в значительной степени был обусловлен появлением такого пищевого феномена, как «французский парадокс», который позднее был распространен и на народы других средиземноморских стран [22]. Целый ряд эпидемиологических исследований показал, что у жителей этих стран, несмотря на потребление жирной пищи, зачастую невысокую физическую активность и распространенность курения, особенности питания прямо коррелируют с относительно невысоким процентом сердечно-сосудистых заболеваний и высокой продолжительностью жизни. Изучение диеты людей, населяющих эти страны, показало наличие в их рационе значительного количества разнообразных флаво-

ноидных соединений, главным образом в овощах, фруктах, винограде и красном вине [29, 34, 50, 51, 70, 74]. В последние годы появились основания говорить об аналогичном «азиатском парадоксе», характерном для народов, населяющих Японию и другие страны Юго-Восточной Азии, который обусловлен потреблением рыбы и морепродуктов, а также ряда пищевых продуктов растительного происхождения, в первую очередь сои [66, 87]. При этом принято считать, что наибольшую роль в многообразном влиянии флавоноидов на организм человека играют их антиоксидантные свойства.

Многочисленные исследования, проведенные в основном *in vitro*, показывают, что флавоноиды могут быть отнесены к неферментным антиоксидан-

там, способным прямо или косвенно ослаблять или предупреждать клеточные повреждения, вызываемые свободными радикалами [70]. По предложению авторов цитированной работы, флавоноиды могут осуществлять свой антиоксидантный эффект с помощью следующих механизмов:

- 1) прямого scavенирования реактивных форм кислорода (РФК);
- 2) активации антиоксидантных ферментов организма;
- 3) хелатирования переходных металлов;
- 4) редукции альфа-токоферильных радикалов;
- 5) ингибирования оксидаз;
- 6) ослабления оксидативного стресса, вызываемого оксидом азота и реактивными формами азота (РФА);
- 7) повышения плазменного уровня мочевой кислоты;
- 8) усиления антиоксидантных свойств низкомолекулярных антиоксидантов.

Не отвергая всех перечисленных выше возможностей, остановимся, по нашему мнению, на основных.

Способность ряда флавоноидов «гасить» РФК связана с особенностями их химического строения и обусловлена необходимостью либо отдавать атом водорода, либо выступать в качестве доноров электрона. В результате этих реакций происходит нейтрализация биологической активности свободных радикалов. Сами же антиоксиданты, отдав атом водорода или электрон, приобретают радикальные свойства. Правда, образовавшиеся при этом радикальные молекулы значительно более стабильны в сравнении с нейтрализуемыми радикалами, что делает их взаимодействие с субстратом маловероятным [8, 56, 57]. Высказывается и иная точка зрения, согласно которой образующийся промежуточный феноксильный радикал не стабилен, и одной из особенностей этого соединения является способность к делокализации неспаренного электрона, то есть к его перемещению в ароматическое кольцо с образованием ряда резонансных структур. Так что

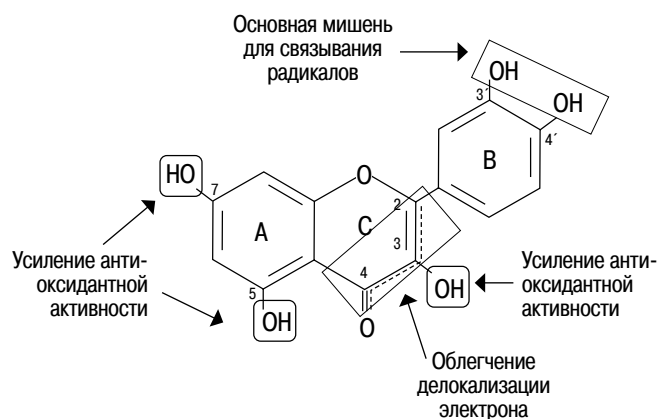


Рис. 1. Основные мишени в молекуле флавоноидов, обеспечивающие связывание свободных радикалов, на примере химической структуры кверцетина (модификация J.B. Bubols et al., 2013)

образовавшийся радикал может реагировать с другими свободными радикалами [1]. Не исключено, что это обуславливает возникновение у ряда флавоноидов прооксидантных свойств. Существует мнение, согласно которому большое значение имеет механизм отдачи водорода, поскольку процесс переноса электрона требует привлечения более высокой энергии [59]. При этом способность scavенировать свободные радикалы во многом определяется количеством гидроксильных групп и их расположением в молекуле флавоноида. Учитывая изложенное, отметим, что принятый сегодня консенсус относительно связывания флавоноидами свободных радикалов впервые в виде гипотезы был предложен W. Bors et al. еще в 1990 г. [17] и впоследствии поддержан многими исследователями [20, 52, 54, 69, 70]. Выдвинутая гипотеза включает три основных момента, представленных на рис. 1.

Из рис. 1 следует следующее.

1. Гидроксильные группы 3' и 4', связанные с кольцом В (катехольная структура), являются основной характеристикой флавоноидов, необходимой для «гашения» свободных радикалов. При этом гидроксильные группы именно у В-кольца, очевидно, играют наиболее значимую роль в scavенировании РФК, тогда как аналогичные заместители в кольцах А и С оказывают значительно меньшее антиоксидантное действие [13, 21, 82].
2. Двойная связь 2, 3 в конъюгации с 4-оксо(кетонной)-группой в кольце С обеспечивает делокализацию электрона от кольца В. Делокализация электронов ароматических колец, как известно, стабилизирует образующиеся радикалы (по-видимому, благодаря резонансу), когда флавоноид взаимодействует с РФК [20].
3. Гидроксильные группы, связанные с кольцами А и С в 3, 5 и 7-м положениях, вместе с 4-оксогруппой также повышают антиоксидантную активность флавоноидов, вероятно обеспечивая связывание водорода с оксогруппой [28, 70].

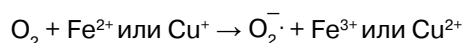
В экспериментах *in vitro* установлено, что именно те флавоноиды, которые обладают всеми отмеченными особенностями химической структуры, отличаются наибольшей способностью гасить свободные радикалы. К таким полифенолам относятся флавонолы кверцетин и мирцетин, а также флаван-3-олы эпикатехина галлат, эпигаллокатехин и особенно эпигаллокатехина галлат. При этом значительное участие в усилении антирадикальной активности принимает гидроксильная группа в положении 3, которая придает дополнительную активность флавонолам и флаван-3-олам [8].

В то же время можно считать установленным, что антиоксидантная активность присуща агликонам, но не гликозилированным или конъюгированным дериватам флавоноидов. По-видимому, такое различие обусловлено тем, что в процессе гликозилирования, глюкуронизации, сульфатирования и метилирования происходит замещение гидроксильных

групп у ароматических колец, ответственных за взаимодействие со свободными радикалами, что, вероятно, снижает антиоксидантную активность [75].

Большое значение в механизме антиоксидантного действия флавоноидов имеет хелатирование металлов переменной валентности. Флавоноиды легко связывают ионы таких переходных металлов, как железо и медь, которые, иницируя перекисное окисление, способствуют образованию свободных радикалов. По мнению многих исследователей, хелатирование металлов является наиболее эффективным путем подавления процессов перекисного окисления флавоноидами [8].

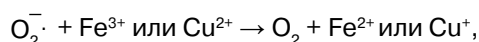
Хорошо известно, что генерация супероксидного радикала O_2^- происходит под влиянием металлосодержащих NAD(P)H-зависимых оксидаз и цитоплазматической ксантинооксидазы, локализованных во многих клетках. При этом кислород может превращаться в супероксидный радикал по уравнению:



Образовавшийся супероксидный радикал быстро дисмутирует с образованием перекиси водорода H_2O_2 , которая, не будучи свободным радикалом, быстро превращается в самый реактивный из оксидрадикалов — гидроксильный радикал $HO\cdot$ в соответствии с известной реакцией Фентона:



Исходным материалом для этой же реакции служит избыток железа, превышающий количество Fe^{3+} , находящееся в связанном состоянии с трансферрином, протеином, транспортирующим железо [39]. Кроме того, супероксидный радикал обеспечивает высвобождение Fe^{2+} из ферритина и содержащих кластеры железо-сера дегидратаз путем редуцирования Fe^{3+} , а также способен редуцировать железо или медь в реакции:



поставляя редуцированные ионы переходных металлов для реагирования с H_2O_2 [20, 67].

Индукцируемый ионами переменной валентности оксидативный стресс ведет к массивному повреждению белков, липидов и особенно ядер клеток, где молекулы ДНК координатно связаны с различными переходными металлами. Это вызывает разделение нитей ДНК, повреждение нуклеотидов с последующей злокачественной трансформацией, генные мутации либо апоптоз. При этом наибольшее неблагоприятное воздействие производит иницируемое металлами образование гидроксильного радикала $HO\cdot$ [38, 40, 42, 64, 67, 68, 74].

Исходя из вышеизложенного, связывание переходных металлов, главным образом железа и меди, катализирующих образование свободных радикалов и за счет этого иницирующих оксидативный стресс, представляет собой важную антиоксидантную стратегию. Поэтому способность флавоноидов

хелатировать металлы переменной валентности оказывается весьма важной.

Сегодня хорошо известно, что многие флавоноиды способны хелатировать переходные металлы, хотя этот механизм менее изучен, чем прямое сквенирование свободных радикалов. Несмотря на существенные различия в хелатирующей металлы активности, выявлен ряд общих молекулярных аспектов рассматриваемого эффекта [35, 67]. Интересно, что в этих реакциях задействованы те же компоненты химической структуры (главным образом катехольная структура кольца В), что и при сквенировании свободных радикалов (рис. 2).

1. По-видимому, важную роль играют гидроксильные группы 3' и 4' в кольце В.
2. Отмечается значение гидроксильных групп в положениях 3 и 5 и 4-оксогруппы в кольце С [8, 35, 85].

В качестве доказательства приведенных закономерностей отметим, что при использовании циклической вольтамперометрии флавоноиды лютеолин и кверцетин, содержащие в молекуле катехольный фрагмент, оказались более мощными ингибиторами реакции Фентона, чем байцилеин и нарингенин, в структуре которых этот фрагмент отсутствует [26]. Ведущая роль в связывании железа катехольной группы у кольца В в сравнении с кольцом А была подтверждена и другими исследователями [14, 19, 43]. Роль гидроксильных групп в 3-м и 5-м положениях в комплексе с 4-оксогруппой в процессе хелатирования железа также была продемонстрирована в эксперименте [47]. Из изученных флавоноидов наибольшей способностью хелатировать металлы, по-видимому, обладает кверцетин. Это полифенольное соединение, как и его сульфоновые водорастворимые дериваты, оказалось способным образовывать комплексы не только с железом и медью, но и с другими металлами, в том числе с кадмием и хромом, что позволяет считать кверцетин не только антиоксидантом, но и потенциальным антидотом при интоксикации солями соответствующих металлов [27, 49, 70, 80]. Достаточно высокая антиоксидантная активность была обнаружена также при образовании металлокомплексов у рутина, катехина, нарингенина, морина и ряда других флавоноидов [8].

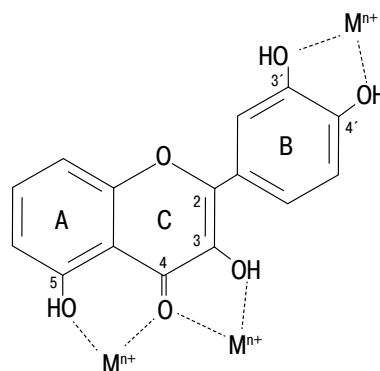


Рис. 2. Предположительные мишени в молекуле флавоноидов для взаимодействия с металлами переменной валентности (по Procházková D. et al., 2011). М — переходный металл

Другим механизмом, обеспечивающим благоприятное воздействие флавоноидов на течение оксидативного стресса, является повышение активности антиоксидантных ферментов, которые, как известно, представляют собой основной фактор защиты от электрофильных токсикантов. В многочисленных экспериментах *in vitro* показана способность этих растительных полифенолов активировать NAD(P)H: хинон оксиредуктазу (NQO1), супероксиддисмутазу (SOD), каталазу (KAT), гемоксигеназу-1 (HO-1), а также три связанных с глутатионом фермента: глутатионпероксидазу (GPx), глутатионредуктазу (GR), глутатион-S-трансферазу (GST). Это обеспечивает наличие у флавоноидов непрямого антиоксидантного эффекта [41]. Такое действие было выявлено у представителей всех подклассов флавоноидов [35, 64, 135, 186]. Четкий антиоксидантный эффект в разнообразных клеточных культурах, экспрессирующих такие антиоксидантные ферменты, как GPx, GR, GST, SOD, KAT, был зафиксирован при использовании кверцетина, катехина, мирцетина, лютеолина, нарингенина, апигенина, тангеретина, генистеина, флавоноидов какао [18, 44, 46, 58, 63, 65].

Сегодня доминирует мнение, согласно которому стимуляция флавоноидами активности антиоксидантных ферментов обусловлена главным образом взаимодействием с таким транскрипционным фактором, как Nrf2. Редокс-чувствительная сигнальная система Keap1/Nrf2/ARE контролирует внутриклеточный гомеостаз через экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла, обеспечивая участие в процессах воспаления, канцерогенеза и защиты от различных стрессовых воздействий, в том числе активных форм кислорода [2–6, 10, 12, 28, 33, 79, 84].

Через вовлечение этого сигнального пути происходит активация экспрессии генов антиоксидантных ферментов за счет взаимодействия транскрипционного фактора Nrf2 с цис-регуляторным антиоксидант-респонсивным элементом (ARE). Цистеиновые остатки, присутствующие в структуре Keap1, по-видимому, функционируют как редокс-сенсоры, а некоторые флавоноиды, возможно, могут химически модифицировать цистеиновые тиолы. Это облегчает диссоциацию Nrf2 от Keap1 и последующую его ядерную транслокацию [31, 41]. Попав в ядро, фактор Nrf2, как установлено, связывается с ARE в промоторном регионе многих генов, в том числе и кодирующих экспрессию антиоксидантных ферментов в некоторых типах клеток и тканей [5, 11, 15, 40, 62, 89]. В экспериментах на нокаутных по Nrf2 мышях была зафиксирована нарушенная индукция детоксицирующих ферментов и редокс-регулирующих протеинов [73].

В то же время нельзя не отметить, что одновременно многие флавоноиды обладают определенной прооксидантной активностью. Не исключено, что эта активность пропорциональна количеству гидро-

ксильных групп в молекулах флавоноидов [23]. Именно наличие гидроксильных групп у ароматических колец, по-видимому, способствует повышенному образованию гидроксильного радикала из перекиси водорода через реакцию Фентона [70]. Кроме того, показано, что ряд флавоноидов способен редуцировать переходные металлы: Fe³⁺ в Fe²⁺ и Cu²⁺ в Cu⁺, что, как известно, обеспечивает поставку редуцированных металлов для последующего взаимодействия с H₂O₂ [33, 68, 76]. Прооксидантные свойства были выявлены у байкалеина, эпигаллокатехина (EGC), эпигаллокатехина галлата (EGCG), кверцетина, морины, мирцетина, катехина и других флавоноидов [67, 71, 77, 88]. Интересно, что одни и те же флавоноиды могут проявлять как антиоксидантные, так и прооксидантные свойства, что, по-видимому, определяется используемой концентрацией и различными условиями окружающей среды [55, 67, 68, 70, 86, 88].

Как относиться к выявленным прооксидантным свойствам флавоноидов? Этот вопрос остается недостаточно изученным и весьма дискуссионным. При этом высказываемые мнения колеблются от необходимости относиться с осторожностью к использованию больших доз флавоноидов до довольно спокойного отношения к их прооксидантной активности [32, 53, 70]. Нельзя не отметить, что существует точка зрения, согласно которой небольшая степень оксидативного стресса, индуцируемая некоторыми флавоноидами, активирует антиоксидантную защиту организма путем стимулирования экспрессии антиоксидантных ферментов и таким образом усиливает процессы клеточной трансдукции и общей цитопротекции [7, 37, 70].

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФЛАВОНОИДОВ

Наряду с антиоксидантным действием противовоспалительная активность многих флавоноидов хорошо известна на протяжении многих лет. Более того, не вызывает сомнений, что отмеченные эффекты зачастую тесно связаны, поскольку имеют ряд общих патофизиологических механизмов [7]. В последние годы опубликован ряд серьезных монографий и статей обзорного характера, посвященных противовоспалительному действию флавоноидов [1, 8]. Поэтому, не углубляясь в детали, отметим лишь ряд существенных моментов, имеющих, на наш взгляд, большое значение, в контексте рассматриваемой проблемы.

Хорошо известно, что в ответ на повреждение ткани эндотелиальными клетками, лейкоцитами и макрофагами индуцируется высвобождение ряда провоспалительных факторов, которые запускают каскад тканевых реакций. Активируется хемотаксис, повышается проницаемость капилляров, формируется очаг воспаления, в пределах которого осуществ-

вляются фагоцитоз, лизис, апоптоз с последующим восстановлением разрушенной ткани. Важную роль в этом сложном каскаде реакций играют так называемые медиаторы воспаления, к которым относятся разнообразные провоспалительные хемокины и цитокины, такие как фактор некроза опухоли — альфа (TNF- α), интерлейкины-1, -6, -8 (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8), РФК, адгезивные молекулы эндотелия (ICAM-1, VCAM-1), интегрины и другие физиологически активные соединения. Эти медиаторы воспаления индуцируют адгезию лейкоцитов к эндотелиальным клеткам, высвобождение протеаз, образование метаболитов арахидоновой кислоты, активацию процесса свертывания крови. Особое значение при этом имеет внутриклеточная трансдукция с активацией факторов и путей транскрипции, таких как NF- κ B, Keap1/Nrf2/ARE, MAPK-киназы, определяющих уровень экспрессии провоспалительных генов, обеспечивающих формирование воспалительной реакции [1, 8, 52].

NF- κ B представляет собой гетеродимерный комплекс белков, которые находятся в цитоплазме и неактивны, будучи связанными со специфическим ингибиторным белком I κ B. В условиях активации комплекса происходит фосфорилирование белка I κ B с помощью специфических киназ IKK и последующей протеасомной деградации. Высвободившийся активный NF- κ B поступает в ядро клетки, где связывается со специфической таргетной последовательностью ДНК, определяя процесс транскрипции контролируемых генов [2, 45, 86]. Сегодня ясно, что фактор NF- κ B играет ключевую и многогранную роль в развитии воспалительной реакции. С одной стороны, будучи стимулированным рядом провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α , ИЛ-6 и др., NF- κ B активирует образование арахидоновой кислоты с последующим увеличением синтеза простагландинов, тромбоксанов, простаглицлинов и лейкотриенов — активных индукторов воспалительного процесса [8]. Следует подчеркнуть, что эффективность данного каскада обеспечивается активностью таких ферментов, как фосфолипаза A2, циклооксигеназа (ЦОГ) и липоксигеназа (ЛОГ), которые наряду с NF- κ B служат многообещающими мишенями для действия флавоноидов. И действительно, показано, что целый ряд флавоноидов ингибирует указанные ферменты, нарушая образование эйкозаноидов и ослабляя тем самым развитие воспалительной реакции [1, 8, 25, 36, 52]. С другой стороны, установлено, что фактор транскрипции NF- κ B таргетирует гены хемокинов, цитокинов, иммунных рецепторов, молекул клеточной адгезии, инициирующие мощный провоспалительный эффект [81]. Поэтому способность флавоноидов ингибировать транскрипционный фактор NF- κ B является одним из многообещающих подходов к объяснению механизма противовоспалительного действия этих растительных полифенолов.

Очевидно, нельзя не отметить и возможную роль в развитии воспаления уже упоминавшейся сиг-

нальной системы Keap1/Nrf2/ARE, контролирующей состояние внутреннего гомеостаза посредством регулирования различных этапов клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза [3, 9, 61]. Регуляторная роль указанной системы в отношении развития воспалительного процесса четко прослеживается в экспериментах на нокаутных по Nrf2 животных [6]. Не исключено, что противовоспалительное действие различных флавоноидов, в том числе флаванолов, флавонолов, изофлавонов, обусловлено активацией системы Keap1/Nrf2/ARE [3, 79].

Подводя итоги обзора, отметим, что сегодня не вызывает сомнений благоприятное влияние пищевых флавоноидов на организм человека, обусловленное их высокой биологической активностью. В последние десятилетия установлено, что рассмотренными выше видами действия биологическая активность флавоноидов отнюдь не исчерпывается. Кроме антиоксидантного и противовоспалительного эффектов известны такие виды активности, как противоопухолевая, противоишемическая, антигипертензивная, противодиабетическая, противомикробная, противовирусная, антитромбогенная, эстрогенная, нейротропная и др. Это косвенно подтверждается огромным количеством эпидемиологических исследований, проведенных в последние годы. В то же время существует много проблем, препятствующих как целенаправленному клиническому применению флавоноидов, так и созданию на их основе индивидуальных высокоэффективных лекарственных препаратов. Первая из них определяется особенностями фармакокинетики флавоноидов. Подавляющее большинство выявленных видов фармакологической активности подтверждено в экспериментах *in vitro*, а достигнуть их адекватной концентрации в организме ввиду особенностей метаболизма удается далеко не всегда. К существенному же повышению дозировки большинство клиницистов относится с оправданной настороженностью по причине возможных и пока не установленных побочных эффектов. Кроме того, механизмы их фармакологического действия, учитывая современные подходы к требованиям доказательной медицины, нуждаются в дальнейшем углубленном комплексном изучении. И все же нам близок оптимистический взгляд на перспективу клинического применения флавоноидов, что, кроме выявленного многообразия биологической активности, обусловлено относительной дешевизной получения лекарственных препаратов и большой распространенностью этих пищевых полифенолов в окружающей нас, то есть близкой нам, природе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азарова О.В., Галактионова Л.П. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия // Химия растит. сырья. – 2012. – № 4. – С. 61–78. [Azarova OV,

- Galaktionova LP. Flavonoids: anti-inflammatory mechanism of action. *Khimiya rastitel'nogo syrya*. 2012;(4):61-78. (In Russ.)]
2. Герштейн Е.С., Щербаков А.М., Ошкина Н.Е., и др. Ключевые компоненты NF-κB-сигнального пути в опухолях больных раком молочной железы // Вестник ТГУ. – 2013. – Т. 18. – № 6. – С. 3292–3297. [Gerstein ES, Shcherbakov AM, Oshkina NE, et al. Key NF-κB system components in tumors of breast cancer patients. *Vestnik TGU*. 2013;18(6):3292-7. (In Russ.)]
 3. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Ткачев В.О. Редокс-чувствительная сигнальная система Keap1/Nrf2/ARE как фармакологическая мишень. Обзор // Биохимия. – 2013. – Т. 78. – № 1. – С. 27–47. [Zenkov NK, Meshchikova EB, Tkachev VO. Keap1/Nrf2/ARE redox-sensitive signaling system as a pharmacological target. The review. *Biokhimiya*. 2013;78(1):27-47. (In Russ.)]
 4. Лемза А.Е. Роль сигнальной системы антиоксидант — респонсивный элемент в механизмах модулирования воспаления фенольными антиоксидантами: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Новосибирск, 2014. [Lemza AE. *The role of the signaling system the antioxidant-responsive element in the mechanisms modulating inflammation by phenolic antioxidants*. [dissertation] Novosibirsk; 2014. (In Russ.)]
 5. Лехович В.В., Вавилин В.А., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный элемент. Обзор // Биохимия. – 2006. – Т. 71. – № 9. – С. 1183–1198. [Lyakhovich VV, Vavilin VA, Zenkov NK, Meshchikova EB. Active defense under oxidative stress. Antioxidant-responsive element. The review. *Biokhimiya*. 2006;71(9):1183-098. (In Russ.)]
 6. Меньщикова Е.Б., Ткачев В.О., Зенков Н.К. Редокс-чувствительная сигнальная система Nrf2/ARE и ее роль при воспалении // Мол. биол. – 2010. – Т. 44. – № 3. – С. 389–404. [Meshchikova EB, Tkachev VO, Zenkov NK. Redox-dependent signaling system Nrf2/ARE in inflammation. *Molekulyarnaya biologiya*. 2010;44(3):389-404. (In Russ.)]
 7. Родионов Г.Г., Хурцилава О.Г., Плужников Н.Н., и др. Оксидативный стресс и воспаление: патогенетическое партнерство. – СПб.: Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, 2012. [Rodionov GG, Khurtsilava OG, Pluzhnikov NN, et al. *Oxidative stress and inflammation: a pathogenetic partnership*. Saint Petersburg: Severo-Zapadnyi gosudarstvennyi meditsinskiy universitet im. I.I. Mechnikova; 2012. (In Russ.)]
 8. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. – Пушкино: Synchrobook, 2013. [Tarakhovskiy YuS, Kim YuA, Abdrasilov BS, Muzafarov E.N. *Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine*. Pushchino: Synchrobook; 2013. (In Russ.)]
 9. Ткачев В.О., Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Механизм работы сигнальной системы Nrf2/Keap1/ARE. Обзор // Биохимия. – 2011. – Т. 76. – № 4. – С. 502–519. [Tkachev VO, Meshchikova EB, Zenkov NK. Mechanism of the Nrf2/Keap1/ARE signaling system. The review. *Biokhimiya*. 2011;76(4):502-19. (In Russ.)]
 10. Турпаев К.Т. Роль фактора транскрипции AP-1 в интеграции внутриклеточных сигнальных систем // Мол. биол. – 2006. – № 40. – С. 945–961. [Turpaev KT. Role of transcription factor AP-1 in integration of cell signaling systems. *Molekulyarnaya biologiya*. 2006;(40):945-61. (In Russ.)]
 11. Турпаев К.Т. Сигнальная система Keap1-Nrf2. Механизм регуляции и значение для защиты клеток от токсического действия ксенобиотиков и электрофильных соединений. Обзор // Биохимия. – 2013. – Т. 78. – № 2. – С. 147–166. [Turpaev KT. Keap1-Nrf2 signaling pathway: mechanisms of regulation and role in protection of cells against toxicity caused by xenobiotics and electrophiles. The review. *Biokhimiya*. 2013;78(2):147-66. (In Russ.)]
 12. Чечушков А.В., Ткачев В.О., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Участие редокс-чувствительной сигнальной системы Keap1/Nrf2/ARE в дифференцировке и активации Т-лимфоцитов // Сиб. научн. мед. журнал. – 2012. – Т. 32. – № 5. – С. 21–27. [Chechushkov AV, Tkachev VO, Zenkov NK, Meshchikova EB. Redox-sensitive signaling system Keap1/Nrf2/ARE in differentiation and activation of T lymphocytes. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal*. 2012;32(5):21-7. (In Russ.)]
 13. Amić D, Davidović-Amić D, Bešlo D. SAR and QSAR of the antioxidant activity of flavonoids. *Curr Med Chem*. 2007;14(7):827-45. doi: 10.2174/092986707780090954.
 14. Arora A, Nair MG, Strasburg GM. Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Rad Biol Med*. 1998;24(9):1355-63. doi: 10.1016/S0891-5849(97)00458-9.
 15. Atia A, Alrawaiq N, Abdullah A. A review of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1); a multifunctional antioxidant enzyme. *J Appl Pharm Sci*. 2014;4(12):118-22. doi: 10.7324/JAPS.2014.41220.
 16. Bhamre S, Sahoo D, Tibshirani R. Gene expression changes induced by genistein in the prostate cancer cell line LNCaP. *Open Prost Cancer J*. 2010;3:86-98. doi: 10.2174/1876822901003010086.
 17. Bors W, Heller W, Michel C, Saran M. Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. In: Packer I, Glazer A.N., eds. *Methods in Enzymology*. San Diego: Academic Press; 1990;186. P. 343-55.
 18. Breinholt V, Lauridsen ST, Dragsted LD. Differential effects of dietary flavonoids on drug metabolizing and antioxidant enzymes in female rat. *Xenobiotica*. 1999;29(12):1227-40. doi: 10.1080/004982599237903.
 19. Brown JE, Khodr H, Hider RC, Rice-Evans C. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: Implications for their antioxidant properties. *Biochem J*. 1998;330(Pt3):1173-78. PMID: PMC1219258.
 20. Bubols GB, da Rocha VD, Medina-Remón A, et al. The antioxidant activity of coumarins and flavonoids. *Mini-Rev Med Chem*. 2013;13(3):318-34. doi: 10.2174/1389557511313030002.
 21. Burda S, Oleczek W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Agric Food Chem*. 2001;49(6):2774-79. doi: 10.1021/jf001413m. Epub. 2001 May 30.

22. Burr ML. Explaining the French paradox. *J R Soc Health*. 1995;115(4):217-19. PMID: 7562866.
23. Cao S, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure — activity relationships. *Free Radic Biol Med*. 1997;22(5):749-60. doi: 10.1016/S0891-5849(96)00351-6.
24. Chen LF, Greene WC. Shaping the nuclear action of NF-kappaB. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2004;5(5):392-401. doi: 10.1038/nrm1368.
25. Chen S. Natural products triggering biological targets — a review of the anti-inflammatory phytochemicals targeting the arachidonic acid pathway in allergy asthma and rheumatoid arthritis. *Curr Drug Targets*. 2011;12(3):288-301. doi: 10.2174/138945011794815347.
26. Cheng IF, Breen K. On the ability of four flavonoids, baicalein, luteolin, naringenin, and quercetin, to suppress the Fenton reaction of the iron-ATP complex. *BioMetals*. 2000;13(1):77-83. PMID: 10831228.
27. Chlebda E, Magdalan J, Merwid-Lad A, et al. Influence of water-soluble flavonoids, quercetin-5'-sulfonic acid sodium salt and morin-5'-sulfonic acid sodium salt, on antioxidant parameters in the subacute cadmium intoxication mouse model. *Exp Toxicol Pathol*. 2010;62(2):105-8. doi: 10.1016/j.etp.2009.02.118. Epub. 2009 Mar 17.
28. Croft KD. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Ann NY Acad Sci*. 1998;854:435-42. doi: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb09922.x.
29. de Lange DW, Verhoef S, Gorter G, et al. Polyphenolic grape extract inhibits platelet activation through PECAM-1: An explanation for the French paradox. *Alcohol Clin Exp Res*. 2007;31(8):1308-14. doi: 10.1111/j.1530-0277.2007.00439.x. Epub. 2007 Jun 9.
30. Ding W, Liu Y. Genistein attenuates genioglossus muscle fatigue under chronic intermittent hypoxia by down-regulation of oxidative stress level and up-regulation antioxidant enzyme activity through ERK1/2 signaling pathway. *Oral Dis*. 2011;17(7):677-84. doi: 10.1111/j.1601-0825.2011.01822.x. Epub. 2011 Jul 6.
31. Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Cole RN, et al. Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap 1 are the sensor regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(18):10908-13. doi: 10.1073/pnas.172398899. Epub. 2002 Aug 22.
32. Elbling L, Weiss RM, Teufelhofer O, et al. Green tea extract and (-)-epigallocatechin-3 gallate, the major tea catechin, exert oxidant but lack antioxidant activities. *FASEB J*. 2005;19(7):807-9. doi: 10.1096/fj.04-2915fje. Epub. 2005 Feb 28.
33. Flohe L, Brigelius-Flohé R, Saliou C, et al. Redox regulation of NF-kappa B activation. *Free Radic Biol Med*. 1997;22(6):1115-26. doi: 10.1016/S0891-5849(96)00501-1.
34. Galinski CN, Zwicker JI, Kennedy DR. Revisiting the mechanistic basis of the French Paradox: Red wine inhibits the activity of protein disulfide isomerase *in vitro*. *Thromb Res*. 2016;137:169-173. doi: 10.1016/j.thromres.2015.11.003. Epub. 2015 Nov 7.
35. Galleano M, Verstraeten SV, Oteiza PI, Fraga CG. Antioxidant actions of flavonoids: Thermodynamic and kinetic analysis. *Arch Biochem Biophys*. 2010;501(1):23-30. doi: 10.1016/j.abb.2010.04.005. Epub. 2010 Apr 11.
36. Garcia-Lafuente A, Guillaumon E, Villares A, et al. Flavonoids as anti-inflammatory agents: Implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflamm Res*. 2009;58(9):537-52. doi: 10.1007/s00011-009-0037-3. Epub. 2009 Apr 21.
37. Halliwell B. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and *in vivo* studies? *Arch Biochem Biophys*. 2008;476(2):107-12. doi: 10.1016/j.abb.2008.01.028. Epub. 2008 Feb 7.
38. Henle ES, Han Z, Tang N, et al. Sequence-specific DNA cleavage by Fe2+-mediated Fenton reaction has possible biological implications. *J Biol Chem*. 1999;274(2):962-71. doi: 10.1074/jbc.274.2.962. Epub. 1999 Jan 8.
39. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C. Two to tango: Regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell*. 2010;142(1):24-38. doi: 10.1016/j.cell.2010.06.028.
40. Hoffmann ME, Mello-Filho AC, Meneghini R. Correlation between cytotoxic effect of hydrogen peroxide and yield of DNA strand breaks in cells of different species. *Biochim Biophys Acta*. 1984;781(3):234-8. PMID: 6704399.
41. Hu M-L. Dietary polyphenols as antioxidants and anticancer agents: More questions than answers. *Chang Gung Med J*. 2011;34(5):449-60. PMID: 22035889.
42. Imlay JA, Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science*. 1988;240(4857):1302-9. doi: 10.1126/science.3287616. Epub. 1988 Jun 3.
43. Jovanovic SV, Steenken S, Hara Y, Simic MG. Reduction potentials of flavonoid and model phenoxyl radicals. Which ring in flavonoids is responsible for antioxidant activity? *J Chem Soc Perkin Transactions*. 1996;2(11):2497-2504. doi: 10.1039/P29960002497.
44. Jung UJ, Kim HJ, Lee JS, et al. Naringin supplementation lowers plasma lipids and enhances erythrocyte antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic subjects. *Clin Nutr*. 2003;22(6):561-8. doi: 10.1016/S0261-5614(03)00059-1.
45. Karin M, Yamamoto Y, Wang QM. The IKK NF-kappa B system: A treasure trove drug development. *Nat Rev Drug Discov*. 2004;3(1):17-26. doi: 10.1038/nrd1279.
46. Khan SG, Katiyar SK, Agarwal R, Mukhtar H. Enhancement of antioxidant and phase II enzymes by oral feeding of green tea polyphenols in drinking water to SKH-1 hairless mice: Possible role of cancer chemoprevention. *Cancer Res*. 1992;52(14):4050-2. Published July 1992.
47. Khokhar S, Apenten R.K.O. Iron binding characteristics of phenolic compounds: Some tentative structure-activity relations. *Food Chem*. 2003;81(1):133-40. doi: 10.1016/S0308-8146(02)00394-1.
48. Kobayashi T, Ohta T, Yamamoto M. Unique function of the Nrf2-Keap1 pathway in the inducible expression of antioxidant and detoxifying enzymes. *Methods Enzymol*. 2004;378:273-86. doi: 10.1016/S0076-6879(04)78021-0.
49. Kopacz M, Kuźniar A. Complexes of cadmium (II), mercury (II), and lead (II) with quercetin-5'-sulfonic acid (QSA). *Pol J Chem*. 2003;77:1777-86.
50. Lachman J, Sulc M. Antioxidants and antioxidant activity of red and white wines affected by winemaking and other extrinsic and intrinsic factors. In: O'Byrne P. ed. Red wine

- and health. New York: Nova Science Publishers; 2009. P. 91-141.
51. Lachman J, Sulc M, Schilla M. Comparison of the total antioxidant status of Bohemian wines during the wine-making process. *Food Chem.* 2007;103(3):802-7. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.09.024.
 52. Lago JHG, Toledo-Arruda AC, Mernak M, et al. Structure-activity association of flavonoids in lung diseases. *Molecules.* 2014;19(3):3570-95. doi: 10.3390/molecules19033570.
 53. Lambert JD, Sang S, Yang CS. Possible controversy over dietary polyphenols: Benefits vs risks. *Chem Res Toxicol.* 2007;20(4):583-5. doi: 10.1021/tx7000515.
 54. Landete JM. Updated knowledge about polyphenols: Functions, bioavailability, metabolism, and health. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2012;52(10):936-48. doi: 10.1080/10408398.2010.513779.
 55. Laughton MJ, Halliwell B, Evans PJ, Hoult JR. Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin: Effects of lipid peroxidation, hydroxyl radical generation and bleomycin-dependent damage to DNA. *Biochem Pharmacol.* 1989;38(17):2859-64. PMID: 2476132.
 56. Leopoldini M, Marino T, Russo N, Toscano M. Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer. *J Phys Chem A.* 2004;108(22):4916-22. doi: 10.1021/jp037247d.
 57. Leopoldini M, Russo N, Toscano M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chem.* 2011;125(2):288-306. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.08.012.
 58. Leung HWC, Kuo CL, Yang WH, et al. Antioxidant enzymes activity involvement in luteolin-induced human lung squamous carcinoma CH27 cell apoptosis. *Eur J Pharmacol.* 2006;534(1-3):12-8. doi: 10.1016/j.ejphar.2006.01.021. Epub. 2006 Feb 15.
 59. Li AN, Li S, Zhang YJ, et al. Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients.* 2014;6(12):6020-47. doi: 10.3390/nu6126020.
 60. Lionetto MG, Giordano ME, Calisi A, et al. Effect of the daily ingestion of a purified anthocyanin extract from grape skin on rat serum antioxidant capacity. *Physiol Res.* 2011;60(4):637-45. PMID: 21574762. Epub. 2011 May 16.
 61. Magesh S, Chen Y, Hu L. Small molecule modulators of Keap1-Nrf2-ARE pathway as potential preventive and therapeutic agents. *Med Res Rev.* 2012;32(4):687-726. doi: 10.1002/med.21257. Epub. 2012 May 1.
 62. Malloy MT, McIntosh DJ, Walters TS, et al. Trafficking of the transcription factor Nrf2 to promyelocytic leukemia-nuclear bodies implications for degradation of NRF2 in the nucleus. *J Biol Chem.* 2013;288(20):14569-83. doi: 10.1074/jbc.M112.437392. Epub. 2013 Mar 29.
 63. Martin MÁ, Serrano ABG, Ramos S, et al. Cocoa flavonoids up-regulate antioxidant enzyme activity via the ERK1/2 pathway to protect against oxidative stress-induced apoptosis in HepG2 cells. *J Nutr Biochem.* 2010;21(3):196-205. doi: 10.1016/j.jnutbio.2008.10.009. Epub. 2009 Feb 5.
 64. Mello-Filho AC, Meneghini R. Iron is the intracellular metal involved in the production of DNA damage by oxygen radicals. *Mutat Res.* 1991;251(1):109-13. doi: 10.1016/0027-5107(91)90220-I.
 65. Nagata H, Takekoshi S, Takagi T, Honma T, Watanabe K. Antioxidative action of flavonoids, quercetin and catechin, mediated by the activation of glutathione peroxidase. *Toikai J Exp Clin Med.* 1999;24(1):1-11. PMID: 10530620.
 66. Nagura J, Iso H, Watanabe Y, Maruyama K, et al. Fruit, vegetable and bean intake and mortality from cardiovascular disease among Japanese men and women: The JACC Study. *Br J Nutr.* 2009;102(2):285-92. doi: 10.1017/S0007114508143586. Epub. 2009 Jan 13.
 67. Perron NR, Brumaghim JL. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochem Biophys.* 2009;53(2):75-100. doi: 10.1007/s12013-009-9043-x.
 68. Perron NR, Garcia CR, Pinzón JR, et al. Antioxidant and pro-oxidant effects of polyphenol compounds on copper-mediated DNA damage. *J Inorg Biochem.* 2011;105(5):745-53. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2011.02.009. Epub. 2011 Feb 26.
 69. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod.* 2000;63(7):1035-42. doi: 10.1021/np9904509. Epub. 2000 May 27.
 70. Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia.* 2011;82(4):513-23. doi: 10.1016/j.fitote.2011.01.018. Epub. 2011 Jan 28.
 71. Puppo A. Effect of flavonoids on hydroxyl radical formation by Fenton-type reactions: Influence of the iron chelator. *Phytochemistry.* 1992;31(1):85-88. doi: 10.1016/0031-9422(91)83011-9.
 72. Rai P, Wemmer DE, Linn S. Preferential binding and structural distortion by Fe²⁺ at RGGG-containing DNA sequences correlates with enhanced oxidative cleavage at such sequences. *Nucl Acid Res.* 2005;33(2):497-510. doi: 10.1093/nar/gki192.
 73. Ramos S. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *J Nutr Biochem.* 2007;18(7):427-42. doi: 10.1016/j.jnutbio.2006.11.004. Epub. 2007 Feb 23.
 74. Ramos-Gomez M, Kwak MK, Dolan PM, et al. Sensitivity of carcinogenesis in increased and chemoprotective efficacy of enzyme inducers is lost in nrf2 transcription factor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98(6):3410-15. doi: 10.1073/pnas.051618798.
 75. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and French paradox for coronary heart disease. *Lancet.* 1992;339(8808):1523-6. doi: 10.1016/0140-6736(92)91277-F. Epub. 1992 Jun 20.
 76. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med.* 1996;20(7):933-56. doi: 10.1016/0891-5849(95)02227-9.
 77. Ryan P, Hynes MJ. The kinetics and mechanisms of the complex formation and antioxidant behaviour of the polyphenols EGCg and ECG with iron (III). *J Inorg Biochem.* 2007;101(4):585-93. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2006.12.001. Epub. 2006 Dec 12.

78. Schweigert N, Zehnder AJB, Eggen RIL. Clinical properties of catechol and their molecular modes of toxic action in cells, from microorganisms to mammals. *Envir Microbiol.* 2001;3(2):81-91. doi: 10.1046/j.1462-2920.2001.00176.x.
79. Shih PH, Yeh CT, Yen GC. Anthocyanins induce activation of phase II enzymes through the antioxidant response element pathway against oxidative stress-induced apoptosis. *J Agric Food Chem.* 2007;55(23):9427-35. doi: 10.1021/jf071933i. Epub. 2007 Oct 13.
80. Surh YJ. NF-kappa B and Nrf2 as potential chemopreventive targets of some anti-inflammatory and antioxidative phytonutrients with anti-inflammatory and antioxidative activities. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2008;17(Suppl 1):269-72. PMID: 18296353.
81. Szelag A, Magdalan J, Kopacz M, et al. Assessment of efficacy of quercetin-5'-sulfonic acid sodium salt in the treatment of acute chromium poisoning: Experimental studies. *Pol J Pharmacol.* 2003;55(6):1097-1103. PMID: 14730106.
82. Tak PP, Firestein GS. NF-kappaB: A key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest.* 2001;107(1):7-11. doi: 10.1172/JCI11830.
83. Taubert D, Breitenbach T, Lazar A, et al. Reaction rate constants of superoxide scavenging by plant antioxidants. *Free Radic Biol Med.* 2003;35(12):1599-1607. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2003.09.005.
84. Tusi SK, Ansari N, Amini M, et al. Attenuation of NF-kappaB and activation of Nrf2 signaling by 1,2,4-triazine derivatives, protects neuron-like PC12 cells against apoptosis. *Apoptosis.* 2010;15(6):738-51. doi: 10.1007/s10495-010-0496-6.
85. van Acker SA, van den Berg DJ, Tromp MN, et al. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radic Biol Med.* 1996;20(3):331-42. doi: 10.1016/0891-5849(95)02047-0.
86. Wilms LC, Kleinjans JC, Moonen EJ, Briedé JJ. Discriminative protection against hydroxyl and superoxide anion radicals by quercetin in human leucocytes *in vitro*. *Toxicol In Vitro.* 2008;22(2):301-7. doi: 10.1016/j.tiv.2007.09.002. Epub. 2007 Sep 14.
87. Yamori Y. Food factors for atherosclerosis prevention: Asian perspective derived from analyses of worldwide dietary biomarkers. *Exp Clin Cardiol.* 2006;11(2):94-8. PMID: PMC2274856.
88. Yen GC, Duh PD, Tsai HL, Huang SL. Pro-oxidative properties of flavonoids in human lymphocytes. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2003;67(6):1215-22. doi: 10.1271/bbb.67.1215.
89. Zhang DD. The Nrf2-Keap1-ARE signaling pathway: The regulation and dual function of Nrf2 in cancer. *Antioxid Redox Signal.* 2010;13(11):1623-6. doi: 10.1089/ars.2010.3301. Epub. 2010 Aug 23.

◆ Информация об авторе

Яков Федорович Зверев — д-р мед. наук, профессор, кафедра фармакологии. ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Барнаул. E-mail: zver@agmu.ru.

◆ Information about the author

Yakov F. Zverev — Dr. Med. Sci, Professor, Department of Pharmacology. Altai State Medical University, Barnaul, Russia. E-mail: zver@agmu.ru.



Перспективы применения веществ флавоноидного ряда при фиброзе легкого (обзор экспериментальных исследований)

Е. А. Губарева[✉], А. Л. Семенов

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

✉ gubareva1984@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Фиброз легкого развивается как спонтанно, так и вследствие воздействия повреждающих факторов, включая лучевую и химиотерапию, инфекционные заболевания, вдыхание вредных веществ и твердых частиц. При этом происходит нарушение нормальной репарации тканей: вместо регенерации нормальных клеток легкого происходит замещение поврежденной ткани фиброзной, состоящей из плотных коллагеновых волокон. Этот процесс ведет к утрате эластичности легочной ткани и нарушению ее функции, что существенно снижает качество жизни пациентов. Поиск средств для лечения интерстициальных фиброзирующих заболеваний легкого остается актуальной задачей, т. к. существующие антифибротические препараты лишь замедляют их прогрессирование и обладают побочными эффектами, существенно снижающими качество жизни пациентов. Считается, что природные вещества полифенольной природы, в частности, флавоноиды, могут применяться для лечения фиброза легкого. Флавоноиды, присутствующие в различных фруктах, овощах, чае и вине, демонстрируют широкий спектр биологических активностей. Они обладают антиоксидантными, противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами, что делает их перспективными для лечения различных заболеваний, включая фиброз легкого. Некоторые исследования показали, что флавоноиды могут ингибировать активацию миофибробластов и продукцию коллагена, что непосредственно связано с процессом фиброобразования. Флавоноиды нетоксичны и способны регулировать процессы, связанные с развитием фиброза: окислительный стресс, воспаление, пролиферацию и дифференцировку клеток. На сегодняшний день накоплено большое количество экспериментальных данных, подтверждающих антифибротическое действие флавоноидов. В последние годы проводятся клинические исследования, направленные на изучение эффективности и безопасности флавоноидов у пациентов с фиброзом легкого. Например, исследуются кверцетин и куркумин, которые показали обнадеживающие результаты в снижении маркеров воспаления и фиброза в легких. Однако основным препятствием для широкого внедрения флавоноидных веществ в клиническую практику остается их низкая биодоступность при пероральном применении и быстрый метаболизм. В данной работе проанализированы данные литературы о влиянии флавоноидов на развитие фиброза легкого в экспериментах и в клинических исследованиях, обсуждаются перспективы улучшения их биодоступности с помощью современных систем доставки (наночастицы, липосомы и др.), или использования лекарственных форм для местного применения.

Ключевые слова: фиброз легкого, флавоноиды, экспериментальные модели

Для цитирования: Губарева Е. А., Семенов А. Л. Перспективы применения веществ флавоноидного ряда при фиброзе легкого (обзор экспериментальных исследований). Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(4): 46-57. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-4-6>, <https://elibrary.ru/hfikew>

Для корреспонденции: Губарева Екатерина Александровна – к.б.н., старший научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Адрес: 197758, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68

E-mail: gubareva1984@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9212-6086>

SPIN: 5556-8242, AuthorID: 895429

ResearcherID: AAD-2072-2020

Scopus Author ID: 56909987000

Финансирование: финансирование работа была поддержана грантом РНФ № 22-25-20177 и грантом РНФ (Санкт-Петербургский научный фонд) № 50/2022

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Статья поступила в редакцию 07.11.2023; одобрена после рецензирования 20.07.2024; принята к публикации 28.10.2024

© Губарева Е. А., Семенов А. Л., 2024

Prospects for the use of flavonoid substances in pulmonary fibrosis (review of experimental studies)

E. A. Gubareva✉, A. L. Semenov

N. N. Petrov National Medicine Research Center of Oncology, St. Petersburg, Russian Federation

✉ gubareva1984@gmail.com

ABSTRACT

Pulmonary fibrosis develops both spontaneously and as a result of lung damage by radiotherapy and chemotherapy, infectious diseases, and inhalation of harmful substances and particulate matter. In this case, normal tissue repair is disturbed: instead of regeneration of normal lung cells, the damaged tissue is replaced by fibrotic one consisting of dense collagen fibers. This leads to loss of lung tissue elasticity and impairment of its function, which significantly reduces the quality of patients' lives. The search for drugs for interstitial fibrotic lung diseases remains an urgent task, since the existing antifibrotic drugs only slow down disease progression and have side effects that significantly reduce the patients' quality of life. It is believed that natural polyphenolic substances, in particular flavonoids, can be used for the treatment of pulmonary fibrosis. Flavonoids present in various fruits, vegetables, tea and wine show a wide range of biological activities. They have antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulatory properties, making them promising for the treatment of various diseases, including pulmonary fibrosis. Some studies have shown that flavonoids can inhibit myofibroblast activation and collagen production, which is directly related to the fibrotic process. Flavonoids are safe and can influence the hallmarks of fibrosis: oxidative stress, inflammation, cell proliferation and differentiation. To date, a large amount of experimental data confirming the antifibrotic effect of flavonoids has been accumulated. In recent years, clinical studies have been conducted to investigate the efficacy and safety of flavonoids in patients with pulmonary fibrosis. For example, quercetin and curcumin are being explored and have shown encouraging results in reducing markers of inflammation and fibrosis in the lung. However, the main obstacle to the widespread introduction of flavonoid substances into clinical practice remains their low oral bioavailability and rapid metabolism. The experimental data on the effect of flavonoids on the development of pulmonary fibrosis is analyzed in this review. The perspectives for improving their bioavailability using modern delivery systems (nanoparticles, liposomes, etc.), as well as dosage forms for topical application, are discussed in this paperwork.

Keywords: pulmonary fibrosis, flavonoids, experimental models

For citation: Gubareva E. A., Semenov A. L. Prospects for the use of flavonoid substances in pulmonary fibrosis (review of experimental studies). South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(4): 46-57. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-4-6>, <https://elibrary.ru/hfikew>

For correspondence: Ekaterina A. Gubareva – Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, N. N. Petrov National Medicine Research Center for Oncology, St. Petersburg, Russian Federation

Address: 68 Leningradskaya str., Pesochny settlement, Saint Petersburg 197758, Russian Federation

E-mail: gubareva1984@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9212-6086>

SPIN: 5556-8242, AuthorID: 895429

ResearcherID: AAD-2072-2020

Scopus Author ID: 56909987000

Funding: the project was supported by RSF grant No. 22-25-20177 and RSF (St. Petersburg Science Foundation) grant No. 50/2022

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article

The article was submitted 07.11.2023; approved after reviewing 20.07.2024; accepted for publication 28.10.2024

ВВЕДЕНИЕ

Спектр интерстициальных фиброзирующих заболеваний легкого достаточно широк, но все они приводят к постепенному снижению дыхательной функции, существенному снижению качества жизни пациентов и преждевременной смерти [1]. Продолжительность жизни после постановки диагноза при идиопатическом легочном фиброзе (ИЛФ) в среднем составляет 3–5 лет [2], а усредненная пятилетняя выживаемость при этом заболевании – 45,6 % [3]. Существующие методы лечения и зарегистрированные антифибротические препараты несколько замедляют прогрессирование заболевания и снижают уровень смертности, но имеют противопоказания и побочные действия, поэтому их длительное применение не всегда возможно [4, 5]. Поскольку заболевание может протекать в течение нескольких лет, поиск средств, способных затормозить или остановить прогрессирование фиброза легкого (ФЛ) и безопасных при долговременном применении, является актуальной задачей. В последние годы большое внимание в этой связи уделяется природным веществам полифенольной природы, в частности, флавоноидам.

Эти вещества содержатся в различных частях растений и являются важным компонентом средств традиционной медицины и функционального питания [6]. Флавоноиды нетоксичны и способны регулировать процессы, вовлеченные в развитие фиброза: окислительный стресс, воспаление, пролиферацию и дифференциацию клеток (в частности, эпителиально-мезенхимальный переход), межклеточные взаимодействия [7, 8]. На сегодняшний день накоплена существенная экспериментальная доказательная база, обосновывающая применение флавоноидов в качестве антифибротических агентов; кроме того, проведено несколько пилотных клинических испытаний на пациентах с ИЛФ [9, 10], однако широкому внедрению флавоноидных веществ в клиническую практику препятствует их низкая биодоступность. В связи с этим рассматриваются перспективы использования лекарственных форм для местного применения.

Цель исследования: проанализировать данные литературы о влиянии флавоноидных веществ на развитие фиброза легкого в экспериментах на лабораторных животных и в клинических исследованиях, обозначить перспективы повышения их биодоступности с помощью современных систем доставки.

Фиброз легкого: факторы риска, встречаемость, основные механизмы патогенеза

ФЛ может возникать как проявление некоторых системных заболеваний (системный склероз, ревматоидный артрит и др.), интерстициальных болезней легкого (неспецифическая интерстициальная пневмония, хронический пневмонит на фоне гиперчувствительности), как следствие вирусных и бактериальных инфекций. Эти заболевания обозначают как хронические интерстициальные фиброзирующие заболевания легкого с прогрессирующим течением [11]. Как отдельное заболевание выделяют ИЛФ – интерстициальную пневмонию без выясненных этиологических факторов [1]. К факторам риска развития ИЛФ относят курение, вдыхание твердых частиц, вирусные инфекции, синдром гастроэзофагеального рефлюкса, генетическую предрасположенность, применение некоторых лекарственных препаратов, ионизирующее излучение [2, 12].

В данной работе мы будем использовать термин «фиброз легкого» применительно ко всем прогрессирующим фиброзирующим интерстициальным заболеваниям легкого с уточнениями при необходимости.

Частота заболеваний, при которых происходит фибротизация легочной ткани, относительно невелика – согласно исследованию 2021 г., заболеваемость ИЛФ (на 100 000 населения в год) варьировала от 3,5 до 13 в странах Азиатско-Тихоокеанского региона, от 0,9 до 4,9 в Европе и от 7,5 до 9,3 в Северной Америке [11]. В России по данным на 2018 г. в среднем регистрировалось 7 новых случаев ИЛФ на 100 000 человек в год у женщин и 11 – у мужчин [2].

Частота прочих фиброзирующих интерстициальных болезней легкого в США составляет порядка 52 пациентов на 100 000 человек в год, из которых 33 случая – с прогрессирующим фенотипом [14]. Предполагается, что после эпидемии SARS-CoV19 эти цифры могут возрасти: после излечения коронавирусной инфекции у части пациентов наблюдается снижение дыхательной функции и изменения рентгенологической картины легких, сходных с таковой при ФЛ [15].

В норме повреждение эпителия репарируется за счет альвеолоцитов 2-го порядка, способных пролиферировать и дифференцироваться в альвеолоциты 1-го порядка, которые выстилают большую часть поверхности альвеол и осуществляют газообмен. При этом в очагах повреждений эпителиальные клетки выделяют профибротические фак-

торы, которые вызывают активацию резидентных фибробластов и дифференциацию их в миофибробласты [16]. Также миофибробласты образуются из циркулирующих костномозговых предшественников, эпителиальных и эндотелиальных клеток [17]. Основная функция данных клеток – синтез межклеточного матрикса, который необходим для восстановления ткани в месте повреждения, после чего в норме они подвергаются апоптозу, а избыточный внеклеточный матрикс расщепляется [18]. В литературе описывают несколько механизмов, которые могут препятствовать нормальному разрешению репаративного процесса.

Многие авторы считают избыточную активацию иммунной системы и хроническое воспаление основными факторами развития ФЛ [2, 19]. Показано, что различные клетки иммунной системы – нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты – вносят вклад в развитие ФЛ за счет активации окислительного стресса и продукции профибротических ростовых факторов, цитокинов и хемокинов [2, 20]. Предполагается, что активация иммунного ответа вносит весомый вклад в развитие ФЛ, ассоциированного с COVID-19 [15].

Также описан механизм развития ФЛ, при котором основную роль играет хроническое повреждение эпителия, приводящее к повышению уровня активных форм кислорода, апоптозу, активации клеточного старения, истощению пула стволовых клеток и т. н. «фенотипическому репрограммированию» альвеолоцитов 2-го порядка [16, 21] – aberrантной активации путей нормальной репарации и выделению медиаторов, активирующие фибробласты [22, 23].

Рассматривают еще один механизм фибротизации ткани за счет положительной обратной связи от внеклеточного матрикса [24]. Показано, что при избыточном отложении матрикса происходит его уплотнение, что приводит к гипоксии ткани и повреждению эпителия; уплотненный матрикс создает профибротическую среду и промотирует клеточное старение [25, 26]. Таким образом создается т. н. «фиброгенная ниша», и фибротический процесс самоподдерживается [24]. Shochet и соавт. [27] показали, что при культивировании нормальных фибробластов на «фибротическом» матриксе, полученном после культивирования фибробластов пациентов с ИЛФ, активируется экспрессия генов, связанных с сигнальным путем HIF1, который способствует дифференцировке миофибробластов и прогрессии фиброза.

Лечение фиброза легкого

Для лечения ФЛ применяют медикаментозные и немедикаментозные методы. К последним относятся трансплантация легкого и применение паллиативных способов (кислородотерапия, физические упражнения и т. д.) [28].

Изначально для лечения ИЛФ использовались противовоспалительные средства, кортикостероиды и иммуносупрессивные препараты, исходя из гипотезы, что хроническое воспаление является основным механизмом развития этого заболевания. Эти препараты не улучшали выживаемость и легочную функцию, а комбинированная терапия преднизолом, азатиоприном и N-ацетилцистеином повышала смертность и частоту госпитализаций [4]. Для лечения ИЛФ зарегистрировано два препарата: нинтеданиб – пероральный ингибитор внутриклеточных тирозинкиназ, и пирфенидон – пиридиновое соединение, обладающее противовоспалительными, антифибротическими и антиоксидантными свойствами [4]. Оба препарата снижают риск смертности почти в 2 раза, а нинтеданиб также статистически значительно снижает риск острых осложнений по сравнению с пациентами, не принимающими препараты [29]. Нинтеданиб и пирфенидон признаны эффективными и для других фибротизирующих заболеваний легкого [1, 11]. Тем не менее длительное применение этих препаратов зачастую становится невозможным в связи с отказом от лечения из-за отсутствия эффекта и/или побочных явлений [4, 5, 28].

На сегодняшний день в качестве потенциальных антифибротических препаратов исследуются антитела к фактору роста соединительной ткани (connective tissue growth factor, CTGF), пентраксин-2, антагонист рецептора эндотелина, новые малые молекулы (ингибиторы аутоксина фосфодиэстеразы, интегринов и др.), и другие (подробно см. обзоры [4, 30]).

Обсуждаются перспективы применения веществ природного происхождения, в частности флавоноидов, поскольку такие соединения обладают противовоспалительным, антипролиферативным и иммуномодулирующим действием, а также низкой токсичностью и могут применяться в течение длительного времени. Кроме этого, флавоноиды (и полифенолы вообще) снижают токсичность цитостатиков, например, циклофосфида, который применяется у пациентов с ФЛ в качестве иммуносупрессанта.

В пилотном исследовании на пациентах с ИЛФ было показано, что после 14 дней применения EGCG (галлат эпигаллокатехина, наиболее распространенный катехин в чае) в сыворотке крови было снижено содержание двух биомаркеров, продуцируемых фибробластами, – хрящевого олигомерного матрикспротеина (cartilage oligomeric matrixprotein, COMP) и периостина, а в биоптатах легкого – коллагена I, SNAI1, фосфорилированного SMAD3 [9]. Тем же коллективом авторов показано, что в ткани легкого *ex vivo*, полученной от пациентов, проходивших трансплантацию легкого, EGCG подавляет сигнальный каскад TGF- β 1 и накопление коллагена, а также активирует его MMP-зависимый распад [31].

В пилотных испытаниях на пациентах с ИЛФ показано, что в группе лиц, принимающих комбинацию дасатиниба и кверцетина, улучшились физические показатели. Кроме того, отмечено снижение уровня содержания некоторых маркеров клеточного старения в крови [10].

Применение флавоноидов в экспериментах на лабораторных животных

Для изучения ФЛ у лабораторных животных используется широкий спектр моделей, которые воспроизводят действие основных этиологических факторов развития болезни – генетическая предрасположенность, применение лекарственных препаратов, радиация, ингаляция твердых частиц [19, 32]. Если эксперименты с генетически модифицированными или иммунодефицитными мышами помогают лучше понять молекулярно-генетические механизмы развития ФЛ, то для скрининга потенциальных антифибротических препаратов чаще всего выбирают более дешевые и удобные модели индукции фиброза с помощью повреждающих ткань легких химических агентов, твердых частиц или облучения [32]. Наиболее часто используется хорошо охарактеризованная модель ФЛ с использованием блеомицина, системное введение которого приводит к повреждению эндотелия легких, воспалению, апоптозу эпителиальных клеток и запуску репаративных процессов, а локальное – непосредственно в дыхательные пути – вызывает непосредственное повреждение альвеолярного и бронхиального эпителия, затем выраженное воспаление и фибротизацию ткани [33].

Релевантность этих моделей обсуждается, тем не менее, они воспроизводят основные аспекты

фибротизирующих заболеваний легкого у человека на тканевом (избыточное отложение внеклеточного матрикса, уменьшение дыхательного объема), клеточном (повреждение эпителия, пролиферация фибробластов, эпителиально-мезенхимальный переход) и молекулярном (окислительный стресс, секреция профибротических факторов) уровне.

В таблице 1 приведены исследования за последние 5 лет, в которых изучали влияние индивидуальных соединений флавоноидного ряда на развитие экспериментального фиброза легкого у мышей и крыс. Практически во всех проанализированных работах было показано, что применение веществ флавоноидного ряда снижает выраженность ФЛ на морфологическом уровне; в двух исследованиях не было выявлено статистически значимого снижения гистопатологического индекса [34] и относительной массы легких [35] при применении кверцетина, однако препарат влиял на другие изучаемые показатели.

По сравнению с животными, не получавшими лечения, при применении флавоноидов в легких снижается синтез белков внеклеточного матрикса, таких как коллаген и фибронектин [34, 36–38], содержание маркера миофибробластов α -SMA и маркеров эпителиально-мезенхимального перехода [37, 39, 40]. Также в экспериментах было выявлено, что флавоноидные препараты способствуют уменьшению выработки в легком профибротических цитокинов: TGF- β [41–43] и цитокинов провоспалительного спектра [35, 39, 42, 44]. Обнаружено положительное действие исследуемых веществ на активность ферментов системы антиоксидантной защиты и снижение маркеров окислительного стресса [35, 36, 43, 44]. Несмотря на то, что антифибротическое действие флавоноидов изучалось на нескольких экспериментальных моделях, а спектр используемых методик и оцениваемые показатели различались, результаты приведенных работ показывают, что флавоноиды способны воздействовать на основные механизмы/аспекты фиброгенеза *in vivo*. Результаты опытов на животных подкрепляются данными, полученными в экспериментах с использованием флавоноидов *in vitro*. Так, было показано, что байкалин снижает пролиферацию крысиных легочных фибробластов, индуцированную блеомицином [45].

Флавоноиды оказывают протективное действие также на моделях хронической обструктивной бо-

Таблица 1. Вещества флавоноидного ряда с доказанной *in vivo* антифибротической активностью

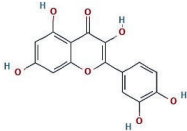
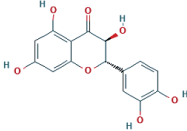
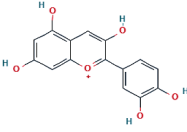
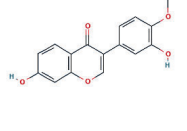
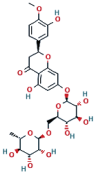
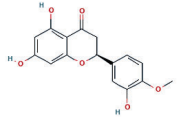
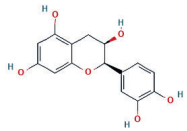
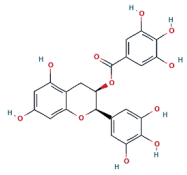
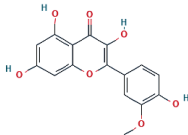
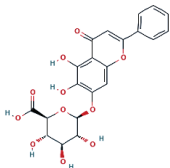
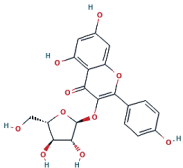
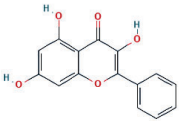
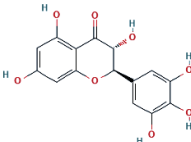
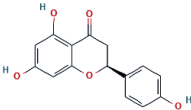
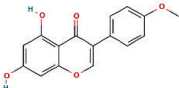
Формула вещества	Вещество	Модель	Источник
	Кверцетин	Мыши C57BL/6; блеомицин ИТ	[34]
		Мыши, SiO ₂	[47]
		Крысы Wistar; блеомицин ИТ	[35]
	Дигидрокверцетин	Мыши C57BL/6; SiO ₂ ИТ	[48]
	Цианидин	Мыши C57BL/6; SiO ₂ ИТ	[49]
	Каликозин	Мыши C57BL/6, блеомицин ИТ	[36]
	Гесперидин	Крысы Sprague-Dawley; блеомицин ИП	[42]
	Гесперетин	Крысы Wistar; SiO ₂ ИТ	[44]
	Эпикатехин	Мыши NMRI; блеомицин ИТ	[43]
	Эпигаллокатехин галлат	Мыши C57BL/6; твердые частицы интраназально	[50]
		Крысы Wistar; SiO ₂ ИТ	[51]

Таблица 1 (окончание). Вещества флавоноидного ряда с доказанной *in vivo* антифибротической активностью

Формула вещества	Вещество	Модель	Источник
	Изорамнетин	Мыши C57BL/6; блеомицин ИП	[37]
	Байкалин	Крысы Wistar; блеомицин ИТ	[45]
	Югланин	Мыши C57BL/6; блеомицин ИТ	[40]
	Галангин	Мыши C57BL/6; блеомицин ИТ	[52]
	Дигидромирицетин	Мыши C57BL/6; блеомицин ИТ	[39]
	Нарингенин	Мыши Balb/c; инфекция Mycoplasma	[53]
	Биоханин А	Крысы Wistar; блеомицин ИТ	[38]

Примечания: ИТ – интратрахеально, ИП – интраперитонеально

лезни легкого, индуцированной сигаретным дымом или его компонентами. Наблюдаемые эффекты флавоноидов согласуются с результатами, полученными на моделях ФЛ: эти вещества снижают воспаление, активируют механизмы антиоксидантной защиты, препятствуют клеточному старению и гибели клеток альвеолярного эпителия [46].

Тем не менее, подобные экспериментальные исследования ведутся уже более 10 лет, а клинические исследования остаются единичными.

Таким образом, наблюдается существенный разрыв между этапами доклинической разработки и клинических исследований для данного класса соединений.

Перспективы применения флавоноидов для лечения фиброза легкого

Вероятной причиной медленного внедрения флавоноидных препаратов в клиническую практику, кроме сложностей стандартизации и коммерческой составляющей, может быть ограниченная биодоступность флавоноидов.

В отличие от других молекул, входящих в составы лекарственных препаратов, флавоноиды в неизменном виде при пероральном применении не достигают органов-мишеней. При поступлении внутрь в виде агликонов флавоноиды подвергаются метаболической трансформации в кишечнике (в т. ч. при участии микроорганизмов) и печени; в плазме крови практически не обнаруживаются исходные формы [54]. Антиоксидантная активность конъюгированных продуктов, поступающих в системную циркуляцию после метилирования, сульфатирования и глюкуронизации, существенно снижена по сравнению с таковой у соответствующих агликонов [7]; метаболиты быстро выводятся из организма. Более вероятно, что флавоноиды, точнее, продукты их метаболизма, способны активировать систему антиоксидантной защиты через путь KEAP1-NRF2, который регулирует адаптивный ответ на клеточный стресс [8].

Очевидно, для повышения активности флавоноидов необходимо предусмотреть пути и формы введения, которые позволят избежать или минимизировать метаболическую трансформацию в кишечнике и печени. Для терапии ФЛ это могут быть варианты ингаляционного применения или прием флавоноидов в комплексах с носителями. Такие системы доставки включают фитосомы (комплексы растительных веществ с фосфолипидами),

липидные наночастицы, полимерные наночастицы, неорганические наночастицы [7].

В частности, после введения мышам кверцетина в составе катионных липидных носителей наблюдалось его более высокое содержание в легком, печени и почках по сравнению с контрольной группой, которая получала свободный кверцетин [55]. Было показано, что апигенин более эффективно тормозил развитие индуцированного блеомицином ФЛ у крыс, когда его вводили животным в составе полимерных наночастиц, по сравнению с веществом в свободной форме [56].

Применение лекарственных форм для ингаляции обладает рядом преимуществ, таких как доставка активных веществ непосредственно в легкое, относительно низкое содержание веществ в системном кровотоке, удобство применения [57]. У крыс с индуцированным ФЛ ингаляции пирфенидона или нинтеданиба давали такой же терапевтический эффект, как пероральное применение, при этом доза при местном применении и, соответственно, проявления побочных эффектов были значительно ниже (Rasooli и соавт., 2018; Surber и соавт., 2020, цит. по [57]).

In vivo была изучена биодоступность комплексов нарингенина с гидроксипропил- β -циклодекстрином. Было обнаружено, что растворимость флавоноида в составе комплекса повышается, а при интратрахеальном применении нарингенин накапливается преимущественно в легком [58]. Также было показано, что биодоступность нарингенина в составе твердых липидных частиц в 2,5 раза выше, чем в свободной форме, при интратрахеальном введении [59]. На модели острого поражения легких у крыс была продемонстрирована эффективность нагруженных нарингенином фитосом на основе компонента сурфактанта дипальмитоилфосфатидилхолина [60].

Таким образом, применение флавоноидов в составе наночастиц, липосом и других носителей, в т. ч. в виде ингаляционных лекарственных форм позволяет улучшить их биодоступность, а также обеспечить доставку в легкое исходных веществ, а не продуктов их метаболизма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лечение ФЛ остается актуальной проблемой, т. к. существующие препараты лишь замедляют прогрессирование этого смертельного заболевания, а их длительное применение часто со-

пряжено с серьезными побочными эффектами. В качестве альтернативной или сопроводительной терапии в последние годы исследуются природные вещества, в частности, флавоноиды. Множество исследований на животных и *in vitro* доказывает, что флавоноиды обладают антифибротическими свойствами. При этом из-за особенностей метабо-

лизма этих веществ в организме млекопитающих при пероральном применении флавоноидов они попадают в легкое лишь в небольшом количестве в виде вторичных метаболитов. Решением этой проблемы может стать разработка систем доставки, таких как липосомы, а также лекарственных форм для местного применения.

Список источников

1. Wijsenbeek M, Cottin V. Spectrum of Fibrotic Lung Diseases. *N Engl J Med*. 2020 Sep 3;383(10):958–968. <https://doi.org/10.1056/nejmra2005230>
2. Дыгай А.М., Скурихин Е.Г. Крупин В.А. Фиброз легких и стволовые клетки: новые подходы лечения. Москва: Издательство РАН, 2018, 200 с.
3. Zheng Q, Cox IA, Campbell JA, Xia Q, Otahal P, de Graaff B, et al. Mortality and survival in idiopathic pulmonary fibrosis: a systematic review and meta-analysis. *ERJ Open Res*. 2022 Jan;8(1):00591–2021. <https://doi.org/10.1183/23120541.00591-2021>
4. Thong L, McElduff EJ, Henry MT. Trials and Treatments: An Update on Pharmacotherapy for Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Life (Basel)*. 2023 Feb 10;13(2):486. <https://doi.org/10.3390/LIFE13020486>
5. Kato M, Sasaki S, Tateyama M, Arai Y, Motomura H, Sumiyoshi I, et al. Clinical Significance of Continuable Treatment with Nintedanib Over 12 Months for Idiopathic Pulmonary Fibrosis in a Real-World Setting. *Drug Des Devel Ther*. 2021;15:223–230. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S284819>
6. Zhou F, Gu K, Zhou Y. Flavonoid intake is associated with lower all-cause and disease-specific mortality: The National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2010 and 2017-2018. *Front Nutr*. 2023;10:1046998. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1046998>
7. Zverev YF, Rykunova AY. Modern Nanocarriers as a Factor in Increasing the Bioavailability and Pharmacological Activity of Flavonoids. *Appl Biochem Microbiol*. 2022;58(9):1002–1020. <https://doi.org/10.1134/S0003683822090149>
8. Голубев А. Г., Губарева Е. А., Федорос Е. И., Анисимов В. Н. Полифенолы природного происхождения против возрастных нарушений тканевого гомеостаза. *Успехи геронтологии*, 2023;36(4):555–568. <https://doi.org/10.34922/AE.2023.36.4.014>, EDN: UKTAJY
9. Chapman HA, Wei Y, Montas G, Leong D, Golden JA, Trinh BN, et al. Reversal of TGFβ1-Driven Profibrotic State in Patients with Pulmonary Fibrosis. *N Engl J Med*. 2020 Mar 12;382(11):1068–1070. <https://doi.org/10.1056/NEJMC1915189>
10. Justice JN, Nambiar AM, Tchkonja T, LeBrasseur NK, Pascual R, Hashmi SK, et al. Senolytics in idiopathic pulmonary fibrosis: Results from a first-in-human, open-label, pilot study. *EBioMedicine*. 2019 Feb;40:554–563. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.12.052>
11. Авдеев С. Н., Чикина С. Ю., Тюрин И. Е., Белевский А. С., Терпигорев С. А., Ананьева Л. П. и др. Хронические фиброзирующие интерстициальные заболевания легких с прогрессирующим фиброзным фенотипом: резолюция Междисциплинарного Совета экспертов. *Пульмонология*. 2021;31(4):505–510. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2021-31-4-505-510>, EDN: OKQQCQ
12. Sauleda J, Núñez B, Sala E, Soriano JB. Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Epidemiology, Natural History, Phenotypes. *Med Sci (Basel)*. 2018 Nov 29;6(4):110. <https://doi.org/10.3390/MEDSCI6040110>
13. Maher TM, Bendstrup E, Dron L, Langley J, Smith G, Khalid JM, et al. Global incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res*. 2021 Jul 7;22(1):197. <https://doi.org/10.1186/S12931-021-01791-Z>
14. Olson AL, Patnaik P, Hartmann N, Bohn RL, Garry EM, Wallace L. Prevalence and Incidence of Chronic Fibrosing Interstitial Lung Diseases with a Progressive Phenotype in the United States Estimated in a Large Claims Database Analysis. *Adv Ther*. 2021 Jul;38(7):4100–4114. <https://doi.org/10.1007/s12325-021-01786-8>
15. Duong-Quy S, Vo-Pham-Minh T, Tran-Xuan Q, Huynh-Anh T, Vo-Van T, Vu-Tran-Thien Q, et al. Post-COVID-19 Pulmonary Fibrosis: Facts-Challenges and Futures: A Narrative Review. *Pulm Ther*. 2023 Sep;9(3):295–307. <https://doi.org/10.1007/s41030-023-00226-y>
16. Parimon T, Yao C, Stripp BR, Noble PW, Chen P. Alveolar Epithelial Type II Cells as Drivers of Lung Fibrosis in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Int J Mol Sci*. 2020 Mar 25;21(7):2269. <https://doi.org/10.3390/IJMS21072269>

17. Hung C. Origin of Myofibroblasts in Lung Fibrosis. *Curr Tissue Microenviron Rep*. 2020 Dec 1;1(4):155–162. <https://doi.org/10.1007/s43152-020-00022-9>
18. Hinz B, Lagares D. Evasion of apoptosis by myofibroblasts: a hallmark of fibrotic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2020 Jan;16(1):11–31. <https://doi.org/10.1038/s41584-019-0324-5>
19. Miles T, Hoyne GF, Knight DA, Fear MW, Mutsaers SE, Prêle CM. The contribution of animal models to understanding the role of the immune system in human idiopathic pulmonary fibrosis. *Clin Transl Immunology*. 2020;9(7):e1153. <https://doi.org/10.1002/CT12.1153>
20. Liu T, De Los Santos FG, Phan SH. The Bleomycin Model of Pulmonary Fibrosis. *Methods Mol Biol*. 2017;1627:27–42. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7113-8_2
21. Confalonieri P, Volpe MC, Jacob J, Maiocchi S, Salton F, Ruaro B, et al. Regeneration or Repair? The Role of Alveolar Epithelial Cells in the Pathogenesis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis (IPF). *Cells*. 2022 Jun 30;11(13):2095. <https://doi.org/10.3390/CELLS11132095>
22. Chanda D, Otoupalova E, Smith SR, Volckaert T, De Langhe SP, Thannickal VJ. Developmental pathways in the pathogenesis of lung fibrosis. *Mol Aspects Med*. 2019 Feb;65:56–69. <https://doi.org/10.1016/J.MAM.2018.08.004>
23. Parimon T, Yao C, Habieli DM, Ge L, Bora SA, Brauer R, et al. Syndecan-1 promotes lung fibrosis by regulating epithelial reprogramming through extracellular vesicles. *JCI Insight*. 2019 Aug 8;5(17):e129359. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.129359>
24. Herrera J, Henke CA, Bitterman PB. Extracellular matrix as a driver of progressive fibrosis. *J Clin Invest*. 2018 Jan 2;128(1):45–53. <https://doi.org/10.1172/JCI93557>
25. Selman M, Pardo A. Fibroageing: An ageing pathological feature driven by dysregulated extracellular matrix-cell mechanobiology. *Ageing Res Rev*. 2021 Sep;70:101393. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101393>
26. Mebratu YA, Soni S, Rosas L, Rojas M, Horowitz JC, Nho R. The aged extracellular matrix and the profibrotic role of senescence-associated secretory phenotype. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2023 Sep 1;325(3):C565–C579. <https://doi.org/10.1152/AJPCELL.00124.2023>
27. Shochet G, Bardenstein-Wald B, McElroy M, Kukuy A, Surber M, Edelstein E, et al. Hypoxia Inducible Factor 1A Supports a Pro-Fibrotic Phenotype Loop in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 24;22(7):3331. <https://doi.org/10.3390/ijms22073331>
28. Saito S, Alkhatib A, Kolls JK, Kondoh Y, Lasky JA. Pharmacotherapy and adjunctive treatment for idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). *J Thorac Dis*. 2019 Sep;11(Suppl 14):S1740–S1754. <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.04.62>
29. Petnak T, Lertjitbanjong P, Thongprayoon C, Moua T. Impact of Antifibrotic Therapy on Mortality and Acute Exacerbation in Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Chest*. 2021 Nov;160(5):1751–1763. <https://doi.org/10.1016/J.CHEST.2021.06.049>
30. Pitre T, Mah J, Helmecki W, Khalid MF, Cui S, Zhang M, et al. Medical treatments for idiopathic pulmonary fibrosis: a systematic review and network meta-analysis. *Thorax*. 2022 Dec;77(12):1243–1250. <https://doi.org/10.1136/THORAXJNL-2021-217976>
31. Wei Y, Dong W, Jackson J, Ho TC, Le Saux CJ, Brumwell A, et al. Blocking LOXL2 and TGFβ1 signalling induces collagen I turnover in precision-cut lung slices derived from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax*. 2021 Jul;76(7):729–732. <https://doi.org/10.1136/THORAXJNL-2020-215745>
32. Moore BB, Lawson WE, Oury TD, Sisson TH, Raghavendran K, Hogaboam CM. Animal models of fibrotic lung disease. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2013 Aug;49(2):167–117. <https://doi.org/10.1165/RCMB.2013-0094TR>
33. Gul A, Yang F, Xie C, Du W, Mohammadtursun N, Wang B, et al. Pulmonary fibrosis model of mice induced by different administration methods of bleomycin. *BMC Pulm Med*. 2023 Mar 21;23(1):91. <https://doi.org/10.1186/s12890-023-02349-z>
34. Boots AW, Veith C, Albrecht C, Bartholome R, Drittij MJ, Claessen SMH, et al. The dietary antioxidant quercetin reduces hallmarks of bleomycin-induced lung fibrogenesis in mice. *BMC Pulm Med*. 2020 Apr 29;20(1):112. <https://doi.org/10.1186/S12890-020-1142-X>
35. Mehrzadi S, Hosseini P, Mehrabani M, Siahpoosh A, Goudarzi M, Khalili H, et al. Attenuation of Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Wistar Rats by Combination Treatment of Two Natural Phenolic Compounds: Quercetin and Gallic Acid. *Nutr Cancer*. 2021;73(10):2039–2049. <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1820053>
36. Liu H, Bai X, Wei W, Li Z, Zhang Z, Tan W, et al. Calycosin Ameliorates Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis via Suppressing Oxidative Stress, Apoptosis, and Enhancing Autophagy. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2022;2022:9969729. <https://doi.org/10.1155/2022/9969729>
37. Zheng Q, Tong M, Ou B, Liu C, Hu C, Yang Y. Isorhamnetin protects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis by inhibiting endoplasmic reticulum stress and epithelial-mesenchymal transition. *Int J Mol Med*. 2019 Jan;43(1):117–126. <https://doi.org/10.3892/IJMM.2018.3965>

38. Andugulapati SB, Gourishetti K, Tirunavalli SK, Shaikh TB, Sistla R. Biochanin-A ameliorates pulmonary fibrosis by suppressing the TGF- β mediated EMT, myofibroblasts differentiation and collagen deposition in in vitro and in vivo systems. *Phytomedicine*. 2020 Nov;78:153298. <https://doi.org/10.1016/J.PHYMED.2020.153298>
39. Xiao T, Wei Y, Cui M, Li X, Ruan H, Zhang L, et al. Effect of dihydromyricetin on SARS-CoV-2 viral replication and pulmonary inflammation and fibrosis. *Phytomedicine*. 2021 Oct;91:153704. <https://doi.org/10.1016/J.PHYMED.2021.153704>
40. Sun SC, Han R, Hou SS, Yi HQ, Chi SJ, Zhang AH. Juglanin alleviates bleomycin-induced lung injury by suppressing inflammation and fibrosis via targeting sting signaling. *Biomed Pharmacother*. 2020 Jul;127:110119. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2020.110119>
41. Ma C, Lyu M, Deng C, Liu X, Cui Y, Shen Y, et al. Cyanidin-3-galactoside ameliorates silica-induced pulmonary fibrosis by inhibiting fibroblast differentiation via Nrf2/p38/Akt/NOX4. *Journal of Functional Foods*. 2022 May 1;92:105034. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105034>
42. Zhou Z, Kandhare AD, Kandhare AA, Bodhankar SL. Hesperidin ameliorates bleomycin-induced experimental pulmonary fibrosis via inhibition of TGF-beta1/Smad3/AMPK and I κ B/NF-kappaB pathways. *EXCLI J*. 2019;18:723–745. <https://doi.org/10.17179/excli2019-1094>
43. Shariati S, Kalantar H, Pashmforoosh M, Mansouri E, Khodayar MJ. Epicatechin protective effects on bleomycin-induced pulmonary oxidative stress and fibrosis in mice. *Biomed Pharmacother*. 2019 Jun;114:108776. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2019.108776>
44. Li S, Shao L, Fang J, Zhang J, Chen Y, Yeo AJ, et al. Hesperetin attenuates silica-induced lung injury by reducing oxidative damage and inflammatory response. *Exp Ther Med*. 2021 Apr;21(4):297. <https://doi.org/10.3892/ETM.2021.9728>
45. Zhao H, Li C, Li L, Liu J, Gao Y, Mu K, et al. Baicalin alleviates bleomycin induced pulmonary fibrosis and fibroblast proliferation in rats via the PI3K/AKT signaling pathway. *Mol Med Rep*. 2020 Jun;21(6):2321–2334. <https://doi.org/10.3892/MMR.2020.11046>
46. Yang Y, Jin X, Jiao X, Li J, Liang L, Ma Y, et al. Advances in Pharmacological Actions and Mechanisms of Flavonoids from Traditional Chinese Medicine in Treating Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2020;2020:8871105. <https://doi.org/10.1155/2020/8871105>
47. Geng F, Xu M, Zhao L, Zhang H, Li J, Jin F, et al. Quercetin Alleviates Pulmonary Fibrosis in Mice Exposed to Silica by Inhibiting Macrophage Senescence. *Front Pharmacol*. 2022;13:912029. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.912029>
48. Yuan L, Sun Y, Zhou N, Wu W, Zheng W, Wang Y. Dihydroquercetin Attenuates Silica-Induced Pulmonary Fibrosis by Inhibiting Ferroptosis Signaling Pathway. *Front Pharmacol*. 2022;13:845600. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.845600>
49. Cui Y, Zhao J, Chen J, Kong Y, Wang M, Ma Y, et al. Cyanidin-3-galactoside from *Aronia melanocarpa* ameliorates silica-induced pulmonary fibrosis by modulating the TGF- β /mTOR and NRF2/HO-1 pathways. *Food Sci Nutr*. 2022 Aug;10(8):2558–2567. <https://doi.org/10.1002/FSN3.2861>
50. Zhongyin Z, Wei W, Juan X, Guohua F. Epigallocatechin Gallate Relieved PM2.5-Induced Lung Fibrosis by Inhibiting Oxidative Damage and Epithelial-Mesenchymal Transition through AKT/mTOR Pathway. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:7291774. <https://doi.org/10.1155/2022/7291774>
51. Adamcakova J, Balentova S, Barosova R, Hanusrichterova J, Mikolka P, Prso K, et al. Effects of Green Tea Polyphenol Epigallocatechin-3-Gallate on Markers of Inflammation and Fibrosis in a Rat Model of Pulmonary Silicosis. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 17;24(3):1857. <https://doi.org/10.3390/ijms24031857>
52. Wang L, Liu H, He Q, Gan C, Li Y, Zhang Q, et al. Galangin ameliorated pulmonary fibrosis in vivo and in vitro by regulating epithelial-mesenchymal transition. *Bioorg Med Chem*. 2020 Oct 1;28(19):115663. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2020.115663>
53. Lin Y, Tan D, Kan Q, Xiao Z, Jiang Z. The Protective Effect of Naringenin on Airway Remodeling after Mycoplasma Pneumoniae Infection by Inhibiting Autophagy-Mediated Lung Inflammation and Fibrosis. *Mediators Inflamm*. 2018;2018:8753894. <https://doi.org/10.1155/2018/8753894>
54. Thilakarathna SH, Rupasinghe HPV. Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement. *Nutrients*. 2013 Aug 28;5(9):3367–3387. <https://doi.org/10.3390/NU5093367>
55. Liu L, Tang Y, Gao C, Li Y, Chen S, Xiong T, et al. Characterization and biodistribution in vivo of quercetin-loaded cationic nanostructured lipid carriers. *Colloids Surf Biointerfaces*. 2014 Mar 1;115:125–131. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.11.029>
56. Zhang J, Chao L, Liu X, Shi Y, Zhang C, Kong L, et al. The potential application of strategic released apigenin from polymeric carrier in pulmonary fibrosis. *Exp Lung Res*. 2017;43(9–10):359–369. <https://doi.org/10.1080/01902148.2017.1380086>
57. Xie X-F, Lu Y, Chen X-S, Muhetaer G, Tao H, Li H, Liu H-J. Inhalation therapy for pulmonary fibrosis: chemical medicines and herbal medicines. *TMR Modern Herb Med*. 2023;6(3):14. <https://doi.org/10.53388/MHM2023014>

58. Guan M, Shi R, Zheng Y, Zeng X, Fan W, Wang Y, et al. Characterization, in Vitro and in Vivo Evaluation of Naringenin-Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin Inclusion for Pulmonary Delivery. *Molecules*. 2020 Jan 28;25(3):554. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25030554>
59. Ji P, Yu T, Liu Y, Jiang J, Xu J, Zhao Y, et al. Naringenin-loaded solid lipid nanoparticles: preparation, controlled delivery, cellular uptake, and pulmonary pharmacokinetics. *Drug Des Devel Ther*. 2016;10:911–925. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S97738>
60. Yu Z, Liu X, Chen H, Zhu L. Naringenin-Loaded Dipalmitoylphosphatidylcholine Phytosome Dry Powders for Inhaled Treatment of Acute Lung Injury. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*. 2020 Aug;33(4):194–204. <https://doi.org/10.1089/jamp.2019.1569>

Информация об авторах:

Губарева Екатерина Александровна ✉ – к.б.н., старший научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9212-6086>, SPIN: 5556-8242, AuthorID: 895429, ResearcherID: AAD-2072-2020, Scopus Author ID: 56909987000

Семенов Александр Леонидович – к.м.н., старший научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5190-0629>, SPIN: 4301-8679, AuthorID: 900704, ResearcherID: S-1484-2016, Scopus Author ID: 16307589600

Вклад авторов:

Губарева Е. А. – концепция статьи, написание исходного текста, сбор материала, оформление статьи;
Семенов А. Л. – доработка текста, научное и техническое редактирование.

КАТЕХИНЫ ЧАЙНОГО РАСТЕНИЯ: СТРУКТУРА, АКТИВНОСТЬ, ПРИМЕНЕНИЕ

В. А. БАРАБОЙ

E-mail: rguiberman@mail.ru

Рассмотрены технология получения различных видов чая и механизмы биологического действия наиболее активных его компонентов — катехинов. Предпринята попытка объяснить их исходя из антиоксидантных свойств этих физиологически активных соединений, что обуславливает наличие у них антимутагенных и противоопухолевых эффектов. Особое внимание уделено химическим и биологическим свойствам наиболее активного из катехинов — EGCG.

Ключевые слова: чай, катехины, антиоксидантная активность.

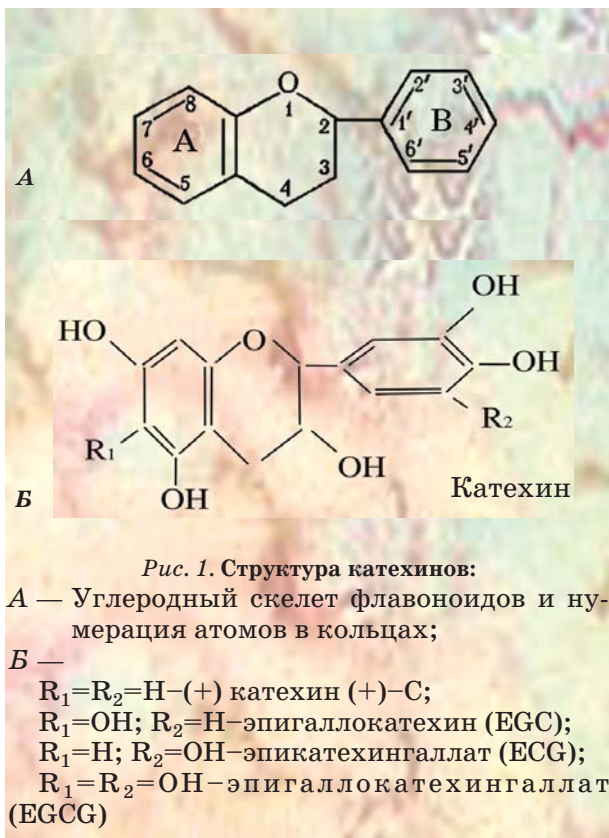
Чай — излюбленный и наиболее распространенный во всем мире напиток с пятитысячелетней историей. Регулярное употребление этого уникального по составу напитка с его неповторимым вкусом и ароматом придает бодрость, повышает работоспособность, не вызывая привыкания и зависимости, не давая побочных эффектов. Во многих странах питье чая — это часть культуры, утренний чай — традиция. В Японии — целая чайная церемония, приобретающая в цзен-буддизме религиозный характер. Чай культивируется в высокогорных районах Гималаев (Дарджилинг, Ассам), в субтропических и тропических районах Индии, Китая, Шри-Ланки (Цейлон), Японии, Индонезии, Кении. Высшие сорта чайного листа собирают вручную. Чай (*Camellia sinensis* L., по-китайски Tcha) — рекордсмен в мире растений по содержанию фенолов-антиоксидантов, определяющих свойства приготовленного из него напитка. Наибольшее потребление чая в расчете на одного человека — в Ирландии (3,16 кг/год), Великобритании (2,53 кг/год), Кувейте (2,52 кг/год). В 1996 г. в мире было произведено 2,61 млн. т чайного листа, в том числе 2 млн. т (76%) черного чая, 581 тыс. т зеленого чая (22%) и 54 000 т красного чая oolong (2%). В Индии получено 704 тыс. т чайного листа, в Китае — 560 тыс. т, в Кении — 188 тыс. т. [6].

Химическая структура

Фенольные соединения — важный постоянный компонент тканей растений (2–4% состава и более) — являются продуктами

вторичного метаболизма. Идентифицировано около 20 000 индивидуальных фенолов и ежегодно выделяются новые. Углеродный скелет молекул различных фенолов колеблется от C1 до C6–C3–C6, включает одно или несколько бензольных колец, а химическая и биологическая активность связана с присутствием в них одной или нескольких гидроксильных и карбонильных групп. Наиболее многочисленными и распространенными среди растительных фенолов являются флавоноиды (C6–C3–C6). Их молекула состоит из двух шестичленных колец А и В, соединенных трехуглеродным фрагментом. В большинстве случаев этот фрагмент образует третье кольцо, гетероцикл, с участием атома кислорода (рис. 1).

Нумерация атомов необходима для обозначения места заместителей. Она начинается с гетероатома кислорода в гетероцикле и кольца А (1–8), в кольце В — с места присоединения к трехуглеродному фрагменту (11–61). По разным классификациям различают 8–12 классов флавоноидов [1–3]. Наиболее высокой и разнообразной биологической активностью обладают фенолы, содержащие несколько гидроксильных групп, расположенных в *орто*- (например, у атомов 6 и 7 кольца А), *пара*- (у атомов 5 и 8) или *мета*- (у атомов 6, 7 и 8) положении. Такие фенолы способны подвергаться обратимому окислению до хинонов через промежуточную стадию свободного радикала (семихинона, феноксила) (рис. 2). Константы скорости реакции незамещенных фенолов с радикалами аскорбата составляют



$10^5 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ [4]. Полифенолы, по крайней мере высокомолекулярные, называют еще дубильными веществами (таннинами) из-за способности прочно связываться с белками кожи (шкур) животных. Наконец, термин «биофлавоноиды» ассоциируется с высокой биологической активностью этих соединений.

Классы флавоноидов различают по наличию или отсутствию двойной связи $>C2=C3<$, карбонильной группы $>C4=O$, по присоединению кольца В ко 2-му или 3-му атому углерода [3, 5]. В листьях чайного растения (в зеленом чае) содержится ~36%



(30–42% сухого веса) полифенолов, главным образом катехинов [7, 8]. Наряду с полифенолами чай содержит кофеин (3,5%), теofilлин, теобромин, сапонины, эфирные масла (небольшие количества), белки, аминокислоты (15%), неусвояемые углеводы (25%), а также витамины, микроэлементы, в том числе фтор [7]. Юные листочки чайного растения — апикальная почка и два первых листа — содержат в 2,7 раза больше полифенолов, больше кофеина, чем старые листья, и идут на изготовление высших сортов чая. Летом все листья чая содержат в 1,4 раза больше фенолов, чем осенью. В старых листьях наибольшая концентрация дубильных веществ.

Основную массу полифенолов чая составляют катехины (флаван-3-олы). От других классов полифенолов они отличаются отсутствием в положении 4 как карбонильной, так и гидроксильной групп. Это наиболее восстановленные из флавоноидов и, следовательно, обладающие наибольшим антиоксидантным потенциалом, склонные к аутоокислению и ферментативному окислению, предшественники галлотанинов [11]. Помимо катехинов в чае присутствуют гликозиды флавонолов — кверцетин, кемпферол, мирицетин [12], а также неролидол, β -ионон, δ -каденин и β -кариофиллен, обладающие наряду с индолом и индол-3-карбинолом умеренной цитотоксической активностью *in vitro* [13]. В чайном растении есть также небольшое количество флавандиолов и фенольных кислот [14]. Чайные катехины — это (+)-катехин (К), (-)-эпикатехин (Е), (+)-галлокатехин (G), (-)-эпигаллокатехин (EGC), (-)-эпикатехин-3-галлат (ECG) и (-)-эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG). Катехины содержат по два *o*-гидроксила в кольцах А и В. Галловая кислота располагает тремя рядом расположенными гидроксильными группами. Поэтому появление третьего гидроксила в кольце А превращает катехин в галлокатехин, а в кольце В — в катехингаллат. EGCG — наиболее галлированный катехин (всего 6 гидроксильных групп), обладающий и максимальной антиоксидантной (АО-), и биологической активностью [3, 5, 14]. стакан зеленого чая содержит около 142 мг EGCG, 65 мг EGC, 17 мг EC и 76 мг кофеина [15].

Виды чая. Технология получения. Процессинг

Зеленый чай получают из чайного листа, не подвергнутого переработке. Содержит до 40–42% катехинов. Некоторое значение

имеют условия произрастания чайной культуры. Высокогорные чаи (например, сорт «Дарджилинг») отличаются более высоким содержанием катехинов и лучшими вкусовыми качествами. Сорт чая тем выше, чем меньше в нем грубых старых листьев. Высшие сорта изготавливают из верхушечной почки и первых двух молодых листочков.

Черный чай получают после высушивания и ферментации чайного листа. В нативном листе фенолы и ферменты их окисления полифенолоксидазы пространственно разобщены. В процессе высушивания (теплым воздухом, на солнце или в специальных печах в течение 20–40 мин при температуре 35–80 °С) достигается контакт субстратов с ферментом, развивается окислительная деструкция и в то же время окислительная конденсация катехинов. Глубина ферментации регулируется вариациями температуры и длительности сушки.

В зеленом чае ферментация и окисление полностью исключаются, используют лишь высушивание на солнце, поэтому содержание катехинов, в особенности EGCG, значительно выше, чем в черном чае [64]. Процессинг (ферментация) приводит к образованию сначала катехин-хинонов, а затем олигомеров — теафлавинов (2–6%) и теарубигинов (свыше 20%), также обладающих высокой антиоксидантной активностью [65]. Но в целом активность черного чая ниже, чем зеленого [66]. Количество неизмененных катехинов составляет в нем 5–10% [67]. Однако некоторые авторы утверждают, что АО-активность черного чая даже выше, а теафлавины наиболее сильно угнетают продукцию окиси азота, снижая его синтез с помощью iNOS [68]. Теафлавины — димерные катехины, они придают черному чаю оранжево-красную окраску [65]. Теафлавин (TF-1), теафлавин-3-моногогаллат и теафлавин-3,31-моногогаллат (TF-2), а также теафлавин-3,31-дигаллат (TF-3) — основные теафлавины черного чая. Продукты дальнейшей окислительной полимеризации — теарубигины. Теафлавины и теарубигины отвечают за АО-, противовоспалительную, ингибиторную, росттормозящую активность черного чая [65, 69, 70]. Для управления процессом ферментации предлагается, в частности, способ быстрого и глубокого замораживания чайного листа [71].

Продолжающийся процессинг приводит к образованию гидролизуемых галлотаннинов с молекулярной массой 500–3 000 и более конденсированных таннинов (> 3 000). Галлотаннин содержит 8–10 молей галловой

кислоты на 1 моль глюкозы. Его основным структурным элементом является пентадигаллоил-глюкоза. Конденсированные таннины образуются как из катехинов, так и, главным образом, из проантоцианидинов (флаван-3,4-олов), в воде они нерастворимы. Таннины защищают растения от атаки патогенных грибов, поедания птицами, преждевременного прорастания. Поступая с пищей в организм человека и животных, таннины уменьшают массу тела, усвоение белков, жиров, аминокислот, углеводов, витаминов, железа и других металлов, действуя как энтеросорбенты. Таннины образуют прочные поперечные связи с белками за счет –ОН-групп таннина и карбонильных групп белков (это основа дубильного эффекта) [72]. При прохождении через пищеварительный тракт таннины оказывают дезинфицирующее, противовоспалительное действие на слизистые оболочки, стимулируют перистальтику.

Чай *oolong* и *puchong* — продукты дозированной полуферментации высококачественного чайного сырья. Это высшие сорта чая, обладающие более высокой АО-активностью, чем зеленый чай. Существует еще и так называемый белый чай, получаемый без пара, подогрева и сворачивания на солнце, с более высоким содержанием полифенолов и более высокой эффективностью. Жасминовый чай готовится в Южном Китае из полуферментированного чайного листа с добавлением цветков жасмина [11, 64, 73].

Технология массового производства сортов зеленого и черного чая, к сожалению, идет по пути ускорения процесса, что в большинстве случаев таит опасность ухудшения качества продукта. Пока желаемый оптимум соотношения скорости и качества либо не найден, либо является секретом фирм.

Биологическая активность катехинов

Антиокислительная активность

Сумма чайных катехинов обладает высочайшей АО-активностью: она в 25–100 раз выше таковой α -токоферола и аскорбата в сравнимых условиях [10]. EGCG — самый мощный из известных АО растительного происхождения [11]. Взаимодействуя со свободными радикалами, катехины, как и другие фенольные соединения, нейтрализуют их, сами превращаясь в стабильные долгоживущие радикалы, не продолжающие цепи [16]. Они действуют в соответствии со следующими механизмами: антирадикальным (против OH^\cdot и O^{2-}); антилипопероксидным

(против R' — алкилрадикала, ROO' — пероксирадикала и RO' — алкоксирадикала); антикислородным (против O^2 и $^1O^2$); хелатирования металлов [17]. Катехины действуют также как перехватчики радикалов окиси азота [18], защищая от пероксинитритопосредованного нитрования и окисления [19,20]. *In vitro* катехины успешно перехватывают стабильные радикалы 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила (ДФПГ) и АВТС, ингибируют липопероксидацию и активность лактатдегидрогеназы [21, 22]. EGCG и ECG эффективно предотвращают H_2O_2 -индуцированное повреждение эндотелиоцитов быка в культуре [23].

В условиях *in vivo* EGCG в концентрациях, наблюдающихся в плазме крови человека при систематическом потреблении зеленого чая, эффективно тушит водные радикалы, ограничивая тем самым их переход в липидный компартмент. На водно-липидной поверхности EGCG осуществляет восстановление (рециклизацию) окисленного витамина Е, что подтверждено методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) [24]. Методом ЭПР показано также, что EGCG и ECG спонтанно образуют радикальные, т. е. максимально активные, формы (галлил-радикал и анион-радикал) в водных растворах с низким рН без внешнего окислителя (ионы цинка II выступают в роли стабилизаторов). Радикал OH' (наиболее агрессивный) не образуется из-за отсутствия свободных ионов металлов [25]. АО-активность катехинов проявляется и в защите от окисления липопротеинов низкой плотности (LDL), клеток — от предварительно окисленного LDL [26, 27]. Эту защитную активность катехины проявляют в относительно низких дозах и концентрациях (0,1–3 мкМ снижают на 50% токсичность окисленного LDL). Эффект достигается за счет следующих механизмов: а) предотвращения окислительной атаки мембранных липидов посредством экономии (и регенерации) α -токоферола; б) ингибирования липоксигеназ; в) ингибирования клеточных ферментов, участвующих в сигнальной трансдукции [28]. Катехин ингибирует также продукцию окислительных радикалов моноцитами периферической крови [29]. Кроме того, катехины и их димеры ингибируют активацию фактора транскрипции NF- κ B [30], который участвует в механизмах атеросклероза и пролиферации.

Однако в присутствии ионов Fe(II) [31, 32], Cu(II) [26, 33, 34], а также H_2O_2 [35] АО-эффект катехинов обращается в прооксидантный. В то же время хорошо известно, что

флавоноиды и особенно катехины чая образуют прочные комплексы с ионами металлов, препятствуя их каталитической активности и тем самым обеспечивая АО-эффект. Очевидно, конечный результат (+ или –) встречи катехинов с ионами Fe (II) и Cu (II) определяется соотношением их концентраций и активностей. Избыток свободных ионов металлов (относительно редкий в условиях *in vivo*) способен обращать АО-эффект фенолов [36]. Комплексы фенолов с ионами металлов образуются за счет карбонильных и гидроксильных групп, и это препятствует всасыванию и каталитической активности металлов [37, 38]. Методом ЭПР с использованием стабильных радикалов ААРН и ДФПГ и генерации синглетного кислорода в системах рибофлавина и гематопорфирина показано, что радикалперехватывающая активность галлированных катехинов ECG и, особенно, EGCG в отношении четырех типов радикалов значительно выше, чем негаллированных катехинов. Таким образом, присутствие галлоильного остатка в положении 3 кольца А играет существенную роль в АО-эффекте, так же как введение OH -группы в положение 51 кольца В [22, 39–41]. Вообще структура кольца В, количество рядом расположенных гидроксильных групп играет важнейшую роль в формировании АО-эффекта. Механизм его заключается в образовании *o*-хинонной структуры, о чем свидетельствует появление двух карбонильных сигналов ЭПР. (–)Галлокатехин и этилгаллат не образуют карбонильных сигналов и, следовательно, их АО-механизм отличен от такового (+)-катехина и (–)-эпикатехина [42]. (–)-EG при окислении образует антоцианоподобное соединение с длительным АО-эффектом [43].

Стабильность катехинов, других фенольных соединений и соответственно сила и длительность их АО-активности существенно зависят от рН среды. В кислых средах (рН < 4) все чайные катехины высокостабильны. В пределах рН 4–7 их стабильность обратно пропорциональна величине рН. В присутствии аскорбиновой кислоты стойкость катехинов к окислению значительно возрастает. В щелочной среде галлокатехины нестабильны и в течение нескольких минут деградируют почти полностью [44]. Поэтому при переходе пищевого комка из кислой среды желудка в щелочной рН кишечника (> 8) катехины становятся нестабильными и легко деградируют. (–)-Эпикатехин и (–)-эпикатехингаллат в этих условиях более стабильны, чем (–)-эпигаллокатехин и (–)-эпигаллокатехингаллат [45].

Комплекс катехинов чайного растения из-за их высокой АО-активности, хорошей растворимости в жидкостях организма обладает выраженной противолучевой активностью в эксперименте на лабораторных мышках и крысах — при внутрибрюшинном введении как перед рентгеновским облучением в дозе ЛД₉₅₋₉₉, так и после него [3].

АО-активность чайных катехинов, учитывая постоянное употребление чая сотнями миллионов людей, является важным фактором сдерживания, ограничения процессов свободнорадикального окисления и липидной перекисидации в организме, фактором предупреждения и замедления атеросклероза сосудов, ишемической болезни сердца, гипертонической болезни и их исходов, а также других форм свободнорадикальной патологии (диабета типа II, катаракты, ревматоидного артрита и др). EGCG эффективно снижает уровень холестерина и триглицеридов в плазме [46], защищает кардиомиоциты от ишемических повреждений [47], снижает агрегацию тромбоцитов и артериальное давление, всасывание холестерина в кишечнике [48]. По другим данным, потребление катехинов чая не изменяет уровня холестерина и триглицеридов в плазме крови мышей. Однако уровень липидных пероксидов, площадь атероматозных полей в аорте, масса аорты, содержание холестерина и триглицеридов в ее стенке существенно снижаются (на 27% и 50% соответственно) [49]. Некоторые авторы (их немного) вообще отрицают ингибирование липидной перекисидации *in vivo* при регулярном потреблении чая [50]. По данным [51], суточное потребление чая обратно пропорционально снижению гомоцистеина — существенного фактора сердечно-сосудистой патологии. Концентрат зеленого чая обладает и противовоспалительным действием, в частности облегчает тяжесть течения колита [52] и артрита [53]. Длительное потребление чая, особенно зеленого, способствует снижению массы тела (за счет уменьшенного усвоения белков, углеводов). Активность АО-ферментов в организме и содержание восстановленного глутатиона в печени увеличиваются [54]. Экстракты зеленого чая ингибируют на 73,6% окисление линолевой кислоты, на 65–75% — концентрацию супероксидных радикалов. 1 мг экстракта (400 мг катехинов) инактивирует гидроксильные радикалы на 30–50%, а 4 мг экстракта — на 100% [55, 56], выступая в качестве синергиста кверцетина и других флавонолов.

Экстракты зеленого чая ингибируют кишечное всасывание глюкозы, ионов натрия [57], защищают тирозин от нитрования (эпикатехин в концентрации 0,02 моля ингибирует эффект 1 моля пероксинитрита [58]). На крысах Sprague-Dawley получена эффективная модель диабета: при содержании на диете, богатой фруктозой, в течение 12 недель у крыс, по сравнению с контролем, развились гипертония, гипергликемия и гиперинсулинемия. Инсулинстимулированное потребление глюкозы и связывание инсулина с адипоцитами (изолированными из эпидидимиса крыс) существенно снизились. Транспорт глюкозы в адипоцитах также снизился. Потребление зеленого чая (5 г лиофилизированного чая, растворенных в 100 мл деионизированной дистиллированной воды) в качестве питья вместо воды полностью устраняло метаболические дефекты и гипертонизию [59]. Введение в культуру клеток PC12 гидроксидамина индуцирует апоптоз клеток (*in vitro* модель нейродегенерации — паркинсонизма). В этих условиях EGCG и ECG эффективно ингибируют апоптоз [58].

Катехины зеленого чая с успехом используют для защиты от порчи и самоокисления скоропортящихся пищевых продуктов, например мяса макрели [61], обеспечивая исключительную стабильность рыбопродуктов при хранении. (+)-Катехин, вводимый *per os* крысам в течение 2–3 недель, резко уменьшает ожирение печени, вызванное жирной пищей, отравлением оротовой кислотой и алкоголем [62]. Экстракты зеленого чая защищают печень также от токсического действия липополисахарида и D-галактозамина, ингибируя TNF α -индуцированный апоптоз гепатоцитов [63].

Таким образом, биологическая активность и пищевая ценность чая обусловлены прежде всего высокой АО-активностью чайных катехинов и в силу этого их способностью противодействовать самоокислению скоропортящихся продуктов вне организма и свободнорадикальному окислению как фактору риска многих форм патологии.

Ингибиторная активность. Метаболизм и действие в организме человека и животных

Полифенолы чая легко связываются в организме с белками начиная с богатых пролином белков слюны. Связывание катехинов с мембранными белками, рецепторами, ферментами может приводить к различным

биологическим последствиям. EGCG и другие катехины ингибируют металлопротеиназы матрикса клеток (ММР-2 и ММР-9), ангиогенные факторы роста и их рецепторы, препятствуя новообразованию сосудов [74]. EGCG и EGC время- и дозозависимо ингибируют ДОФА-декарбоксилазу [75], орнитин-декарбоксилазу [76], 5-липоксигеназу [77], урокиназу [78] и множество других ферментов. С другой стороны, катехины чая стимулируют активность UDP-глюкуронозилтрансферазы печени [79], участвующей в глюкуронизации (конъюгации) катехинов. На долю чая приходится 63% потребляемых с пищей флавоноидов. В течение первых 3–5 мин после заваривания в горячей воде 69–85% флавоноидов переходит в растворимое состояние [80].

Связывание с белками слюны, пищи и пищеварительных соков частично предохраняет катехины чая от щелочной деструкции в кишечнике и способствует их всасыванию в плазму крови. После внутрижелудочного введения крысам декофеинированного экстракта зеленого чая в плазме появляются ~14% EGC и 31% EC, в то время как EGCG — менее 1% [34]. Основная часть этого катехина удаляется с фекалиями, будучи неусвоенной. У добровольцев через 1,4–2,4 ч после приема в 500 мл воды 1,5–3–4,5 г сухого декофеинированного экстракта зеленого чая в плазме обнаруживали 326 мкг/л EGCG, 550 мкг/л EGC и 190 мкг/л EC. Периоды полувыведения ($T_{1/2}$) составили 5,0–5,5 ч для EGCG и 2,3–3,4 ч для EGC и EC. 90% катехинов из плазмы экскретируются с мочой в первые 8 ч (EGC и EC) при потреблении пяти чашек чая в день. В фекалиях часть катехинов разлагается кишечной микрофлорой. Поскольку слюна человека содержит катехолэстеразу, EGCG уже в ротовой полости частично превращается в EGC и начинает всасываться. Потребление чая в малых количествах эффективнее, чем в больших [80]. EGCG и другие чайные катехины определяются в плазме человека методом хемилюминесцентной жидкостной хроматографии высокого разрешения [82]. Галловая кислота из выпитого чая всасывается весьма быстро ($T_{1/2} = 1,19 \pm 0,07$ ч) и элиминируется ($T_{1/2} = 1,06 \pm 0,06$ ч) неизменной (36,4 \pm 4,5%) либо в виде метаболита 4-о-метилгалловой кислоты (39,6 \pm 5,1%) [83].

Установлено, что в плазме крови волонтеров присутствует всего ~1,68% потребленных неизмененных катехинов — вследствие их неполного всасывания, быстрой деструкции, метаболизма и секвестрации, но имен-

но эта часть введенной дозы оказывает основное действие. Катехины в кишечнике всасываются (~35%) и поглощаются клетками слизистой оболочки, где метаболизируются с образованием глюкуронидов, сульфатов и 3-о-метилкатехинов. Дополнительное метилирование и сульфурация осуществляются в печени. Глюкурониды и сульфаты 3-о-метилкатехина экскретируются с желчью [84].

В последние 15–20 лет выполнено множество эпидемиологических исследований («случай–контроль», рандомизированных и проспективных), в том числе с использованием двойного слепого метода, с целью установления связи между потреблением зеленого и черного чая и заболеваемостью (смертностью) от сердечно-сосудистых и онкологических болезней. Полученные данные противоречивы. В большинстве работ показано, что систематическое ежедневное потребление зеленого и *oolong* чая (2–5 чашек в день), подобно потреблению других флавоноидов (кверцетина) снижает частоту ишемической болезни сердца, гипертонической болезни, инфарктов и инсультов (и смертности от них) — за счет угнетения окисления липидов низкой плотности (LDL), снижения концентрации холестерина в плазме, систолического артериального давления, агрегации тромбоцитов. Однако в нескольких тщательно выполненных исследованиях такой эффект был на грани достоверности либо вообще отсутствовал [5, 85].

Особенно пристальное внимание ученых привлекло изучение антимуутагенного и противоопухолевого действия чайных катехинов, прежде всего наиболее мощного из них — EGCG. В клеточных культурах антиканцерогенный эффект чайных катехинов достигается в 100% случаев, как и антимуутагенез в тесте Эймса. Катехины уменьшают трансформацию клеток ЗТЗ, тормозят кожный канцерогенез при местном применении химических канцерогенов и УФ-радиации (особенно активна в этих экспериментах танниновая кислота). EGCG и другие чайные катехины тормозят рост трансплантируемых опухолей у крыс, прогрессию доброкачественных папиллом в плоскоклеточный рак кожи. Катехины подавляют нитрозаминный канцерогенез пищевода, легких, желудка у мышей [86]. Основные механизмы антиканцерогенеза EGCG — это уменьшение метаболической активации полициклических углеводородов, 3,4-бензпирена, нитрозаминов за счет АО-эффекта; усиление детоксикации канцерогенов, уменьшение

связывания и алкилирования ДНК [67]. Причем во всех случаях наиболее эффективным был EGCG. В концентрациях менее 100 мкМ/л он дозозависимо предотвращает хромосомные повреждения, вызванные всеми активными формами кислорода [20]. Ингибируя активность орнитиндекарбоксилазы, факторов роста, циклооксигеназы, теломеразную и топоизомеразную активность, активируя Т-клетки-киллеры, чайные катехины препятствуют росту опухолевого зачатка и усиливают иммунную реакцию организма [87]. EGCG ингибирует адгезию опухолевых клеток (линии 3LD рака легких мышей) к монослою клеток эндотелия легких быка [88]. Кофеин, присутствующий в чае, во всех исследованных случаях выступал как синергист катехинов, не действуя на нормальные клетки [89]. Наконец, катехины и, главным образом, EGCG ингибируют ангиогенез и пролиферацию клеток эндотелия — ключевую стадию роста и метастазирования раковых опухолей [90], активность сосудистых факторов роста [11]. Существует, видимо, и общий механизм антипролиферативного (антиатероматозного и антиканцерогенного) действия EGCG, состоящий в необратимом связывании его с фактором роста тромбоцитов. Это уменьшает связывание фактора роста с соответствующими рецепторами и угнетает митогенез [91]. EGCG также индуцирует и усиливает апоптоз опухолевых клеток, ингибирует их инвазию [11], блокирует клеточный цикл опухолевых клеток в G₀/G₁-фазе [92]. Полифенолы зеленого чая на 45% снижают частоту рака легкого у мышей, обусловленного табачным дымом [11], угнетают рост рака предстательной железы путем остановки клеточного цикла в той же фазе, усиления апоптоза клеток [93]. Эти эффекты опосредованы через ген *WAF1/p21* [94]. Потребление зеленого чая существенно (на 71–75%) тормозит рост колоректального рака [95]. Шестимесячное потребление зеленого чая обеспечивает регрессию лейкоплакий слизистой оболочки ротовой полости на 37,9% [96].

Обширные эпидемиологические исследования на больших когортах людей в Японии, США, Китае, Финляндии, Канаде и других странах в большинстве случаев обнаружили обратную корреляцию между количеством ежедневно потребляемого чая (главным образом зеленого) и заболеваемостью раком желудка, поджелудочной железы, мочевого тракта, женских половых органов, лейкемией. Употребление двух и более чашек чая ежедневно снижает частоту рака пищевари-

тельного и урогенитального тракта на 60% и 32% соответственно [97]. В исследовании [98] показано, что потребление зеленого чая снижает риск атрофических гастритов, рака желудка, кожи наряду с ишемической болезнью сердца и многими микробными инфекциями. Потребление черного чая женщинами существенно снизило у них заболеваемость раком сигмовидной и прямой кишки; у мужчин эффект отсутствовал [99]. В то же время восьмилетнее исследование с участием 25 000 жителей Японии не подтвердило связи между потреблением зеленого чая и раком желудка [100]. К такому же выводу пришли авторы работы [101]. Употребление горячего чая (с температурой выше 60 °С) увеличивает частоту рака пищевода [102].

Вместе с тем, мнение специалистов единодушно: чайный катехин EGCG — это новое мощное противораковое средство природного происхождения, весьма перспективное в качестве химиотерапевтического препарата. В пользу такого вывода говорят многочисленные выявленные механизмы действия EGCG: нейтрализация активных форм кислорода, в том числе пероксильных радикалов ROO[•] [54]; ингибирование желатиназ (металлопротеиназ), орнитиндекарбоксилазы, урокиназы и других биохимических маркеров инициации и промоции опухолей [11, 92]; цитохромов 450 и других ферментов метаболической активации канцерогенов [92]; клеточного цикла и индукции апоптоза опухолевых клеток [11, 92]; синтеза ДНК и образования пероксильных радикалов в опухолевых клетках [66]; ангиогенеза и активности сосудистых факторов роста [11]; пролиферации опухолевых клеток и прогрессии опухоли путем связывания EGCG с тирозинкиназой — рецептором эпидермального фактора роста [92]; активности NO-синтазы и угнетения активации транскрипционного фактора NF-κB [20, 92]; фактора транскрипции AP-1, ответственного за эффект тумор-промоции [92, 98]; агрегации тромбоцитов и синтеза тромбоксанов с защитой клеток эндотелия от повреждения [14].

Однако у человека противоопухолевый эффект EGCG ниже ожидаемого из-за недостаточной концентрации его в крови и плазме после перорального поступления. Ограничивают эффективность этого катехина низкая его всасываемость, интенсивный метаболизм (биотрансформация, конъюгация) с потерей активности. В итоге усваивается менее 3,5% введенной дозы EGCG. Если ориентироваться на эффективность в отношении

клеточных линий рака человека [103], то из-за плохой усвояемости катехина требуется выпивать в сутки 1,5 л зеленого чая. Однако при этом неизбежны побочные эффекты за счет кофеина, который содержится в количестве 70 мг на чашку чая [104]. Токсичность самих чайных катехинов минимальна, побочные эффекты чрезвычайно редки. Поскольку синтезировать EGCG пока не удается [11], ведутся синтез, поиск и испытания среди его аналогов [105].

Вышеперечисленные механизмы действия EGCG в большей или меньшей степени обусловлены АО-эффектом. Но в последнее время появляются данные несколько иного порядка, которые, возможно, будут способствовать прогрессу в этой чрезвычайно важной области. Как уже отмечалось, EGCG образует в организме конъюгаты — глюкурониды, сульфаты и метилаты. Причем глюкурониды лишены АО-активности, тогда как сульфаты и метилаты ее частично сохраняют. Весьма возможно, что метилирование следует рассматривать как звено механизма действия EGCG, а не как факт инактивации [106]. Чайные катехины — акцепторы метильных групп от S-аденозил-L-метионина (SAM), они ингибируют метаболизм метионина и гомоцистеина. Катализируемое катехол-о-метилтрансферазой (КОМТ) о-метилирование катехинов чая ингибируется в зависимости от концентрации S-аденозил-L-гомоцистеином (деметилированным продуктом SAM). Противоопухолевое действие зеленого чая проявляется только при наличии хотя бы слабой активности КОМТ [107]. Дальнейшие исследования внесут ясность и в этот вопрос.

Таким образом, следует отметить, что уникально высокая концентрация и антиоксидантная активность фенольных соединений (катехинов) делает чай, его листья не только ценнейшим пищевым продуктом с высоким профилактическим действием, но и важным средством лечения наиболее распространенных заболеваний человека, в патогенезе которых важную роль играет активация свободнорадикального окисления, в частности липидной пероксидации. Возможность создания на основе катехинов чая (прежде всего EGCG) эффективных лечебных препаратов ограничивают его низкая растворимость и короткое время полужизни в организме. Предпринимаемые ныне попытки создать на основе катехинов чая более растворимые и долгоживущие производные являются весьма перспективными.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Haslam E.* Plant polyphenols. Vegetable tannins revisited. — Cambridge: Univ. Press. Cambridge, 1989. — 230 p.
2. *Запрометов М. Н.* Фенольные соединения. — М.: Наука, 1993. — 272 с.
3. *Барабой В. А.* Биологическое действие растительных фенольных соединений. — К: Наук. думка, 1976. — 230 с.
4. *Rosinsky V., Michael Ch., Bors W.* // Arch. Biochem. Biophys. — 2000. — V. 38. — P. 74–80.
5. *Барабой В. А.* Биоантиоксиданты. — К.: Книга плюс, 2006. — 513 с.
6. *Trevisanato S. J., Kim Y.-J.* // Nutr. Revs. — 2000. — V. 58. — P. 1–10.
7. *Graham H. N.* Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry // Prev. Med. — 1992. — V. 21. — P. 334–350.
8. *Lee K. W., Lee H. J.* Antioxidant Activity of Black Tea vs. Green Tea // J. Nutr. — 2002. — V. 132. — P. 785–5.
9. *Liu Y. L., Juan I.-M., Chen Y. L. et al.* Composition of polyphenols in fresh tea leaves and associating of their oxygen-radical-absorbing capacity with antiproliferative actions in fibroblast cells // J. Agric. Food Chem. — 1996. — V. 44. — P. 1387–1394.
10. *Vinson J. A., Dabbagh Y. A., Serry M. M., Jang I.* Plant Flavonoids, Especially Tea Flavonols, Are Powerful Antioxidants Using an in Vitro Oxidation Model for Heart Disease // Ibid. — 1995. — V. 43. — P. 2800–2802.
11. *Webb T.* Green tea experiments in lab, clinic yield mixed results // J. Nat. Cancer Inst. — 2000. — V. 92. — P. 1038–1059.
12. *Price K. R., Rhodes M. J. C., Barnes K. A.* Composition and Content of Flavonol Glycosides in Green Beans and Their Fate during Processing // J. Agric. Food Chem. — 1998. — V. 46. — P. 2517–2522.
13. *Kuba J., Morimitsu Y.* Cytotoxicity of green tea flavor components against two solid tumor cells // Ibid. — 1995. — V. 43. — P. 1626–1628.
14. *Hertog M. G. L., Hollman P. C. H., Putte B.* Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wine, and fruit juices // Ibid. — 1993. — V. 41. — P. 1242–1246.
15. *Jang C. S., Wang Z. Y.* Tea and cancer // J. Nat. Cancer Inst. — 1993. — V. 85. — P. 1038–1049.
16. *Bors W., Hellers W., Michel C., Saran M.* Radical chemistry of flavonoid antioxidants // Antioxidants in therapy and preventive medicine / Ed. B. Emerit. — N.Y.: Plenum Press, 1990. — V.1. — P. 165–170.
17. *Bombardelli E., Morazzoni P.* The flavonoids: new perspectives in biological activi-

- ties and therapeutics // *Chim. Oggi.* — 1993. — V. 11. — P. 25–28.
18. *Van Acker S. A. B. E., Tromp M. N. J. L., Haennen G. R. M. M.* Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* — 1995. — V. 214. — P. 755–759.
 19. *Schroeder P., Zhang H., Klotz L. O. et al.* (-)-Epicatechin inhibits nitration and dimerization of tyrosine in hydrophilic as well as hydrophobic environments // *Ibid.* — 2001. — V. 289. — P. 1334–1338.
 20. *Lin Y. L., Lin J.-K.* Epigallocatechin-3-gallate blocks the induction of nitric oxide synthase by down-regulating lipopolysaccharide-induced activity of transcription factor NFκB // *Molek. Pharmacol.* — 1997. — V. 52. — P. 465–472.
 21. *Yokosawa T., Dong E., Nakagawa T., Kashiwagi H.* In vitro and in vivo studies of the radical-scavenging activity of tea // *J. Agric. Food. Chem.* — 1998. — V. 46. — P. 2143–2150.
 22. *Pannala A. S., Chan T. S., O'Brien P. J., Rice-Evans C. A.* Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* — 2001. — V. 282. — P. 1161–1168.
 23. *Chang W. C., Hsu F. L.* Inhibition of platelet activation and endothelial cell injury by flavan-3-ol and saikosaponin compounds // *Prostaglandins, Leukot. Essent. Fatty Acids.* — 1991. — V. 44. — P. 51–56.
 24. *Aldini G., Yeun K. J., Krinsky N. J., Russell R. M.* (-)-Epigallocatechin-(3)-gallate spares plasma lipid-soluble antioxidants, recycled vitamin E and prevents oxidative damage of both aqueous and lipid compartments in plasma // *FASEB J.* — 2002. — V. 16. — Abstr. 1. — P. 2066.
 25. *Hageman A. E., Dean R. T., Davies M. J.* Radical chemistry of epigallocatechin gallate and its relevance to protein damage // *Arch. Biochem. Biophys.* — 2003. — V. 414. — P. 115–120.
 26. *Hatta A., Frei B.* Oxidative modification and antioxidant protection of human low density lipoprotein at high and low oxygen partial pressures // *J. Lipid Res.* — 1995. — V. 36. — P. 2385–2393.
 27. *Luo M., Kannar K., Waldquist M. C., O'Brien R. C.* Inhibition of LDL oxidation by green tea extract // *Lancet.* — 1997. — V. 349. — P. 3360–361.
 28. *Negre-Salvagre A., Salvagre R.* Quercetin prevents the cytotoxicity of oxidized LDL on lymphoid cell lines // *Free Radic. Biol. Med.* — 1992. — V. 12. — P. 101–106.
 29. *Berg P. A., Daniel P. T.* Effects of flavonoid compounds on the immune response // *Piod. Clin. Biol. Res.* — 1988. — V. 280. — P. 157–171.
 30. *Mackenzie G. G., Carrasquedo F., Delfino J. M. et al.* Epicatechin, catechin and dimeric procyanidins inhibit PMA-induced NF-κB activation at multiple steps in Jurkat T cells // *FASEB J.* — 2004. — V. 18. — P. 167–169.
 31. *Yen G.-Ch., Chen H.-J., Penn H. H.* Antioxidant and prooxidant effects of various tea extracts // *J. Agric. Food Chem.* — 1997. — V. 45. — P. 30–34.
 32. *Roedig-Penman A., Gordon M. H.* Antioxidant properties of catechins and green tea extracts in model food emulsions // *Ibid.* — 1997. — V. 45. — P. 4267–4270.
 33. *Cao G., Sofic E., Prior R. L.* Antioxidant capacity of tea and common vegetables // *Ibid.* — 1996. — V. 44. — P. 3426–3431.
 34. *Hayarawa F., Kimura T., Fujita M. et al.* DNA cleavage reaction and linoleic acid peroxidation induced by tea catechins in the presence of cupric ion // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1997. — V. 1336. — P. 123–131.
 35. *Yen G.-Ch., Chen H.-Y., Peng H.-H.* Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts // *J. Agric. Food Chem.* — 1997. — V. 45. — P. 30–34.
 36. *Guo Q., Zhao B., Li M. et al.* Studies of protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosomes // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1996. — V. 1304. — P. 210–222.
 37. *Wiseman S. A., Balentine D. A., Frei B.* Antioxidants in tea // *Crit. Rev. Food Sci.* — 1997. — V. 37. — P. 705–718.
 38. *Hurrell R. F., Reddy M., Cook J. D.* Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenol-containing beverages // *Br. J. Nutr.* — 1999. — V. 81. — P. 289–95.
 39. *Guo Q., Yhao B., Shen Sh., Hou J.* ESP study of the structure-antioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1999. — V. 1427. — P. 13–23.
 40. *Huang S.-W., Frankel E. N.* Antioxidant Activity of Tea Catechins in Different Lipid Systems // *J. Agric. Food Chem.* — 1997. — V. 45. — P. 3033–3038.
 41. *Unten L., Koketsu M., Kim M.* Antidiscoloring activity of green tea polyphenols on β-carotene // *Ibid.* — 1997. — V. 45. — P. 2009–2012.
 42. *Sawai Y., Sakaya K.* NMR analytical approach to clarify the antioxidative molecular mechanism of catechins using 1,1-daphenyl-2-picrylhydrazyl // *Ibid.* — 1998. — V. 46. — P. 111–114.
 43. *Kondo K., Kurichara M., Mijata M. et al.* Inhibition of LDL oxidation by cocoa // *Arch. Biochem. Biophys.* — 1999. — V. 362. — P. 79–86.

44. *Chen Z. Y., Zhu Q. Y., Wong Y. F. et al.* Stabilizing effect of ascorbic acid on green tea catechins // *J. Agric. Food Chem.* — 1998. — V. 46. — P. 2512–2516.
45. *Zhu Q. Y., Zhang A., Tsang D. et al.* Stability of green tea catechins // *Ibid.* — 1997. — V. 45. — P. 4624–4628.
46. *Loest H. B., Noh S. K., Koo S. J.* Green tea extract inhibits the lymphatic absorption of cholesterol and {alpha}-tocopherol in ovariectomized rats // *J. Nutr.* — 2002. — V. 132. — P. 1282–1288.
47. *Townsend P. A., Scarabelli T. M., Pasini E. et al.* Epigallocatechin-3-gallate inhibits STAT-1 activation and protects cardiac myocytes from ischemia reperfusion-induced apoptosis // *FASEB J.* — 2004. — V. 18. — P. 1621–1623.
48. *Chisaka T., Matsuda H., Kabomuta Y., Mohizuki M.* The effect of crude drugs on experimental hypocholesteremia; mode of action of (-)-epigallocatechin gallate in tea leaves // *Chem. Pharm. Bull.* — 1988. — V. 36. — P. 227–233.
49. *Miura Y., Chiba T., Tomita Y. et al.* Tea catechins prevent the development of atherosclerosis in apoprotein E-deficient mice // *J. Nutr.* — 2001. — V. 131. — P. 27–32.
50. *Hodgson J. M., Groft K. D., Mori T. A.* Regular ingestion of tea does not inhibit ivo lipid peroxidation in humans // *Ibid.* — 2002. — V. 132. — P. 55–58.
51. *Nygaard O. S., Refsum H., Ueland P. M.* Association of serum lipids with cofee, tea, and egg consumption in free living subjects // *Am. J. Clin. Nutr.* — 1997. — V. 65. — P. 136–143.
52. *Varilek G. W., Yang F., Lee E. J., Lee J. P.* Green tea polyphenol extract attenuates inflammation in interleukin-2-deficient mice, a model of autoimmunity // *J. Nutr.* — 2001. — V. 131. — P. 2034–2039.
53. *Adcock C., Collin P., Duttile D. J.* Catechins from green tea inhibit bovine and human cartilage proteoglycan and type II collagen degradation *in vivo* // *Ibid.* — 2002. — V. 132. — P. 341–346.
54. *Lin Y.-L., Cheng Ch.-Y., Lin Y.-P. et al.* Composition of polyphenols in green tea leaves and associations of their oxygen-radical-absorbing capacity with antiproliferative action in fibroblast cells // *J. Agric. Food Chem.* — 1998. — V. 46. — P. 1893–1899.
55. *Yen G.-Ch., Chen H.-Y.* Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity // *Ibid.* — 1995. — V. 43. — P. 27–32.
56. *Samman S., Wall P. M. L., Cook N. C.* Flavonoids and coronary heart disease: Dietary perspectives // *Flavonoids in health and disease* / Ed. C.A. Rice-Evans, L. Packer. — N.Y.: Marcel Dekker, 1998. — P. 469–481.
57. *Sawsan I. K., Elias A. H. B., Zepure M. C.* Tea extract inhibits intestinal absorbtion of the glucose and sodium in rat // *Compt. Rend. Physiol.* — 1994. — 108 c. — P. 359–365.
58. *Schaefer P., Klotz L.-O., Buchczyk D. P. et al.* Epicatechin selectively prevents nitration but not oxidation reactions of peroxynitrite // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* — 2001. — V. 285. — P. 782–787.
59. *Wu L.-Y., Juan Ch.-Ch., Hwang L. S. et al.* Effect of green tea supplementation on insulin sensitivity in Sprague-Dawley rats // *Eur. J. Nutr.* — 2004. — V. 43. — P. 116–124.
60. *Nie G., Jin Ch., Cao Y. et al.* Distinct effects of tea catechins on 6-hydroxydopamine induced apoptosis in PC12 cells // *Arch. Biochem. Biophys.* — 2002. — V. 397. — P. 84–90.
61. *He Y., Shahidi F.* Antioxidant activity of green tea and its catechins in a fish meat model system // *J. Agric. Food Chem.* — 1997. — V. 45. — P. 4262–4266.
62. *Gaidos A., Gaidos-Toro K. M., Horn R.* Action de la (+)-katechine sur le tissue hepatique de rat blank soumis l’ethanol // *Compt. Rend. Soc. Biol.* — 1970 (1971). — V. 164. — P. 1967–1970.
63. *He P., Noda Y., Sugiyama K.* Green tea suppresses lipopolysaccharide-induced liver injury in d-galactosamine-sensitized rats // *J. Nutr.* — 2001. — V. 131. — P. 1560–1567.
64. *Opplinger P.* Das neue Buch vom grunen Tee. — Augsburg: Midena, 1999. — 125 p.
65. *Yang Ch. S., Cheng J. Y., Yang G.-Y., Chhabra S. K.* Tea and tea polyphenols in cancer prevention // *J. Nutr.* — 2000. — V. 130. — P. 472–478.
66. *Lee K. W., Lee H. J.* Antioxidant Activity of Black Tea vs. Green Tea // *Ibid.* — 2002. — V. 132. — P. 785–795.
67. *Dreosti I. E.* Bioactive ingredients: antioxidants and polyphenols in tea // *Nutr. Revs.* — 1996. — V. 54. — P. 551–558.
68. *Sarkar A., Bhaduri A.* Black tea is a powerful chemopreventor of reactive oxygen and nitrogen species: comparison with its individual catechin constituents and green tea // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* — 2001. — V. 284. — P. 173–178.
69. *Lu J., Ho Ch.-T., Ghai B., Chen K. Y.* Differential effects of teaflavin monogallates on cell growth, apoptosis, and cox-gene expression in cancerous and normal cells // *Cancer Res.* — 2000. — V. 60. — P. 6465–6471.
70. *Liao J., Yang G.-Y., Li C.* Growth inhibition, apoptosis induction, and H₂O₂ production in human bronchial cancer cell lines by black teaflavins and green tea catechins // *PAA Cancer Res.* — 1999. — V. 40. — P. 513–553.

71. Джемухадзе К. М., Бузун Т. А., Милешко Л. Ф., Бокучава В. К. Биохимические основы повышения питательных и пищевкусных свойств чая // Тез. научн. сообщ. IV Всесоюз. биохим. съезда. — М.: Наука. — 1976. — Т. 1. — С. 138.
72. Jansman A. J. M. Tannins in feedstuffs for simple stomached animals // Nutr. Res. Revs. — 1993. — V. 6. — P. 209–236.
73. Han Chi, Xu Yong. The effect of Chinese tea on occurrence of esophageal tumor induced by N-nitrosomethylbenzylamine in rats // Clin. J. Prev. Med. — 1989. — V. 23. — P. 67–70.
74. Tosetti F., Ferrari N., Flora S., Albini A. Angioprevention: angiogenesis is a common and key target for cancer chemopreventive agents // FASEB J. — 2002. — V. 16. — P. 2–14.
75. Bertoldi M., Gonsalvi M., Voltattorni C. B. Green tea polyphenols: novel irreversible inhibitors of dopa decarboxylase // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2001. — V. 284. — P. 90–93.
76. Agarwal R., Katiyar S. K., Zaidi S. J. A., Mukhtar H. Inhibition of skin tumor promoter-induced induction of epidermal ornithine decarboxylase in SENCAR mice by polyphenolic fraction isolated from green tea // Cancer Res. — 1992. — V. 52. — P. 3582–3588.
77. Schewe T., Kuhn H., Sies H. Flavonoids of cocoa inhibit recombinant human 5-lipoxygenase // J. Nutr. — 2002. — V. 132. — P. 1825–1829.
78. Cao Y., Cao R. Angiogenesis inhibited by drinking tea // Nature. — 1999. — V. 398. — P. 6726 — P. 381.
79. Bu-Abbas A., Clifford M. N., Ioannides C., Walker R. Stimulation of rat hepatic UDP-glucuronosyl transferase activity following treatment with green tea // Food Chem. Toxicol. — 1995. — V. 33. — P. 27–30.
80. Keli S. O., Hertog M. G. L., Feskens E. J. M., Kroumhout D. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke. The Zutphen Study // Arch. Intern. Med. — 1996. — V. 156. — P. 637–642.
81. Yang C. S., Chen L., Lee M.-Y. et al. Blood and urine levels of tea catechins after ingestion of different amounts of green tea by human volunteers // Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. — 1998. — V. 7. — P. 351–354.
82. Nakagawa K., Miyazawa T. Chemiluminescence-high performance liquid chromatographic determination of tea catechin, (-)-epigallocatechin-3-gallate, at picomole levels in rat and human plasma // Anal. Biochem. — 1997. — V. 48. — P. 41–49.
83. Shahrzad S., Aoyagi K., Winter A. et al. Pharmacokinetics of gallic acid and its relative bioavailability from tea in healthy humans // J. Nutr. — 2001. — V. 131. — P. 1207–1210.
84. Donovan J. L., Crespy V., Manach C. et al. Catechin Is Metabolized by Both the Small Intestine and Liver of Rats // Ibid. — 2001. — V. 131. — P. 1753–1757.
85. Yang C. S., Landau J. M. Effects of Tea Consumption on Nutrition and Health // Ibid. — 2000. — V. 130. — P. 2409–2412.
86. Барабой В. А. Фенольные соединения, канцерогенез и опухолевый рост // Актуальные проблемы биологии и медицины. — 1993. — Т. 1. — С. 107–120.
87. Keloff G. J., Crowell J. A., Steele V. T. et al. Progress in Cancer Chemoprevention: Development of Diet-Derived Chemopreventive Agents // J. Nutr. — 2000. — V. 130. — P. 467–471.
88. Isemura M., Suzuki Y., Satoh K. et al. Effects of catechins on the mouse lung carcinoma cell adhesion to the endothelial cells // Cell Biol. Int. — 1993. — V. 7. — P. 559–564.
89. Berger S. J., Gupta S., Belfi Ch. A. et al. Green tea constituent (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits topoisomerase I activity in human colon carcinoma cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2001. — V. 288. — P. 101–105.
90. Singh A. K., Seth P., Antony P. et al. Green tea constituents epigallocatechin-3-gallate inhibits angiogenic differentiation of human endothelial cells // Arch. Biochem. Biophys. — 2002. — V. 401. — P. 29–37.
91. Weber A.-A., Neuhaus Th., Skah A. et al. Mechanisms of the inhibitory effects of the epigallocatechin-3-gallate on platelet-derived growth factor -BB-induced cell signaling and mitogenesis // FASEB J. — 2004. — V. 18. — P. 128–130.
92. Ahmad N., Mukhtar H. Green tea polyphenols and cancer: biologic mechanisms and practical implications // Nutr. Revs. — 1999. — V. 57. — P. 78–83.
93. Gupta S., Hussain T., Mukhtar H. Molekulare Leitungsbahn bei durch (-)-Epigallocatechin-3-Gallat-induziertem ellzyklusstillstand und Apoptose der rostatarkarzinomzellen bei Menschen // Arch. Biochem. Biophys. — 2003. — V. 410. — P. 177–185.
94. Sakanoto K., Ahmad N., Gupta S. Synergy of black and green tea polyphenols with genistein in inhibitory human prostate cancer cell growth // PAA Cancer Res. — 1999. — V. 40. — P. 531–599.
95. Weyant M. J., Carothers A. M., Dannenberg A. J., Bertagnolli M. M. (+)-Catechin inhibits intestinal tumor formation and suppresses focal adhesion kinase (FAK) activation in the Min/+ mouse // Cancer Res. — 2001. — V. 61. — P. 118–125.

96. *Li N., Sun H., Han C., Chen Y.* The chemopreventive effects of tea on human oral precancerous mucosa lesions // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* — 1999. — V. 220. — P. 218–224.
97. *Zheng W., Doyle T. J., Kushi L. H. et al.* Tea consumption and cancer incidence in a prospective cohort study of postmenopausal women // *Am. J. Epidemiol.* — 1996. — V. 144. — P. 175–181.
98. *Sano T., Sasako M.* Green tea and gastric cancer // *N. Engl. J. Med.* — 2001. — V. 344. — P. 675–676.
99. *Ilyasova D., Arab L., Martinchik A.* Black tea consumption reduces risk of rectal cancer among women in Moscow // *FASEB J.* — 2001. — V. 15. — Adstr. 1. — A401.
100. *Tsubono Y., Nishino Y., Komatsu Sh.* Green tea and the risk of gastric cancer in Japan // *N. Engl. J. Med.* — 2001. — V. 344. — P. 632–643.
101. *Acts J. C. W., Hollman P. C. H., Bas Bueno de Mesquita H.* Dietary catechins and epithelial cancer incidence // *Int. J. Cancer.* — 2001. — V. 92. — P. 298–302.
102. *Dong Z., Ma W.-Y., Huang C.* Inhibition of tumor-promoter induced activator protein 1 activation and cell transformation by tea polyphenols, (-)-epigallocatechin gallate and theaflavins // *Cancer Res.* — 1997. — V. 57. — P. 4414–4419.
103. *Yang Ch. S., Chung J. Y., Yang G. Y.* Tea and tea polyphenols in cancer prevention // *J. Nutr.* — 2000. — 130. — P. 472–478.
104. *Chen L., Lee M. Y., Yang C. S.* Absorption, distribution, elimination of tea polyphenols in rats // *Drug Metab. Dis.* — 1997. — V. 25. — P. 1045–1050.
105. *Zaweri N. T., Chao W.-R.* Synthetic analogs of green tea catechins and their in vitro and in vivo growth inhibition activity // *Clin. Cancer Res.* — 1999. — V. 5. — P. 3844–3868.
106. *Moyers S. B., Kumar N. B.* Green tea polyphenols and cancer chemoprevention: multiple mechanisms and endpoints for phase II trials // *Nutr. Revs.* — 2004. — V. 62. — P. 204–211.
107. *Wu A. H., Tseng C. C., van den Berg D., Yu M. C.* Tea intake, COMT genotype, and breast cancer in Asian-American women // *Cancer Research.* — 2003. — V. 63. — P. 7526–7529.

УДК 581.6

Тиунова Алина Юрьевна

Тiunova Alina Yuryevna

Студент

Student

Мысаков Денис Сергеевич

Mysakov Denis Sergeevich,

Ph.D., Associate Professor

ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет»

Ural State University of Economics

ИЗУЧЕНИЕ АКТУАЛЬНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ХВОЦА ПОЛЕВОГО В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ И ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

STUDY OF THE RELEVANCE OF THE USE OF FIELD HORSETAIL IN THE PHARMACEUTICAL AND FOOD INDUSTRY

Аннотация: Хвоц полевой издавна считается лекарственным. Авторы настоящей статьи утверждают, что сегодня отсутствует единая точка зрения по системе классификации хвощей и в целом семейства. В результате проведенного анализа они приходят к выводу, что выводимые генетикой клоны, огромное количество гибридов и мутации являются большой проблемой для создания единой всеобъемлющей систематики хвоща, который, по приближенному вычислению включает в себя, по меньшей мере, 35 видов. И большинство из этих видов обладают уникальным химическим составом, обуславливающим их пользу для организма человека.

Abstract: Field horsetail has long been considered medicinal. The authors of this article argue that today there is no single point of view on the classification system of horsetails and the family as a whole. As a result of the analysis, they come to the conclusion that clones derived by genetics, a huge number of hybrids and mutations are a big problem for creating a single comprehensive taxonomy of horsetail, which, according to an approximate calculation, includes at least 35 species. And most of these species have a unique chemical composition that determines their benefit to the human body.

Ключевые слова: хозяйство, хвоц, сорняки, систематика, состав, пища, медицина.

Keywords: economy, horsetail, weeds, systematics, composition, food, medicine.

Современное изучение растений проводится с учетом новых фактов о влиянии различных соединений на организм человека. Растительный мир содержит множество биологически активных веществ, представляющих интерес с различных точек зрения. В этом аспекте особую значимость представляют макро- и микроэлементы, которые могут быть рассмотрены как самостоятельные биологические агенты, так и являясь кофакторами биологически активных соединений. Также стоит учитывать особенности вегетативной системы, из-за которой растения могут накапливать из окружающей среды значительные количества токсических контаминантов, в том числе тяжелые металлы, ациклические углеводороды, радиоизотопы и т.д.

Количество накопленных посторонних веществ и соединений можно считать степенью экологического качества сырья, на основании чего можно предполагать его дальнейшее использование в пищевых и лекарственных целях. Не стоит упускать из внимания и то, что химический состав растений считается хемотаксономическим признаком в ботанической классификации, что позволяет говорить о более высоких уровнях накопления отдельных элементов конкретными сортами растений. Примерами в данном случае можно выделить, например, повышенное содержание микроэлемента хлора в рясках, молибдена в фасоли, йода в ламинарии и т.д.).

Растения рода *хвоц* (*Equisetum L.*) являются распространенными сорняками и, по данным ботанических исследований, произрастали еще в Каменном веке, что позволяет их отнести к древнейшим ископаемым растениям. Само наименование рода *Equisetum* состоит из латинского слова *equus*, что означает «лошадь», и *seta*, что означает «щетина», но также употребляется в варианте «хвост». Такое родовое имя было найдено еще у философа-ученого, древнеримского энциклопедиста и государственного деятеля II века н.э. Плиния для единственного изучаемого им рода хвоща, сравниваемый им с хвостом лошади из-за размеров веточек растения. В дальнейшем уже шведский естествоиспытатель XIII в., создатель классификации животных и подробное описание растений Карл Линней

принял данный термин как основополагающий для родового названия. Стоит отметить, что хвощ полевой действительно используется ветеринарами для лечения множество болезней у лошадей.

В настоящий момент хвощи относятся к многолетним споровым травянистым растениям с очень разнообразными ботаническими характеристиками. Например, погода и соседствующие растения могут влиять на параметры стебля, создавая значительные отличия даже у соседних родов, и внутри одного клона, что позволяет говорить о крайней степени полиморфизма. Рассматриваемые растения могут быть как очень маленькими с высотой до 15 см, так и до 5 м. Если принять во внимание исключительно территорию нашей страны, то в РФ хвощ полевой включает 16 видов, содержащими в себе 5 гибридов, произрастая в Центральной части России, Сибири и на Дальнем Востоке, встречаясь даже на крайнем Севере и по всему югу.

Хвощ, если рассмотреть его строение, обладает длинным, тонким горизонтально вытянутым и раскидистым корневищем, обладая небольшими клубеньками, и глубоко находится в земле. При наступлении весны хвощ приобретает неразветвленные красные побеги высотой до 25 см, имеющие на конце спороносный колос, которые после процессов вызревания отмирают. На их месте после этого начинают летом развиваться новые так же бесплодные разветвленные вегетативные побеги высотой до 60 см. Именно их сбор проводится с целью дальнейшего использования и его осуществляют исключительно в сухое время года, отрезая часть стебля на высоте 5 см. После заготовки отрезанные части стебля высушивают, тонким слоем не более 5 см толщиной в сухом, теплом, хорошо проветриваемом месте вне доступа прямых солнечных лучей [1, с. 22].

В российской народной медицине применяются различные формы все открытые на сегодня виды хвощей, за исключением хвоща болотного. Однако при этом официальной медициной законодательно утвержден хвощ полевой. Такая ситуация приводит к массовым случаям фальсификации на

потребительском рынке, так как добавление различных видов хвоща в смеси гибридов никаким образом не отслеживается. Современная фармацевтическая промышленность представлена лишь выпуском перемолотой травы хвоща полевого, расфасованную в пачки и фильтр-пакетах.

В ходе изучения химического состава хвощей в 20-х годах прошлого века первыми были выделены алкалоиды и сапонины, из которых в последующем исследователями были выделены эквизетрин, лютеолина, а также производные кемпферола и кверцетина [2, с. 366].

Известно, что хвощ полевой включает в себя большую массовую долю дубильных веществ, смол и витаминами группы В, витамин С (30-190 мг/%), витамин А (4,7 мг/%), белки, в большом количестве соединения кремния, селена и цинка. Кроме того, конкретно виды хвоща полевой, болотный и речной обладают бактерицидным действием за счет наличия в них нелетучих гуттационных жидкостей и летучих фитонцидов.

Можно выделить главную особенность хвоща, которая заключается в способности аккумулировать в растительной ткани кремний, играющий ключевую роль в состоянии костей. Этот микроэлемент имеет повышенную эффективность при профилактике и лечении остеопороза и снижение ломкости ногтей [3, с. 10]. Как показали исследования в клиниках Европы, при употреблении пациентами препаратов на основе хвоща сокращается время восстановления поврежденных костей. Также научно-обосновано, что появление большого количества патологических процессов, среди которых в первую очередь можно выделить кровотечения, геморрой, грибковые заболевания, ревматизм, псориаз, различные кровотечения, а также мочекаменная и желчекаменная болезни, напрямую происходит из-за нарушения обмена веществ ввиду недостаточного количества соединений кремния в организме человека. Существуют рекомендации, указывающие на противоонкологическую функцию кремния, что подтверждается минеральной природой кремния и активной его роли в стимуляции образования соединительной ткани организма [4].

В таких исследованиях важно учитывать особенности кумуляции хвощем значительных количеств водорастворимых солей кремниевой кислоты, обладающей повышенной всасываемостью в желудочно-кишечном тракте и последующему выделению почками, вызывая их раздражение. Помимо этого, соединения, присутствующие в хвоще, обладают антиалиментарными свойствами, похожие на активность фермента тиаминазы, что может привести к снижению уровня тиамина в организме человека. Это вынуждает дополнительно принимать витамин В₁ при потреблении продуктов с хвощем в рецептуре [2, с.367].

В науке исследуются особенности химического состава хвощей, в результате которых обнаружены гидроксифлавоны и простые флавоноиды. Можно выделить общую тенденцию, которая заключается в накоплении не только кремния, но и макро- и микроэлементов как кальций, натрий, железо, цинк. У видов подрода *Hippochatae* Milde, в который входит, например, хвощ камышковый, в составе в 2 раза больше таких элементов как кремний, никель, кобальт и в 2–4 раза - цинка и меди. Для видов подрода *Equisetum* Sad, например, хвоща полевого, лугового и лесного, присуще более высокого накопление хрома, марганца, превосходящее в два раза виды другого подрода. При этом было учеными было выяснено, что все виды хвощей содержат 10–13 % дневной нормы селена, а концентрация железа в хвощах превосходит дневную норму в 3–10 раз. Представители подрода *Hippochatae* Milde способны удовлетворить суточную потребность в кремнии на 200 %; в марганце на 90–120 %; меди на 28–300 %, в кальции на 2 %; в магнии на 1,5 %. Цинк в разных видах этого подрода содержится в концентрациях, превосходящих дневную норму в 5–7 раз. Виды подрода *Equisetum* Sad. содержат 2,3–3,5 % от дневной нормы кальция; 49,0–63 % кремния; магния 1–1,5 %; цинка 30–292 %. Уровни «индикаторных» для этого подрода элементов составляют: хром 660 % от суточной потребности, марганец от 150 до 375 % [5, с. 135].

Поэтому в настоящее время важно исследовать химический состав разных видов хвощей с целью обоснования возможности полноценной замены и увеличения количества сфер их использования в медицинских и пищевых аспектах и описания доказательной базы связи его биологической активности при взаимодействии с другими компонентами продуктов для внедрения, расширения ассортимента блюд и изделий с созданием классификации рецептур и общей систематики данного растительного сырья для добавления в препараты и продукты.

Библиографический список:

1. Коломиец Н.Э., Калинкина Г.И. Растения рода Хвощ (EQUISETUM L.). Систематика, химический состав, перспективы использования в медицине. – Томск: Печатная мануфактура, 2009. – 88 с.
2. Ghulam H., Kadri S. M., Manzoor A., Waseem Q., Aatif M.S., Khan G.Q., Manish K. Status of zinc in pulmonary tuberculosis // J. Infect. Dev. Ctries. – 2009. – № 3(5). – P. 365–368.
3. Воронков М.Г., Кузнецов И.Г. Кремний в живой природе. – Новосибирск: Наука, 1984. – 157 с.
4. Bone Health and Osteoporosis A Report of the Surgeon General Office of the Surgeon General (US). Rockville (MD): Office of the Surgeon General (US), 2004. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK45513>.
5. Kolomiets N.E., Yusubov M.S., Kalinkina G.I. Flavonoid composition of Equisetum arvense and E. x litorale studied by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry // Chemistry of natural compounds. – 2012. – Vol. 48. – № 1. – P. 135–136.

УДК 547.972:543.42:582.936:615.322:547.913

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МЕТАБОЛИТОВ РАСТЕНИЙ РОДА *EQUISETUM L.*

© Э.Х. Ботиров^{1*}, В.М. Боначева¹, Н.Э. Коломиец²

¹ Сургутский государственный университет, ул. Ленина, 1, Сургут, 628412 (Россия), e-mail: botirov-nepi@mail.ru

² Сибирский государственный медицинский университет, Московский тракт, 2, Томск, 634050 (Россия)

В обзоре обобщены сведения научной литературы по степени изученности химического состава и биологической активности метаболитов и экстрактов растений рода *Equisetum L.* мировой флоры. Многие виды хвощей широко используются в народной медицине в качестве мочегонного, кровоостанавливающего средства, а также при туберкулезе легких и кожных болезнях, при язвах, водянке, желтухе, как сердечное средство, при заболеваниях почек, мочевого пузыря и др. На основе экстрактов хвоща полевого (*Equisetum arvense L.*) создан ряд лекарственных препаратов и биологически активных добавок, обладающих широким спектром фармакологического действия. В обзоре приведены данные о структурном разнообразии и биологической активности метаболитов растений рода *Equisetum L.* Представлена информация о составе метаболитов 16 видов рода *Equisetum L.*, структуре и источниках более 200 природных веществ, относящихся терпеноидам, фитостеринам, брассиностероидам, витаминам, алкалоидам и другим азотсодержащим соединениям, лигнанам, стирилпиронам, инданонам, фенилпропаноидам, органическим кислотам, углеводородам, альдегидам и фенольным соединениям. Основными биологически активными веществами растений рода *Equisetum* являются флавоноиды и другие растительные фенольные соединения. Экстракты и индивидуальные соединения обладают антиоксидантными, диуретическими, антибактериальными, противогрибковыми, гепатопротекторными, гипогликемическими, антмутагенными, седативными, анксиолитическими, противоопухолевыми, противовоспалительными свойствами. Анализ литературных данных показывают, что растения рода *Equisetum* являются перспективными для создания новых эффективных лекарственных препаратов. Приведенные в обзоре сведения могут быть использованы в качестве справочной литературы фитохимики, биологами и фармакологами, а также для решения вопросов хемосистематики растений рода *Equisetum L.*

Ключевые слова: *Equisetum L.*, *Equisetaceae*, химический состав метаболитов, структурное разнообразие, биологическая активность.

Сокращения: ИК – инфракрасная спектроскопия, УФ – ультрафиолетовая спектроскопия, ГХ – газовая хроматография, МС – масс-спектрометрия, ЯМР – ядерный магнитный резонанс, ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография, *GlcP* – β -D-глюкопиранозид, *Galp* – β -D-галактопиранозид, *Rhap* – α -L-рамнопиранозид, *Ac* – ацетил, *Mal* – малонил, *Caf* – кофеил, *Hex* – гексоза.

Введение

Хвощи – древние сосудистые растения из отдела хвощевидных, представленные в современной флоре единственным родом *Equisetum L.* (семейство *Equisetaceae*). Насчитывается более 30 видов хвоща, которые распространены по всему земному шару, кроме Австралии, Новой Зеландии и тропической Африки [1, 2]. На территории России, по разным данным, род *Equisetum L.* представлен 12–15 видами, 10 из них произрастают в Сибири [1–3]. Хвощи распространены почти на всей территории России, кроме пустынных районов

Ботиров Эркин Хожиакбарович – профессор кафедры химии, e-mail: botirov-nepi@mail.ru

Боначева Виктория Михайловна – кандидат химических наук, ассистент кафедры химии, e-mail: bwmbeml@mail.ru

Коломиец Наталья Эдуардовна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, e-mail: borkol47@mail.ru

и Крайнего Севера. Встречаются на песчаных лугах, в пойменных лесах, в зарослях кустарников, в посевах, а также в лесной зоне России, Украины, Беларуси [1–4]. Родовое название *Equisetum* образовано от латинского *equus* (лошадь) и *seta* (щетина), здесь в значении «хвост». Название встречается у Плиния для одного вида хвоща, который своими тонкими веточками напоминал хвост лошади.

* Автор, с которым следует вести переписку.

Позднее К. Линней использовал слово как родовое название, русское «хвощ» также указывает на сходство растения с пучком волос, хвостом [5, 6].

У систематиков на сегодняшний день нет единого мнения относительно классификации хвощей. Большинство авторов полагает, что современные хвощи формируют один отдел с двумя отличающимися подгруппами *Hippochaete* и *Equisetum* [7–10]. Некоторые другие систематики [11] рассматривают их как отдельные самостоятельные роды. Виды подрода *Hippochaete* (*E. hyemale*, *E. ramosissimum*, *E. rinihuense*, *E. scirpoides*, *E. laevigatum*, *E. giganteum*, *E. variegatum*, *E. myriochaetum*) за исключением *E. laevigatum* и *E. ramosissimum*, объединяет наличие вечнозеленых, живущих более одного сезона, перезимовывающих, очень жестких, нерегулярно ветвящихся или совсем без ветвей стеблей, на концах которых развиваются верхушечные стробилы. Надземные побеги хвощей этого подрода не делятся на вегетативные и спороносные. У видов подрода *Equisetum* (*E. arvense*, *E. palustre*, *E. sylvaticum*, *E. telmateia*, *E. diffusum*, *E. fluviatile*, *E. bogotense*, *E. pratense*) относительно мягкие и недолговечные регулярно ветвящиеся стебли. Кроме того, их побеги дифференцируются на вегетативные и спороносные [7–11].

Хвощ полевой (*E. arvense* L.) – широко распространенный сорняк. Растет по полям, лугам, пустырям, оврагам, в придорожных канавах, на откосах дорог [2–4, 6, 12, 13]. Видовое определение *arvensis* (полевой) дано виду по месту обитания. Из всего рода хвощ официальным лекарственным растением является хвощ полевой, растущий на лугах, в еловых, светлохвойных, липовых, осиновых, сосново-березовых, березовых и смешанных лесах. Предпочитает пойменные леса, берега рек, кустарниковые заросли. Как сорняк часто встречается на полях и огородах. Встречается по обочинам дорог, на откосах железнодорожных насыпей, возле канав, в песчаных и глинистых карьерах и котлованах. В посевах весьма обилён и относится к числу трудноискоренимых корневищных сорняков.

Хвощ лесной (*E. sylvaticum* L.) распространён в лесах, зарослях кустарников, на лесных и субальпийских лугах, кочкарных болотах. Хвощ луговой (*E. pratense* L.) встречается в Западной Сибири, Тюменской области, в Хакаской автономной области, Курганской области, Омской, Новосибирской, Кемеровской областях. Чаще встречается в лесах, среди кустарниковых зарослей, на каменистых россыпях. Хвощ зимующий (*E. hyemale* L.) произрастает в лесах, среди пойменных кустарников, на лесных лугах, обрывистых берегах рек, ручьев [3, 4, 6].

Из всего рода хвощ только хвощ полевой *Equisetum arvense* L. является официальным лекарственным растением. Промысловые заготовки хвоща полевого осуществляется в Ставропольском крае, Псковской, Вологодской, Владимирской, Пермской, Томской областях [6]. Природные запасы в сотни раз превышают потребности в его сырье. Трава хвоща полевого включена в отечественную фармакопею 8, 9, 11, и 14-го изданий и фармакопеи ряда зарубежных стран (США, Великобритания, страны Евросоюза, Украина, Белоруссия и т.д.) [14–18]. Еще один вид – хвощ зимующий представлен в гомеопатической Фармакопее Бельгии, США, Франции, Германии. Традиционно экстракты, настои травы хвоща полевого в России, и за-рубежом, по данным Европейского агентства лекарственных средств (ЕМА), используют в качестве диуретического средства при заболеваниях мочевыводящих путей (пиелиты, циститы, уретриты), отеках на фоне сердечной недостаточности, плевритах с большим количеством экссудата, благодаря антимикробным, противовоспалительным, литолитическим свойствам при бактериальных воспалительных заболеваниях мочевыводящих путей и мочекаменной болезни [6, 12, 13, 19].

Хвощ в большей степени, чем другие мочегонные средства, способствует выделению свинца при хронических отравлениях свинцом [13–15]. Настой хвоща используют как кровоостанавливающее средство при геморроидальных и маточных кровотечениях и при некоторых формах туберкулеза, связанного с нарушением силикатного обмена. В качестве лекарственных форм для внутреннего применения используют настой и жидкий экстракт из травы хвоща полевого [12, 13, 15]. Экстракт хвоща полевого входит в состав комплексных растительных препаратов «Марелин» (ЗАО Вифитех), и «Фитолизин» (Herbapol, Польша), Цистон (Хималай Драг Ко, Индия), применяемых при мочекаменной болезни, кристаллурии, инфекциях мочевыводящих путей, Тонзилгон® Н в качестве иммуностимулирующего средства при острых и хронических заболеваниях верхних дыхательных путей, Полигемостат (ООО «Технопарк-Центр»), применяемый при капиллярных и венозных кровотечениях [20]. Кроме того, хвощ полевой входит в состав сборов «Урологический сбор», «Климактерический сбор», слабительного чая «Депурафлюкс» («Natterman», Германия), противодиабетического сбора «Арфазетин» витаминно-минеральных комплексов Vitrum Beaty и большого ассортимента БАД к пище, выпускаемых как отечественными, так и зарубежными производителями. Трава хвоща

полевого включена в сбор Здренко, используемого при анацидных гастритах, папилломатозе мочевого пузыря и противоастматической микстуры по прописи Траскова [6, 15]. В составе различных сборов назначают при атеросклерозе, гипертонической болезни, туберкулезе, при отравлении свинцом. Хвощ полевой рекомендован в комплексном лечении иммунодефицитных состояний, ишемической болезни сердца, при отеках. Настой и экстракт травы хвоща полевого входит в состав косметических кремов, гелей, шампуней разных производителей, рекомендуемых благодаря высокому содержанию кремния для укрепления волос, ногтей, улучшения состояния кожи.

Большой интерес представляют сообщения об экспериментальном изучении и клинической апробации применения экстракта хвоща полевого при лечении остеопороза [21–23].

Информация о качественном составе биологически активных веществ (БАВ) рода хвощ носит фрагментарный характер. Химическая характеристика большинства видов неполная, а у некоторых представителей рода отсутствует. Наиболее изучен фенольный комплекс хвоща полевого, произрастающего в Европейской части России, Польше и Японии; значительное число видов флоры Сибири не изучено.

Цель настоящей работы – обобщение и систематизирование многочисленных сведений о химических метаболитах и биологической активности экстрактов и выделенных индивидуальных соединений растений рода *Equisetum*, опубликованных в мировой научной литературе.

Химический состав растений рода *Equisetum*

Анализ данных литературы о химическом составе метаболитов растений рода *Equisetum* L. свидетельствует о его разнообразии. В результате фитохимических исследований в различных органах растений этого рода обнаружено более 210 природных соединений: гидроксibenзойные кислоты – 1–7, гидроксикоричные кислоты и их производные – 8–18, фенольные соединения и их гликозиды – 19–21, фенилпропаноиды – 22–24, флавоноиды (флавоны, флавонолы и флаваноны) – 25–97, алкалоиды и другие азотсодержащие соединения – 98–114, производные стирилпирона – 115–118, производные инданона – 119–120, моно-, сескви- и дитерпеноиды – 121–139, фитостерины – 140–147, брассиностероиды – 148–151, тритерпеноиды – 152–159, органические кислоты и сложные эфиры – 160–175, витамины – 176–180, лигнаны – 181–182, углеводороды, альдегиды и сульфоны – 183–188, каротиноиды, углеводы, липиды, сапонины, дубильные вещества, белки, соединения кремния и другие минеральные вещества (табл.). Анализ литературных данных показывает, что к настоящему времени наиболее изученными видами в химическом отношении являются *E. arvense* и *E. sylvaticum*.

Метаболиты растений рода *Equisetum*

№	Название метаболита	Вид и литература
1	2	3
<i>Гидроксibenзойные кислоты</i>		
1	<i>n</i> -Гидроксibenзойная кислота	E1* [15, 24, 27, 54, 55], E2 [24], E4 [24], E5 [24], E9 [28], E12 [24], E14 [67]
2	Протокатеховая кислота	E1 [15, 24, 27, 54, 55], E2 [24], E4 [24], E5 [24], E6 [24], E7 [24], E8 [24], E9 [24, 28, 29], E10 [24], E12 [24]
3	Ванилиновая кислота	E1 [15, 27, 54, 55, 84]
4	Метилловый эфир протокатеховой кислоты	E1 [15, 24, 26, 66]
5	Галловая кислота	E1 [15, 24, 27, 54], E2 [24]
6	Сиреневая кислота	E1 [84]
7	Эллаговая кислота	E2 [24]
<i>Гидроксикоричные кислоты и их производные</i>		
8	<i>n</i> -Кумаровая кислота	E1 [15, 24, 27, 64, 55, 84], E2 [24], E4 [24], E5 [24], E6 [24], E7 [24], E8 [24], E9 [24, 28, 29], E10 [24], E12 [24]
9	Кофейная кислота	E1 [15, 24, 27, 54, 55, 84], E2 [24], E5 [24], E6 [24], E7 [24], E9 [24, 28, 29]
10	Метилловый эфир кофейной кислоты	E1 [15, 24, 26, 66]
11	Кафеоил-метилат-4- <i>O</i> - <i>Glc</i> p	E13 [61]
12	Феруловая кислота	E1 [15, 24, 27, 64, 55, 84], E2 [24], E4 [24], E5 [24], E14 [67]
13	Синаповая кислота	E1 [84]
14	Хлорогеновая кислота	E1 [24, 27, 41, 66], E2 [24], E5 [24]
15	5-Кофеилшикимовая кислота	E1 [15, 26, 40, 41, 87], E2 [87], E9 [87], E11 [87]

Продолжение таблицы

1	2	3
16	Моно-О-(Е)- <i>Caf</i> -мезовинная кислота	E1 [26, 41, 77, 87], E2 [87], E6 [87], E9 [87], E11 [87]
17	Цикориевая кислота	E1 [15, 22, 26, 37, 38, 41, 66, 87]
18	Эквизетумозид С	E1 [22, 26, 31, 66]
Фенольные соединения и их гликозиды		
19	Эквизетумозид А	E1 [22, 26, 31, 66]
20	Эквизетумозид В	E1 [22, 26, 31, 66], E14 [67]
21	Дебилитриол	E14 [67]
Фенилпропаноиды		
22	Кониферин	E1 [31]
23	Гваяцилглицерол-β-кониферил эфир	E14 [67]
24	Дебилигнанозид	E14 [67]
Флавоноиды		
25	Апигенин	E1 [15, 22, 26, 45, 47, 55, 66, 74, 85], E2 [87], E4 [15]
26	5,4'-Дигидрокси-7-метоксифлавоон (генкванин)	E1 [15, 45, 50]
27	6-Хлорапигенин (5,7,4-триокси-6-хлорфлавоон)	E1 [15, 45, 53]
28	Дихлорапигенин (6,8-дихлорапигенин)	E1 [24, 73], E5 [24, 73]
29	Апигенин-5-О- <i>Glc</i> p	E1 [15, 24, 22, 26, 46, 51, 66, 73, 74, 77], E5 [24, 73]
30	Апигенин-4'-О- <i>Glc</i> p	E1 [24, 42, 73], E2 [24, 87], E5 [24, 73]
31	Апигенин-5-О-(6''- <i>OMal</i>) <i>Glc</i> p	E1 [15]
32	Апигенин-8- <i>C-Glc</i> p (витексин)	E1 [15]
33	Апигенин-6- <i>C-Glc</i> p (изовитексин)	E1 [15, 46, 47]
34	Апигенин-6,8-ди- <i>C-Glc</i> p (виценин-2)	E1 [15, 45]
35	Генкванин-5-О- <i>Glc</i> p	E1 [15, 24, 22, 26, 52, 66, 73, 74], E5 [24, 73]
36	Генкванин-5-О-(6''- <i>OMal</i>) <i>Glc</i> p	E1 [15]
37	Генкванин-4'-О- <i>Glc</i> p	E1 [15, 22, 32, 74]
38	Протогенкванин-4'-О- <i>Glc</i> p	E1 [15, 32]
39	Лютеолин	E1 [15, 22, 26, 50, 55, 59, 74, 85]
40	Лютеолин-5-О- <i>Glc</i> p	E1 [15, 22, 24, 26, 46, 52, 66, 73, 74], E5 [24, 73]
41	Лютеолин-5-О-(6''- <i>OMal</i>) <i>Glc</i> p	E1 [15]
42	Лютеолин-7-О- <i>Glc</i> p	E1 [59]
43	Лютеолин-4'-О- <i>Glc</i> p	E1 [59]
44	Кемпферол	E1 [15, 48, 66851], E4 [15], E6 [151, 87], E7[15], E9 [15, 58], E11 [15, 87], E12 [15]
45	Дихлоркемпферол (6,8-дихлоркемпферол)	E1 [24, 73], E5 [24, 73]
46	Кемпферол-3-О- <i>Glc</i> p (астрагалин)	E1 [15, 24, 73, 74, 77], E2 [15, 24, 87], E3 [56], E4 [15], E5 [24, 73], E6 [15, 24, 87], E7 [15, 24], E9 [15, 24, 28, 29, 57, 87], E10 [15, 24], E11 [15, 64, 87], E12 [15]
47	Кемпферол -3-О-(6''- <i>OAc</i>) <i>Glc</i> p	E11 [87]
48	Кемпферол -3-О-(6''- <i>OMal</i>) <i>Glc</i> p	E2 [87]
49	Кемпферол-3-О- <i>Rhap</i>	E11 [15]
50	Кемпферол-7-О- <i>Glc</i> p	E1 [15], E2 [15], E7[24], E9 [15, 29, 65], E11 [15, 64], E12 [15]
51	Кемпферол-7-О- <i>Rhap</i>	E9 [15], E11 [64]
52	Кемпферол-3-О-(6''- <i>Rhap</i>)- <i>Glc</i> p (никотифлорин)	E1 [15, 24], E4 [15], E6 [15, 24, 87], E7 [15, 24], E9 [15, 24, 28, 29, 65], E11 [15]
53	Кемпферол-3'-О-(6''- <i>Rhap</i>)- <i>Glc</i> p	E9 [87]
54	Кемпферол-3-О-(6''- <i>Rhap</i>)- <i>Glc</i> p-7-О- <i>Glc</i> p	E1 [24], E3 [83], E5 [24], E6 [15, 24, 87], E7 [15, 24], E9 [24, 29, 87], E11 [15, 64, 87]
55	Кемпферол-3-О-(6''- <i>Rhap</i>)- <i>Glc</i> p-7-О- <i>Rhap</i>	E9 [24, 65], E11 [64]
56	Кемпферол-3-О-(6''- <i>Rhap</i>)- <i>Glc</i> p-7-О-(2''- <i>Glc</i> p)- <i>Glc</i> p	E6 [87]
57	Кемпферол-3-О-β-D-(2''- <i>Glc</i> p)- <i>Glc</i> p	E1 [15, 24, 22, 26, 30, 33, 43, 46, 48, 66, 73, 74], E2 [24], E3 [56], E4 [24], E5 [24, 73], E6 [15, 24], E7 [24, 43], E8[15, 24, 544], E9 [15, 24, 28, 43], E10 [24], E12 [15, 24], E13 [61]
58	Кемпферол-3-О-(2''- <i>Glc</i> p)- <i>Glc</i> p-4'-О- <i>Gl</i> - <i>Glc</i> p	E4 [24], E8 [24], E10 [24], E12 [24], E13 [61]
59	Кемпферол-3,7-ди-О- <i>Rhap</i> (леспедин или кемпферетрин).	E6 [24], E9 [60]
60	Кемпферол-3,7-ди-О- <i>Glc</i> p	E1 [15, 24, 33, 66, 73, 74], E2 [15, 24, 87], E3 [56], E4 [15, 24], E5 [24, 73], E6 [15, 24], E7 [15], E8 [24], E9 [15, 24, 29, 57, 87], E10 [15, 24], E11 [15, 64, 87], E12 [15, 24], E13 [61]

Продолжение таблицы

1	2	3
61	Кемпферол-7-О-(Glc)-Glc (эквизетрин)	E1 [6]
62	Кемпферол-3-О-(6"-OAc)Glc-7-О-Glc	E7 [24], E11 [15, 64, 87]
63	Кемпферол-3-О-(6"-OAc)Glc-Rhap	E11 [15, 64]
64	Кемпферол-3-О-(2"-Glc)-Glc-7-О-Glc	E1 [22, 26, 31, 43, 66], E3 [56], E4 [15], E8 [15, 44], E9 [43], E12 [15]
65	Кемпферол-3-О-Glc-7-О-(Glc)-Glc	E12 [15]
66	Кемпферол-3-О-(Glc)-Glc-7-О-Glc	E1 [15], E2 [15], E4 [15], E7 [15], E10 [15], E12 [15]
67	Кемпферол-3-О-Glc-7-О-Rhap	E9 [24, 28, 29, 57, 87], E11 [15, 64, 87]
68	Кемпферол-3-О-(6"-OAc)Glc-7-О-Rhap	E11 [87]
69	Кемпферол-3-О-Galp-7-О-Rhap	E9 [58]
70	Кемпферол-3-О-(6"-OMal)Glc-7-О-Glc	E1 [22, 26, 30, 66]
71	Кверцетин	E1 [15, 48, 85, 87], E4 [15], E6 [15], E7 [15], E9 [15, 87], E11 [15], E12 [15]
72	Кверцетин-3-О-Glc (изокверцитрин)	E1 [15, 24, 22, 26, 30, 32, 46, 48, 66, 74, 77, 87], E2 [24], E5 [24], E6 [15, 24], E9 [15, 24, 28, 29, 57]
73	Кверцетин-3-О-Rhap (кверцитрин)	E9 [24]
74	Кверцетин-7-О-Glc (кверцимеритрин)	E1 [15], E4 [15], E7 [15], E9 [15], E11 [15]
75	Кверцетин-3-О-Glc-7-О-Rhap	E1 [24], E9 [15, 24, 28, 29]
76	Кверцетин-3-О-Rhap-4'-О-Glc	E9 [60]
77	Кверцетин-3-О-(6"-Rhap)-Glc (рутин)	E6 [24, 84], E9 [15, 24, 28, 65]
78	Кверцетин-3-О-(6"-Rhap)-Glc-7-О-Rhap	E9 [15, 24, 28, 29, 58, 65]
79	Кверцетин-3-О-(2"-Glc)-Glc	E1 [15, 24, 22, 32], E9 [15, 28, 29]
80	Кверцетин-3-О-(6"-Glc)-Glc	E9 [28, 29]
81	Кверцетин-3-О-(6"-Rhap)-Glc-7-О-Glc	E9 [28]
82	Кверцетин-3,7-ди-О-Glc	E1 [24], E3 [56], E6 [24]
83	Кверцетин-3-О-(Glc)-Glc-7-О-Glc	E9 [15], E12 [15]
84	Кверцетин-3-О-(Glc)-Glc-7-О-Rhap	E1 [45], E9 [29]
85	Кверцетин-3-О-(6"-OMal)Glc	E1 [15, 32, 87]
86	Кверцетин-3-О-(Caf)Glc	E3 [56]
87	Кверцетин-три-О-Hex	E3 [56]
88	Мирицетин	E1 [84]
89	Гербацетин-3-О-Glc (гербацитрин)	E9 [29, 42], E12 [15]
90	Госсипетин-7-О-Glc (госсипитрин)	E1 [15, 24, 42], E2 [24], E4 [24], E5 [24], E6 [24], E7 [24], E8 [24], E9 [15, 24, 29], E10 [24], E11 [15], E12 [24]
91	Госсипетин-3-О-(2"-Glc)-Glc 8-О-Glc	E4 [15]
92	Гербацетин-3-О-(2"-Glc)-Glc)-8-О-Glc	E4 [15]
93	Нарингенин (5,7,4'-тригидроксифла- ванон)	E1 [15, 49, 55, 84]
94	Дигидрокемпферол (аромадендрин)	E1 [15, 49, 55]
95	Дигидрокверцетин (таксифолин)	E1 [15, 49, 55]
96	Катехин	E1 [84]
97	Эпикатехин	E1 [84]
<i>Алкалоиды и другие азотсодержащие соединения</i>		
98	Никотин	E1 [12, 26, 82], E2 [63], E7 [15, 63], E8 [15], E11 [15], E15 [63]
99	Палюстрин (эквизетин)	E1 [12, 26], E2 [63], E7 [15, 63, 86], E8 [15], E15 [63]
100	N-Формилпалюстрин (палюстридин, эквизетонин)	E7 [62, 86]
101	N-Ацетилпалюстрин	E7 [62]
102	18-Дезоксипалюстрин	E7 [86]
103	Палюстридиен	E2 [63], E7 [62, 63], E15 [63]
104	N-Формилпалюстридиен	E7 [62]
105	Эквизетумин	E14 [67]
106	Палюстринин	E1 [26]
107	Уридин	E1 [31]
108	Инозин	E1 [31]
109	2'-Дезоксиинозин	E1 [31]
110	2'-Дезоксицитидин	E1 [31]
111	Тимидин	E1 [31], E14 [67]
112	5-Карбокси-2'-дезоксиуридин	E1 [31]
113	Триптофан	E1 [31]
114	3-Метоксипиридин	E1 [1, 4, 76]

Продолжение таблицы

1	2	3
Производные стирилпирона		
115	Эквизетумпирон	E1 [22, 26, 34, 39], E3[56]
116	3'-Дезоксиэквизетумпирон	E1 [22, 26, 35, 36]
117	4'-О-Метиэквизетумпирон	E1 [22, 26, 35, 36]
118	3-Гидроксигиспидин-3,4'-ди-О- <i>GlcP</i>	E3 [56]
Производные инданона		
119	Онитин	E1 [15, 22, 25, 26, 45, 46, 74, 78], E9 [29]
120	Онитин-2'-О- <i>GlcP</i>	E1 [22, 25, 26, 74]
<i>Моно- и сескви- и дитерпеноиды и их производные</i>		
121	Тимол	E1 [68]
122	Анетол	E1 [68]
123	1,8-Цинеол	E1 [68]
124	Линалоол	E1 [68]
125	Камфора	E1 [68]
126	Ментон	E1 [68]
127	Борнил ацетат	E1 [68]
128	α -Копаен	E1 [68]
129	β -Боурбонен	E1 [68]
130	(<i>E,E</i>)- α -Фарнезен	E1 [68]
131	β -Кариофиллен	E1 [68]
132	Кариофиллен оксид	E1 [68]
133	Гексагидрофарнезилацетон	E1 [68]
134	<i>цис</i> -Геранилацетон	E1 [68]
135	<i>транс</i> -Фитол	E1 [68]
136	<i>транс</i> - β -Дамасценон	E1 [68]
137	(<i>E,E</i>)-Фарнезилацетон	E1 [68]
138	<i>транс</i> - β -Ионон	E1 [68]
139	<i>транс</i> - α -Ионон	E1 [68]
Фитостерины		
140	Холестерол	E1 [26, 79]
141	Эпихолестанол	E1 [26, 79]
142	24-Метилхолестерол	E1 [26, 80]
143	Изофукостерол	E1 [26, 79, 80]
144	Кампестерол	E1 [26, 79, 80]
145	β -Ситостерол	E1 [26, 79, 80]
146	22-Дигидробрассикастерин	E1 [15]
147	Клионастерин	E1 [15]
Брассиностероиды		
148	Норбрассенолид	E1 [15, 81]
149	Долихостерон	E1 [15, 81]
150	Норкастастерон	E1 [15, 81]
151	Кастастерон	E1 [15, 81]
<i>Тритерпеноиды</i>		
152	Изобауренол	E1 [26, 79]
153	Тараксерол	E1 [26, 79]
154	Жерманикол	E1 [26, 79]
155	Урсоловая кислота	E1 [26, 79]
156	Бетулиновая кислота	E1 [26]
157	Олеаноловая кислота	E1 [26, 79]
158	α -Амирин	E1 [79]
159	β -Амирин	E1 [79]
Органические кислоты и сложные эфиры		
160	Яблочная кислота	E1 [1, 15]
161	Щавелевая кислота	E1 [1, 12]
162	Аконитовая кислота	E1 [1, 15]
163	Винная кислота	E1 [66]
164	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-2,3,4-Тригидроксибутановая кислота	E1 [76]
165	Фумаровая кислота	E1 [15]

Окончание таблицы

1	2	3
166	Глюконовая кислота	E1 [15]
167	Глицериновая кислота	E1 [15]
168	Малоновая кислота	E1 [15]
169	Хинная кислота	E1 [15]
170	Арабиноновая кислота	E1 [76]
171	Эквизетоловая кислота	E1 [76]
172	14-Метилнонакозандиовая кислота	E5 [89]
173	14,15-Диметилтриаконтандиовая кислота	E5 [89]
174	Метил гексадеканат	E1 [68]
175	Диэфир 2-метил-1- <i>трет</i> -бутил-1,3-пропандиола с изомасляной кислотой	E1 [68]
Витамины		
176	Аскорбиновая кислота	E1 [12, 66], E16 [75]
177	Тиамин	E16 [75]
178	Ниацин	E16 [75]
179	Рибофлавин	E16 [75]
180	Витамин К	E16 [75]
Лигнаны		
181	(+)-Ларицирезинол 9-О- <i>GlcP</i>	E14 [67]
182	(+)-Изоларицирезинол 3а-О- <i>GlcP</i>	E14 [67]
Углеводороды, альдегиды и сульфоны		
183	Геникозан	E1 [68]
184	Трикозан	E1 [68]
185	Нонаналь	E1 [68]
186	15-Октадеценаль	E1 [68]
187	5-Гидроксиметил-2-фурфурол	E14 [67]
188	Диметилсульфон	E1 [1, 12]

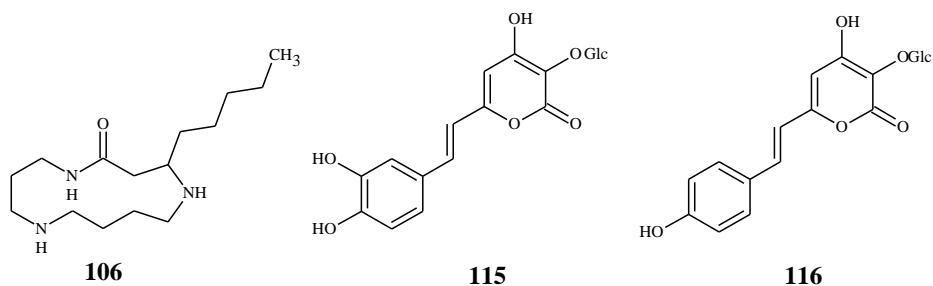
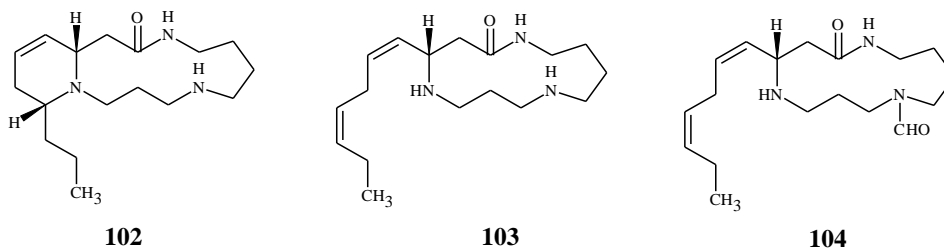
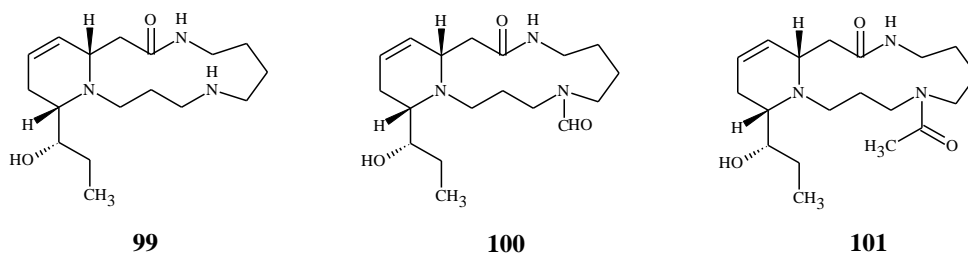
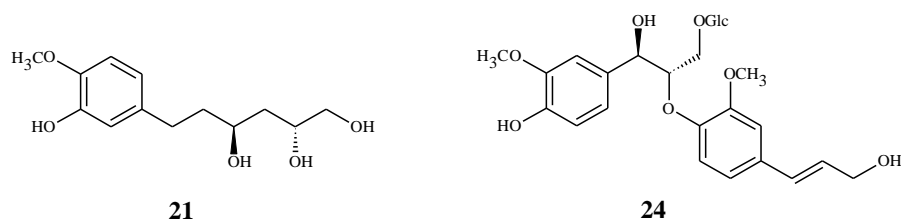
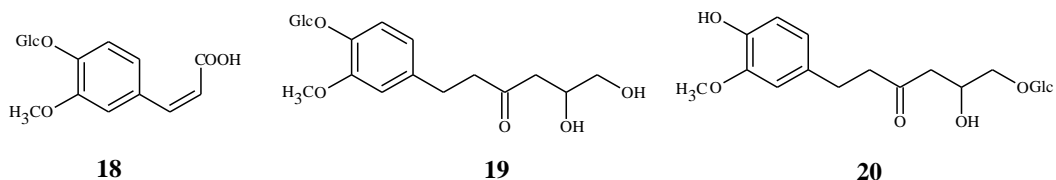
*Обозначения: *E. arvense* L. (хвощ полевой) – E1, *E. fluviatile* (хвощ приречной или хвощ топяной) – E2, *E. giganteum* L. (хвощ гигантский) – E3, *E. hyemale* L. (хвощ зимующий) – E4, *E. litorale* (хвощ береговой) – E5, *E. pratense* L. (хвощ луговой) – E6, *E. palustre* L. (хвощ болотный) – E7, *E. ramosissimum* (хвощ ветвистый) – E8, *E. sylvaticum* L. (хвощ лесной) – E9, *E. scirpoides* Michx. (хвощ камышовый) – E10, *E. telmateia* Ehrh. (хвощ большой) – E11, *E. variegatum* (хвощ пестрый) – E12, *E. myriochaetum* (хвощ многощетинковый) E13, *E. debile* Roxb – E14, *E. bogotense* – E15, *E. ravens* – E16.

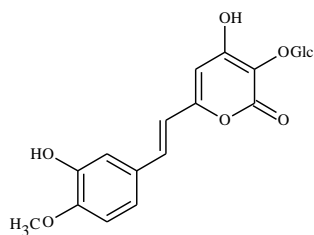
Дополнение к таблице: из различных видов *Equisetum* выделены нижеуказанные каротиноиды и углеводы: α-каротин (E1, E2, E4, E9, E11), β-каротин (E1, E2, E4, E6, E7, E9, E11), γ-каротин (E1, E2, E6, E7, E9, E11), лютеин (E1, E4, E6, E7, E11), эпоксид лютеина (E1, E2, E4, E6, E7, E9, E11), зеаксантин (E1, E2, E4, E6, E7, E9, E11), адониксантин (E1, E6), ликопилл (E1, E4, E6), виолаксантин (E1, E2, E4, E6, E9, E11), мутатоксантин (E1, E2, E11), родоксантин (E1, E11), неоксантин (E1, E2, E6, E7, E9), эхиноенон (E7), ликоксантин (E6, E7), α-дорадоксантин (E6), антраксантин (E9), β-криптоксантин (E2), галактоза (E1, E7, E9), глюкоза (E1, E7, E8, E9, E11), фруктоза (E7, E8, E11), манноза (E1, E7, E9), арабиноза (E1, E7, E9), ксилоза (E1, E7, E9), галактуроносовая кислота (E7, E9) [21].

Флавоноиды. Первые работы по исследованию химического состава растений семейства хвощевых появились в 40-х годах XX века. Японские ученые Нахамура и Хукути выделили из хвоща полевого флавоноиды эквизетрин (63), изокверцитрин (73) и 5-гликозид лютеолина (42) [14, 26]. Позднее из сырья хвоща полевого выделены производные кемпферола и кверцетина [47, 48]. По результатам исследований флавоноидов растений рода *Equisetum* L. зарубежными учеными опубликованы многочисленные работы [22, 25, 26, 30–44]. Большой вклад в изучении компонентов растений рода хвощ внесли отечественные ученые А.И. Сырчина и Н.Э. Коломиец [14, 24, 45]. Наиболее изученным классом соединений растений рода хвощ являются флавоноиды. К настоящему времени исследованы флавоноиды 13 видов растений рода *Equisetum* L., из которых выделены и идентифицированы 72 вещества (табл.). Флавоноиды, продуцируемые растениями рода *Equisetum*, представлены: флавонами (25–43), флавонолами (44–92), флаванонами (93–95) и флаван-3-олами (96, 97) (табл.). Из четырех видов рода *Equisetum* (*E. arvense*, *E. fluviatile*, *E. hyemale*, *E. litorale*) выделено 19 производных флавана, из которых пять являются агликонами а 14 – гликозидами апигенина (25), ганкванина (26) и лютеолина (39). Флавонолы являются доминантной группой среди флавоноидов растений рода *Equisetum*. Выделено 48 флавонолов, 4 из которых являются агликонами. Остальные соединения представлены гликозидами и ацилгликозидами кемпферола (44), кверцетина (71), гербацетина (3,5,7,8,4'-

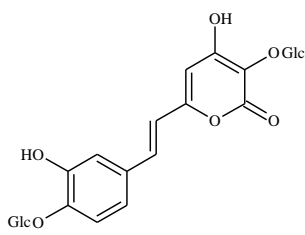
пентагидроксифлавона) и госсипетина (3,5,7,8,3',4'-гексагидроксифлавона). Разнообразие гликозидов флавонолов обусловлено природой, количеством и взаимным расположением углеводных остатков. В качестве углеводной компоненты в гликозидах флавоноидов растений данного рода встречаются ограниченный набор моносахаридов (D-глюкоза, L-рамноза, D-галактоза) и биозидов (софороза, рутиноза). Следует отметить, что в растениях рода *Equisetum* глюкурониды флавоноидов не обнаружены. Группа флавононов представлена нарингенином (5,7,4'-тригидроксифлаванон, 93), дигидрокемпферолом (аромадендрин, 94) и дигидрокверцетином (таксифолин, 95).

Структурные формулы новых соединений, выделенных из растений рода *Equisetum*

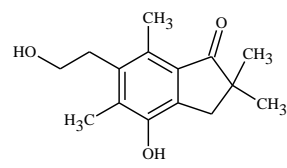




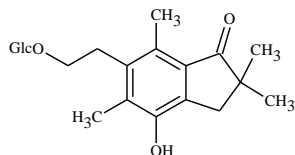
117



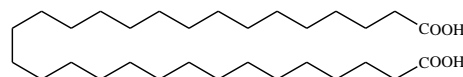
118



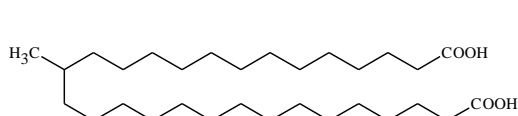
119



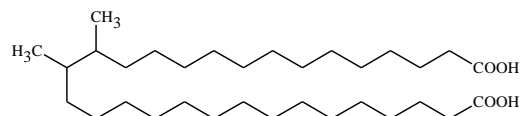
120



171



172



173

Все они выделены из *E. arvense* [49]. А.И. Сырчиной в свежей траве хвоща полевого и его спороносных стеблях установлено наличие 26 фенольных соединений, в состав которых входят флавоноиды и фенолокси-лоты [45-55]. Из хвоща полевого выделены С-гликозиды флавонов: апигенин-8-С-*Glc*p (витексин, 32) апигенин-6-С-β-D-глюкопиранозид (изовитексин, 33) и апигенин-6,8-ди-С-β-D-глюкопиранозид (виценин-2, 34), что представляет филогенетический интерес, поскольку С-гликозиды ранее были найдены во всех классах высших растений за исключением семейства хвощевых [24, 27]. Наиболее интересным фактом является обнаружение в хвоще полевом и хвоще береговом природного галогенсодержащего флавоноида 6-хлорапигенина (29) [15, 45, 53]. Впоследствии 6,8-дихлорапигенин (30) и 6,8-дихлоркемпферол (47) обнаружены *E. arvense* and *E. x litorale* методом ВЭЖХ-МС [24, 73]. Галогенированные фенольные соединения в природе встречаются очень редко. Практически все известные в настоящее время галогенированные фенольные соединения выделены из микроорганизмов и низших растений. Поэтому факт обнаружения подобных соединений в хвощах, с одной стороны, подтверждает их древнее происхождение, с другой – является своеобразным связующим звеном между низшими и высшими растениями. Установлено, что сибирские образцы хвоща полевого отличаются от европейских наличием 5-О-β-D-глюкопиранозид лутеолина (42), что, вероятно, связано с эколого-географическим фактором, приводящим к образованию хемотипов [24, 27]. Следует отметить, что 5-О-гликозиды апигенина и лутеолина имеют ярко-голубую флуоресценцию в УФ-свете при длине волны 366 нм, что положено в основу идентификации сырья [6, 24, 27]. Н.Э. Коломиец в зависимости от состава флавоноидов вида рода *Equisetum* разделила на три группы: виды, накапливающие только гликозиды кемпферола (*E. palustre*, *E. hiemale*, *E. scirpoides*, *E. variegatum*, *E. ramossissimum*); виды, накапливающие гликозиды кемпферола и кверцетина (*E. pratense*; *E. sylvaticum*); виды, накапливающие гликозиды кверцетина, кемпферола, апигенина, генкванина и лутеолина (*E. fluviatile*, *E. arvense*, *E. x litorale*) [24]. Проведенные исследования позволили определить константные вещества для рода *Equisetum* L. К ним отнесены 5 веществ: гликозид госсипетина (91), кемпферол-3-О-софорозид (57), кемпферол-3,7-О-диглюкозид (60), протокатеховая (2) и п-кумаровая кислоты (8). Предложены таксономические маркеры для обоих подродов *Equisetum* Sad. – кемпферол-3-О-β-D-гликозид (46); *Hippochaete* Milde – кемпферол-3-О-софорозид-4'-О-гликозид (58) и некоторых видов. Так, для *E. arvense* и *E. litorale* – 5-глюкопиранозиды лутеолина (40), апигенина (29) и генкванина (35), для *E. palustre* – кемпферол-3,7-ди-О-α-L-рамнопиранозид (59) [24]. Как видно из данных таблицы, в хвоще лесном, в отличие от хвоща

полевого, не обнаружены флавоны и их гликозиды, что, вероятно, обусловлено особенностями ферментных систем указанных видов, ответственных за синтез флавоноидов.

Фенолкарбоновые кислоты. Из 11 видов растений рода *Equisetum* выделено 7 соединений, относящихся к гидроксibenзойным кислотам и их эфирам (1–7). Методом газожидкостной хроматографии в хвоще полевым идентифицированы *n*-гидроксibenзойная (1), протокатеховая (2), ванилиновая (3), галловая кислоты (5) и метиловый эфир протокатеховой кислоты (4) [45, 54, 55]. Из хвоща речного выделена эллаговая кислота (7), которая описана для хвощей впервые [24]. Из фенолкислот в количественном отношении преобладают *n*-гидроксibenзойная, протокатеховая, *p*-кумаровая, тогда как ванилиновая, феруловая, кофейная присутствуют в малых количествах [24, 84]. Интерес к этой группе фенольных соединений объясняется широким спектром их биологического действия [25, 26, 66, 84].

Гидроксикоричные кислоты и их эфиры. Данная группа представлена 11 соединениями (8–18) [15, 22–29, 37, 38, 41, 54, 55, 66, 77, 84]. Выделены также сложные эфиры и гликозиды кофейной кислоты: хлорогеновая кислота (14), 5-кофеилшикимовая кислота (15), моно-*O*-(*E*)-кофеил-мезовинная кислота (16), цикориевая кислота (ди-*E*-кофеил-мезовинная кислота, 17) и 4- β -*D*- глюкозид метилового эфира кофейной кислоты (11). Из *E. arvense* L. выделена калиевая соль 4-*O*- β -*D*-глюкопиранозида *цис*-феруловой кислоты (эквизетумозид С, 18) [31].

Фенолгликозиды. Эквизетумозид А (19) и эквизетумозид В (20) выделены из водорастворимого экстракта полевого хвоща [31], эквизетумозид В, наряду с дебилитриолом (21) выделены из *E. debile* [67].

Производные стирилпирона. Обнаружены существенные различия в фенольных соединениях, накапливающихся в разных органах растений. В корневищах *E. arvense* флавоноиды отсутствуют, в них накапливаются стирилпироны [34–36]. Имеются сообщения о выделении и установлении химической структуры ряда стирилпиронов фенольной природы: эквизетумпирона [3,4-дигидрокси-6-(3',4'-дигидрокси-*E*-стирил)-2-пирон-3-*O*- β -*D*-глюкопиранозид, 115] из стеблей, а также 3'-дезоксизэквизетумпирона [3,4-дигидрокси-6-(4'-гидрокси-*E*-стирил)-2-пирон-3-*O*- β -*D*-глюкопиранозид, 116] и 4'-*O*-метилэквизетумпирона [3,4-дигидрокси-6-(3'гидрокси-4'-метокси-*E*-стирил)-2-пирон-3-*O*- β -*D*- глюкопиранозид, 117] и из корневищ *E. arvense* [22–24, 27]. Эквизетумпирон и 3-гидроксигиспидин-3,4'-ди-*O*-глюкозид (118) выделены из *E. Giganteum* [56].

Фитостерины и brassinостероиды. Из петролейно-эфирного экстракта надземной части *E. arvense* выделены 8 фитостеринов: холестерол (140), эпихолестанол (141), 24-метиленхолестерол (142), изофукостерол (143), кампестерол (144), β -ситостерол (145) 22-дигидробрассикастерин (146) и клионастерин (147) [26, 79, 80].

Браassinостероиды – фитогормоны класса стероидов, поддерживающие нормальное функционирование иммунной системы растения, особенно в неблагоприятных условиях, например, при пониженных температурах, заморозках, затоплении, засухе, болезнях, действии пестицидов, засолении почвы и др. Браassinостероиды – стрессовые адаптогены, обладающие сильной ростостимулирующей активностью. Содержатся в каждой растительной клетке в очень малом количестве. Из *E. arvense* выделены 4 соединения этого класса: норбрассенолид (148), долихостерон (149), норкастастерон (150) и кастастерон (151) [15, 81].

Терпеноиды. Этот обширный класс природных соединений в растениях рода *Equisetum* представлен моно-, сескви-, три- и дитерпеноидами. В составе эфирного масла *E. arvense* с использованием методов ГХ, ГХ/МС и ¹³С-ЯМР обнаружены 25 соединений (99.64% от общего количества эфирного масла), относящиеся к монотерпеноидам [тимол (121), анетол (122), 1,8-цинеол (123), линалоол (124)], сесквитерпеноидам [β -кариофиллен (131), кариофиллен оксид (132), α -копаен (128), β -бурбонен (129)], динорсесквитерпеноидам [*цис*-геранилацетон (134), *транс*- β -ионон (138), *транс*- α -ионон (139) и *транс*- β -дамасценон (136)], дитерпеноидам [*транс*-фитол (135), динордитерпеноидам [гексагидрофарнезилацетон (133), (*E,E*)-фарнезилацетон (137)], углеводородам и другим классам соединений [68].

Содержание эфирного масла в растениях рода *Equisetum*, и в частности, его обнаружение в хвоще полевым, нами подвергается сомнению. Оно основано на том, что в хвощах отсутствуют анатомические структуры в виде эндогенных и/или экзогенных секреторных образований, в которых, как известно, эфирное масло накапливается в растениях. Морфологическое и анатомическое строение хвощей, в которых до сих пор не было обнаружено подобных структур, хорошо изучено известным английским ботаником-специалистом по спорным Page С. N. (х. полевой, х. лесной, х. болотный, х. луговой, х. речной, х. раскидистый, х. береговой, х. зимующий), и подтверждается исследованиями других ученых L. Natherova с соавт. (х. полевой, х. лесной, х. болотный, х. луговой, х. речной, х. зимующий) [10, 69, 70], Н.Э. Коломиец с соавт. (х.

полевой, х. лесной, х. болотный, х. луговой, х. речной, х. камышковый, х. раскидистый, х. береговой, х. зимующий) [71] и М.Д. Решетниковой (хвощ полевой) [72].

Тритерпеноиды. К настоящему времени в *E. arvense* обнаружены тритерпеноиды изобоуренол (152), тараксерол (153), жерманикол (154), α - и β -амирины (158, 159), урсоловая (155), бетулиновая (156) и олеаноловая (157) кислоты [37]. По литературным данным, в траве хвоща полевого содержится тритерпеновый сапонин эквизетонин (5%), структура которого пока не установлена [6, 26, 82].

Азотсодержащие соединения и алкалоиды. Из 7 видов растений рода *Equisetum* было выделено 17 азотсодержащих соединений: алкалоиды (98–106), нуклеиновые основания (уридин, инозин, 2'-дезоксидеозин, 2'-дезоксидеозитидин, тимидин, 5-карбокситимидин, 107-112) и незаменимая аминокислота триптофан (113) и 3-метокси-4-пиридин (114) [26, 31, 62, 67, 86]. Палюстрин (99) является основным алкалоидом нескольких видов *Equisetum* [86]. В *E. palustre* обнаружены его N-формильное (100), N-ацетильное (101) и 8-дезоксипроизводные (102), а также палюстридиен (103) и N-формил палюстридиен (104) [62, 86]. N-Формилпалюстрин называется также палюстридином. Палюстрин содержит лактамное кольцо и в результате его щелочного расщепления образуется спермидин. Структура 18-дезоксипалюстрина (102) подтверждена осуществлением его синтеза [86]. Алкалоид эквизетумин (105), выделен из *E. debile* и предполагается, что этот алкалоид образуется в результате конденсации спермидина с γ -гидроксикаприловой кислотой [67]. *E. palustre* известен своей токсичностью для домашнего скота (ЛД₅₀ 50 мг/кг). Разработан метод количественного определения алкалоидов *Equisetum*, представляющий собой сочетание обычных и ВЭЖХ-ESI-MS/MS [62]. Двадцать два образца *E. palustre* были подвергнуты скринингу вышеуказанным методом и установлено наличие восьми алкалоидов во всех частях растения: палюстрина, N-формилпалюстрина, N-ацетилпалюстрина, 18-дезоксипалюстрина, палюстридиена, N-формилпалюстридиена и двух неидентифицированных алкалоидов. Предложена схема образования палюстрина путем сочетания α -линоленовой кислоты и спермидина. Содержание алкалоидов варьирует в зависимости от органа растения, места его произрастания и периода вегетации от 88 до 597 мг/кг сухого веса [62].

Производные инданона. Впервые о нахождении фенольного производного ряда инданона – онитина (2,2,5,7-тетраметил-4-окси-6-(2'-оксиэтил)-инданона, 119) в хвоще полевым было сообщено А.И. Сырчиной в 1980-х годах прошлого века [45, 46, 78]. Впоследствии присутствие этого вещества также было подтверждено исследованиями корейских ученых, которые выделили онитин (119) и онитин-9-О-глюкозид (120) из метанольного экстракта хвоща полевого и экспериментально *in vitro* и для первого из них установлена гепатопротекторная и антирадикальная активность [22, 26, 74]. Обнаружение фенольного производного ряда инданона – онитина в хвоще лесном [29] представляет особый интерес в связи с тем, что фенольные инданоны на сегодняшний день – самая малочисленная группа из всех природных инданонов, большинство из которых обнаружены только в папоротниках – филогенетически древних представителях растительного мира. При этом многие инданоны обладают ценными биоактивными свойствами: бактерицидными, противовирусными, цитотоксическими, антикоагулянтными и другими [88].

Органические кислоты. Эти метаболиты представлены оксикислотами (164, 166, 167, 169, 170), насыщенными (168, 171–173) и ненасыщенными ди- и трикарбоновыми кислотами (162, 165), насыщенными оксидикарбоновыми кислотами (160, 163) и сложными эфирами (174, 175). Хвощ полевой содержит яблочную (160), шавелевую (161), аконитовую (162), винную (163), малоновую (168), фумаровую (165), хинную (169) и другие кислоты. Новая дикарбоновая кислота, названная эквизетоловой (171) также выделена из *E. arvense* [76].

Десять видов рода *Equisetum*, произрастающих в Чешской Республике, были проанализированы на содержание липидов [89]. Метод ГХ-МС использовали после для определения качественного и количественного содержания дикарбоновых кислот. Вместе с известными кислотами с четным числом атомов углерода (C₂₂–C₃₀) из *E. litorale* были идентифицированы две новые 14-метилнонакозандиоевая (172) и 14,15-диметилтриакозандиоевая (173) кислоты. Их структура подтверждена данными масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии [89].

Витамины. Данная группа соединений, выделенных из двух видов растений рассматриваемого рода представлены аскорбиновой кислотой (176), тиамином (177), ниацином (178), рибофлавином (179) и витамином К (180) [12, 66, 75].

Лигнаны. Из растения *E. debile* Roxb выделены (+)-ларицирезинол 9-О-Glcp (181) и (+)-изоларицирезинол 3а-О-Glcp (182) [67].

Углеводороды, спирты, альдегиды. Список обнаруженных веществ и продуцируемых растений приведены в таблице (183–187). Высшие углеводороды, спирты, альдегиды и сложные эфиры входят в состав воскового слоя кутикулы растений, выполняющего функцию защиты от излишней потери влаги и проникновения вирусных частиц, бактериальных клеток, спор и гифов грибов. Восковой слой представляет собой смесь гидрофобных алифатических соединений с длинами цепочек в диапазоне от C_{16} до C_{36} . Проведено сравнительное изучение химических компонентов эпикутикулярного воска видов *Equisetum* подродов *Hippochaete* и *Equisetum* и установлено, что растения указанных подродов имеют отличающиеся восковые составы. В составе эпикутикулярного воска обнаружены алканы, сложные эфиры, альдегиды, первичные спирты и свободные жирные кислоты с числом атомов углерода C_{20} – C_{36} (в сложных эфирах C_{36} – C_{56}). Представители подрода *Hippochaete* имели отчетливо отличающиеся восковые составы с высоким процентным содержанием алканов и альдегидов, тогда как растения подрода *Equisetum* показали довольно низкое содержание альдегидов в составе эпикутикулярного воска [90].

Минеральные вещества. Соединения кремния. Стебли содержат кремневую кислоту и силикаты (5–8%), кальций (1.3%), калий (1.8%) и другие минералы, такие как алюминий, сера, фосфор, натрий, цинк, магний и марганец [26, 66, 91–93]. В исследовании 10 видов рода *Equisetum L.*, произрастающих на территории Сибири, был изучен минеральный состав с использованием нейтронно-активационного (НАА) и рентгенофлуоресцентного (РФА) методов и установлено присутствие 38 химических элементов [93]. Общей тенденцией для всего рода является накопление *кальция, натрия, железа, цинка, кремния*. Также были выявлены существенные отличия по содержанию некоторых элементов между отдельными видами хвоща. Отличия заключаются в преобладании у видов подрода *Hippochaete* *никеля, кобальта, кремния и меди*. Для видов подрода *Equisetum* характерно накопление *цинка и марганца*, причем содержание марганца резко колеблется от 1.80 мг/кг в хвоще полевым до 30.1 мг/кг в хвоще лесном. Это связано с тем, что разные виды обладают способностью аккумулировать определенные химические элементы, произрастая даже в одинаковых экологических условиях. Выявлены элементы, которые наряду с фенольными соединениями можно рассматривать в качестве дополнительного хемотаксономического маркера для рода, подродов и отдельных видов. Определены виды, богатые кремнием, марганцем, железом, медью, цинком, которые в дальнейшем можно использовать для создания на основе их биологически активных комплексов препаратов для коррекции минерального баланса. Содержание тяжелых металлов, таких как свинец, мышьяк, кадмий, в хвощах не превышает предельно допустимые концентрации [14, 93].

О содержании кремния в хвощах известно еще с глубокой древности, их жесткие стебли использовали для полировки дерева и домашней посуды. В соответствии с данными литературы, наибольшее содержание кремния отмечено большинством авторов у представителя подрода *Hippochaete* *Milde*- хвоща зимующего (оксида кремния в золе от 70 до 96%). Виды подрода *Equisetum* *Sad.* накапливают этот элемент в меньших количествах (хвощ лесной и хвощ луговой 58%, хвощ полевой 40–76%) [14].

Содержание кремния в пересчете на неорганический SiO_2 в растительных объектах традиционно определяют гравиметрическим, колориметрическим и спектральными методами анализа. Определение кремния в надземной части 10 видов рода хвощ флоры Сибири спектрофотометрическим и спектроскопическим методом показало, что виды подрода *Hippochaete* превосходят виды подрода *Equisetum* по содержанию кремния в 2–3 раза, что коррелирует со степенью жесткости стеблей видов подрода *Hippochaete* и напротив, мягкости для видов подрода *Equisetum* соответственно [14, 93].

Наименее исследованными являются органические соединения кремния. Так, в литературе имеются сведения об обнаружении в соке одного из видов хвоща кремния в виде сложного соединения, органическая часть которого состоит из конденсированных бензольных колец с короткими боковыми цепями [94–96].

Данные о выделении кремнийорганических соединений из растений довольно противоречивы. Так, А. Weiss, А. Herzog в 1978 году сообщили о выделении трис-(β -гуйяплицин) кремниевого комплекса при добавлении к экстракту *Thyia plicata* калия гексофторофосфата. Несколько позже в 1984 году А. Peggs и Н. Wopen опубликовали статью, в которой заявили о том, что не нашли подтверждения существования кремнийорганических комплексов в *Thyia plicata* и *Equisetum arvense*. Эти же авторы сообщили о том, что кремниевые соединения в соке хвоща полевого представлены мономерной кремниевой кислотой, или ее очень лабильными производными, которые легко разрушаются [97].

В настоящее время для выделения и установления химического строения представленных в обзоре соединений фенольной природы широко используются многие виды тонкослойной и колоночной хроматографии на различных сорбентах, ВЭЖХ, а также современные физико-химические и спектроскопические методы исследования как ИК-, УФ-, ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектроскопия, в том числе методы двумерной ЯМР, масс-спектрометрия, ВЭЖХ и другие методы, которые практически вытеснили традиционные химические методы исследования [24, 56, 62, 63, 67, 73, 74, 84].

Биологическая активность метаболитов растений рода Equisetum

Исследование химического состава флавоноидов *Equisetum L.* представляет большой интерес ученых в связи с наличием в нем соединений с высокой биологической активностью, имеющих значительный потенциал для медицинского использования. В литературе имеются сведения о применении хвощей при многих заболеваниях. При этом показано, что биологическая активность растений рода *Equisetum L.* связана с наличием полифенольного комплекса и соединений кремния [6, 14, 15, 22, 24–27, 29].

Использование в народной медицине. Следует отметить, что большинство хвощей на протяжении длительного времени успешно используются коренными народами для лечения различных заболеваний. Трава хвоща полевого используется в народной медицине Литвы при ревматизме, в Армении – при респираторных инфекциях, гипоксии, при асците. В тибетской и монгольской медицине применяют как диуретическое, при мочекаменной болезни, атеросклерозе, тонизирующее, способствующее долголетию, антигельминтное, в китайской медицине – при конъюнктивитах. Отвар и настой травы используют при лечении бронхиальной астмы, скарлатины, малярии, дизентерии, люмбаго, ишиаса, опухолей и гельминтозов. Имеются данные об использовании хвоща полевого при неврозах, хронической сердечной недостаточности, ревматоидных артритах, наружно при геморрое, миозите, нейродермите, варикозном расширении вен, фурункулезе, дерматитах, экземе. При заболеваниях полости рта, глотки и зубной боли применяется в качестве полосканий. В Болгарии отвар используют как гемостатическое при гематурии, кровохарканье, метроррагии, при спазмофилии, общеукрепляющее при туберкулезе легких, бронхите, анемии, колитах, раке пищевода, неврастении, эпилепсии, костном туберкулезе, адиссоновой болезни, желчекаменной болезни, холецистите. Применяют также при ревматизме, подагре, артритах, остеомиелите, миокардите, наружно – при миоме матки, панариции, себорее, при катаракте, рините, стоматите [12, 13, 15, 22, 24–26].

Траву хвоща полевого используют в качестве диуретического, гемостатического, противосудорожного средства, при ревматизме, подагре, энтероколитах, гематурии, гонорее, туберкулезе легких, болезнях печени, почек, асците, эпилепсии [12, 15].

Для лечения заболеваний почек, мочевого пузыря, при мочекаменной болезни, полиартрите, подагре и других заболеваниях используют также траву хвоща речного, хвоща зимующего, хвоща болотного, хвоща лугового, хвоща большого и других видов [6, 15].

Хвощ полевой в научной медицине. При изучении фармакологической активности препаратов хвоща полевого установлено, что они оказывают мочегонное, кровоостанавливающее, противовоспалительное, отхаркивающее, дезинфицирующее, противогнилостное действие, повышают пролиферацию соединительной ткани, способствуют регенерации ткани (особенно при туберкулезе), стимулируют функцию коры надпочечников, оказывают общеукрепляющее действие [14, 15, 24]. Основным фармакологическим действием хвоща полевого является диуретическая активность, поэтому экстракты и препараты используются в качестве мочегонного средства, обладающего камне разрыхляющими и противовоспалительными свойствами. Их используют при отеках на фоне сердечной недостаточности, заболеваниях мочевого пузыря и мочевыводящих путей (пиелиты, циститы, уретриты), плевритах с большим количеством экссудата [6, 13, 15]. Кроме того, отвар хвоща полевого оказывает корректирующее действие на фосфорно-кальциевый обмен [22]. Внутри препараты хвоща полевого применяют в качестве мочегонного средства при отеках на почве недостаточного кровообращения, при плевритах с большим экссудатом, при воспалительных процессах мочевого пузыря и мочевыводящих путей [6], при отеках сердечного и почечного происхождения, при кровотечениях (носовые, маточные, геморроидальные, мочевыводящих путей), при туберкулезе, катаре верхних дыхательных путей, воспалении и поражениях слизистой оболочки рта и зева, при цистите, уретрите (препараты способствуют растворению и выведению камней из мочеточников), при отравлении свинцом, при атероскле-

розе, радикулите, артрите, подагре [6, 15, 24]. В настоящее время рядом европейских авторов [99, 100] диуретический эффект х. полевого ставится под сомнение, что подтверждается и нашими исследованиями [14, 24]. При этом на первый план выходит его назначение и применение по другим направлениям.

Настой также используют как кровоостанавливающее средство при геморроидальных и маточных кровотечениях и при некоторых формах туберкулеза, связанного с нарушением силикатного обмена. Наружно хвощ полевой применяется в виде полоскания при стоматите, тонзиллите; промывания при гайморите; примочки при трофических язвах на коже, экземе, лишае; протирания лица при жирной и пористой коже, в виде компрессов, ванн, мазей. Сок в практической медицине показан астеническим больным при хронических бронхитах, при бронхиальной астме, наружно – как ранозаживляющее и при алопеции [6].

Экспериментальная фармакологическая активность других видов хвощей. Экспериментальными и клиническими наблюдениями установлено, что экстракты и индивидуальные соединения, выделенные из различных видов хвощей, имеют широкий спектр биологической активности: диуретической [22, 25, 26, 66, 101–103], антиоксидантной [22, 25, 26, 66, 74, 77, 83, 84, 87, 104–106], антибактериальной [26, 66, 87, 103, 104, 107, 108], антигрибковой [109], противовоспалительной [22, 26, 66, 83], противоопухолевой [25, 26, 66, 83, 110–112], нейропротективной [25], гепатопротекторной [14, 24, 26, 74, 113], антимуtagenной [114], гипогликемической [26, 66, 115], седативной и антиконвульсивной [66, 116], анксиолитической активностью. Работы [21–23] посвящены применению хвоща полевого для лечения остеопороза.

Изучение влияния однократного и длительного введения водных извлечений из 7 видов хвощей на функцию почек у крыс показало, что из 7 видов только хвощ зимующий (представитель подрода *Hippochaete*) и хвощ болотный (представитель подрода *Equisetum*) существенно увеличивают объем суточного диуреза и экскреторную функцию почек у крыс. При этом наибольшее увеличение диуреза, вызванное экстрактами хвоща болотного и хвоща зимующего, составляют 240% и 188% соответственно. Эти представители рода хвощ перспективны для дальнейшего углубленного фармакологического исследования в качестве диуретиков.

Экспериментально изучены противовоспалительные (антиэкссудативные) свойства водных и водно-спиртовых экстрактов 7 видов хвоща на модели острого агарового отека у мышей. Показано, что максимальный эффект, близкий к эффекту препарата сравнения, проявляется у хвоща полевого (представитель подрода *Equisetum*) и хвоща зимующего (представитель подрода *Hippochaete*).

Результаты исследования антибактериальных свойств различных видов хвоща *in vitro* показали, что более выраженный бактериостатический эффект проявляют виды подрода *Equisetum*, накапливающие преимущественно фенольный комплекс. Наиболее значительно подавляют активность кишечной палочки и клебсиеллы пневмонийной хвощ полевой, хвощ лесной, хвощ луговой, хвощ речной и хвощ болотный. В менее значимых концентрациях в отношении золотистого стафилококка и пневмонийной клебсиеллы бактериостатическое действие проявили виды подрода *Hippochaete*, при этом в отношении синегнойной палочки бактериостатическое действие проявляется только у хвоща зимующего, и не проявляется у остальных видов этого подрода [9, 77].

Оценка антигрибковых свойств представителей рода хвощ показала, что к числу перспективных фунгистатиков, задерживающих рост поверхностных дерматофитов в концентрациях 7.8–15.6 мкг/мл, относятся 2 вида: хвощ полевой и хвощ зимующий [108].

Для исследования гепатопротекторной активности при остром СС₄-гепатите в качестве объектов использовали хвощ полевой и хвощ лесной, как представителей подрода *Equisetum*, содержащие наибольшее количество фенольных соединений, а также хвощ зимующий, как представителя другого подрода *Hippochaete*, богатого кремниевыми соединениями. Было показано, что экстракты хвоща полевого и х. лесного обладают выраженным гепатопротекторным действием. Экстракт хвоща зимующего практически не изменял биохимических показателей сыворотки крови и индикаторных ферментов, не влияя, таким образом, на экскреторную и антиоксидантную функцию печени, что позволило сделать предположение о нецелесообразности поиска гепатопротекторов среди видов подрода *Hippochaete* [14, 24, 112].

Учеными была проведена оценка антирадикальных свойств хвощей, которая показала, что наиболее выражены они у видов подрода *Equisetum*. При этом высокая антирадикальная способность хвоща лесного и хвоща полевого коррелирует с их гепатопротекторным действием и содержанием в них фенольных соединений [14].

Флавоноиды, выделенные из *Equisetum arvense*, *Equisetum sylvaticum*, обладают широким спектром биологического действия. Они имеют малую токсичность, поэтому являются перспективными в плане создания новых лечебных средств. Многочисленные исследования показали, что препараты, созданные на основе флавоноидов этих растений, являются высокоэффективными противоопухолевыми, противовоспалительными, антибактериальными, обладают антиоксидантными свойствами, снижают риск заболеваний сердечно-сосудистой системы. Они проявляют противовоспалительные, антигрибковые, диуретические и другие не менее целебные свойства.

Диуретический эффект выявлен у кверцетина, кемпферола, лютеолина и некоторых других флавоноидов. Большинство перечисленных веществ, по данным литературы, способны ослаблять воспалительные и аллергические реакции, усиливать процессы регенерации [1–4, 27, 51].

Хвощ лесной издавна применяется в народной медицине как мочегонное и вяжущее средство [8, 14, 15, 29]. Значимость фенольных соединений хвоща лесного подтверждена экспериментальным изучением. Они обладают антимикробными, диуретическими, гепатопротекторными, противовоспалительными и антирадикальными свойствами [8, 9, 15, 29].

Заключение

Приведенные в данной статье сведения демонстрируют, что растения рода *Equisetum* содержат богатый комплекс биологически активных веществ, специфичный как внутри каждого из подродов, так и для отдельных видов хвощей. На сегодняшний день наиболее изученным классом являются фенольные соединения, прежде всего флавоноиды и фенолкарбоновые кислоты, а к числу наиболее изученных видов следует отнести *Equisetum arvense* и *Equisetum sylvaticum*. Результаты изучения фармакологической активности экстракционных препаратов и некоторых индивидуальных соединений различных видов хвощей показывают перспективность их дальнейшего изучения по ряду направлений, а также использования для создания на их основе лекарственных средств, парафармацевтических продуктов.

Список литературы

1. Хвощ [Электронный ресурс]. URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Хвощ>
2. Чиков П.С., Абдухамидов Н.А., Адодина Н.М., Алимбаева П.К. и др. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР. М., 1983. 320 с.
3. Кашина Л.И., Красноборов И.М., Шауло Д.Н. Флора Сибири Lycopodiaceae – Hydrocharitaceae. Новосибирск, 1988. С. 42–47
4. Коломиец Н.Э. Растения рода хвощ // Фармация. 2006. №3. С. 46–48.
5. Куркин В.А., Бекишева Е.В., Куркина Т.В. Этимология названий лекарственных растений. М., 2000. 44 с.
6. Куркин В.А. Фармакогнозия. Самара, 2007. С. 827–832.
7. Walkowiak R. A Taxonomic Study of the Genus *Equisetum* (Horsetail) // IEA PAPER. 2011. DOI: 10.13140/RG.2.2.21694.18249
8. Скворцов В.Э. Род *Equisetum* L. в российской и мировой флоре: биоморфология, изменчивость, таксономия: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Москва, 2008. 22 с.
9. Hauke R.L. Equisetopsida // Flora Mesoamericana. México, 1995. Vol. 1. Pp. 4–5.
10. Page C.N. The ferns of Britain and Ireland. 2nd ed., 1997. 567 p.
11. Page C.N. *Equisetum* subgenus *Equisetum* in the sino-himalayan region – a preliminary taxonomic and evolutionary appraisal // Fern Gazette. 1974. Vol. 11. N1. Pp. 25–47.
12. Гончарова Т.А. Энциклопедия лекарственных растений. Лечение травами. М., 2004. Т. 1. С. 88–90.
13. Кукес В.Г. Фитотерапия с основами клинической фармакологии. М.: Медицина, 1999. С. 73.
14. Коломиец Н.Э., Калинкина Г.И. Растения рода Хвощ (*Equisetum* L.). Систематика, химический состав, перспективы использования в медицине. Томск, 2009. 88 с.
15. Растительные ресурсы России и сопредельных государств. Часть 1. Семейства Lycopodiaceae – Ephemerales. СПб., 1996. С. 12–15.
16. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. М., 2018. Т. 4. 7019 с.
17. European Pharmacopoeia 6th Edition, 2007. 4392 p.
18. British Pharmacopoeia. British Herbal Pharmacopoeia. BHMA. Bournemouth, 2004.
19. EMA Assessment report on *Equisetum arvense* L., herba, 2016. [Электронный ресурс]. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-equisetum-arvense-1-herba_en.pdf
20. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>
21. Corletto F. Female climacteric osteoporosis therapy with titrated horsetail (*E. arvense*) extract plus calcium (Osteosil calcium): randomised double blind study // Miner. Osteoped Traumatol. 1999. Vol. 50. Pp. 201–206.

22. Badole S., Kotwal S. Equisetum arvense: Ethanopharmacological and Phytochemical review with reference to osteoporosis // Int. J. Pharm. Sci. and Health Care. 2014. Vol. 1. N4. Pp. 131–141.
23. Kotwal S.D., Badole S.R. Anabolic therapy with Equisetum arvense along with bone mineralising nutrients in ovariectomized rat model of osteoporosis // Indian J. Pharmacol. 2016. Vol. 48. N3. Pp. 312–315.
24. Коломиец Н.Э. Фармакогностическое исследование рода Equisetum L. флоры Сибири как источника лекарственных средств: автореф. дисс. ... доктора фарм. наук. Москва, 2010. 42 с.
25. Asgarpanah J., Roohi E. Phytochemistry and pharmacological properties of Equisetum arvense L. // J. Med. Plants Res. 2012. Vol. 6. N21. Pp. 3689–3693. DOI: 10.5897/JMPR12.234
26. Sandhu N.S., Kaur S., Chopra D. Equisetum arvense: Pharmacology and Phytochemistry – A review // Asian J. Pharm. Clin. Res. 2010. Vol. 3. N3. Pp. 146–150.
27. Коломиец Н.Э., Калинин Г.И. Сравнительное исследование химического состава видов рода хвощ флоры Сибири // Химия растительного сырья. 2010. №1. С. 149–154.
28. Бондарчук Р.А., Коломиец, Н.Э. Исследование фенольных соединений хвоща лесного Equisetum sylvaticum L. // Бюллетень сибирской медицины. 2011. №5. С. 25–29.
29. Бондарчук Р.А. Фармакогностическое исследование хвоща лесного как перспективного источника биологически активных соединений: автореферат дис. ... канд. фарм. наук. Самара, 2013. 24 с.
30. Suzuki K., Homma T. Isolation, and chemical structure of flavonoids from horsetail (Equisetum arvense L.) // J. Adv. Sci. 1997. Vol. 9. N1–2. Pp. 104–105. DOI: 10.2978/jsas.9.104
31. Chang J., Xuan L., Xu Y. Three new phenolic glycosides from fertile sprout of Equisetum arvense // Zhiwu Xuebao. 2001. Vol. 43. N2. Pp. 193–197.
32. Veit M., Geiger H., Czygan F.C., Markham K.R. Malonylated flavones 5-O-glucosides in the barren sprouts of Equisetum arvense // Phytochemistry. 1990. Vol. 29. N8. Pp. 2555–2560. DOI: 10.1016/0031-9422(90)85187-K.
33. Pietta P., Mauri P., Bruno A., Rava A., Manera E., Ceva P. Identification of flavonoids from Ginkgo biloba L., Anthemis nobilis L and Equisetum arvense L. by high performance liquid chromatography with diode-array UV detection // J. Chromatogr. 1991. Vol. 553. N1-2. Pp. 223–231. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)88492-2.
34. Veit M., Geiger H., Wray V., Abou-Mandour A., Rozdzinski W., Witte L., Strack D., Czygan F.C. Equisetumprone, a styrylpyrone glucoside in gametophytes from Equisetum arvense // Phytochem. 1993. Vol. 32. N4. Pp. 1029–1032.
35. Veit M., Geiger H., Kast B., Beckert C., Horn C., Kenneth R., Wong H. Styrylpyrone glucosides from Equisetum // Phytochemistry. 1995. Vol. 39. N4. Pp. 915–917. DOI: 10.1016/0031-9422(95)00941-Y.
36. Beckert C., Horn C., Schnitzler J.P., Lehning A., Heller W., Veit M. Styrylpyrone biosynthesis in Equisetum arvense // Phytochemistry. 1997. Vol. 44. N2. Pp. 275–283. DOI: 10.1016/S0031-9422(96)00543-2.
37. Veit M., Strack D., Czygan F.C., Wray V., Witt L. Di-E-caffeoyl-mesotartaric acid in the barren sprouts of Equisetum arvense // Phytochemistry. 1991. Vol. 30. N2. Pp. 527–529.
38. Veit M., Abou-Mandour A.A., Czygan F.C. Phenolics from gametophytes of Equisetum arvense // Planta Med Suppl. 1991. Vol. 2. 57: A36.
39. Veit M., Beckert C., Hohne C., Bauer K., Geiger H. Interspecific and intraspecific variation of phenolics in the genus Equisetum subgenus Equisetum // Phytochemistry. 1995. Vol. 38. Pp. 881–891. DOI: 10.1016/0031-9422(94)00658-G.
40. Veit M., Weidner C., Strack D., Wray V., Witte L., Czygan F.C. The distribution of caffeic acid conjugates in the Equisetaceae and some ferns // Phytochemistry. 1992. Vol. 31. Pp. 3483–3485.
41. Hohlfeld M., Veit M., Strack D. Hydroxycinnamoyltransferases Involved in the Accumulation of Caffeic Acid Esters in Gametophytes and Sporophytes of Equisetum arvense // Plant Physiol. 1996. Vol. 111. N4. Pp. 1153–1159. DOI: 10.1104/pp.111.4.1153.
42. Saleh N.A.M., Majak W., Towers G.H.N. Flavonoids of Equisetum species // Phytochemistry. 1972. Vol. 11. N3. Pp. 1095–1099.
43. Saleh N.A.M. Glycosidic nature of Equisetum flavonoids // Phytochemistry. 1975. Vol. 14. N1. Pp. 286–287.
44. Saleh N.A.M., Abdalla M.F. The flavonoids of Equisetum ramosissimum // Phytochemistry. 1980. Vol. 19. N5. P. 987.
45. Сырчина А.И. Химическое исследование фенольных соединений хвоща полевого (Equisetum arvense L.): автореф. дис. ... канд. хим. наук. Иркутск, 1981. 26 с.
46. Сырчина А.И., Горохова В.Г., Тюкавкина Н.А., Бабкин В.А., Воронков М.Г. Флавоноидные гликозиды спорных стеблей Equisetum arvense // Химия природных соединений. 1980. №3. С. 334–337.
47. Сырчина А.И., Воронков М.Г., Тюкавкина Н.А. Флавоноиды Equisetum arvense // Химия природных соединений. 1973. №5. С. 671–672.
48. Сырчина А.И., Воронков М.Г., Тюкавкина Н.А. Некоторые гликозиды флавонолов Equisetum arvense // Химия природных соединений. 1974. №6. С. 794–795.
49. Сырчина А.И., Воронков М.Г., Тюкавкина Н.А. Нарингенин, дигидрокемпферол, дигидрокверцетин из Equisetum arvense // Химия природных соединений. 1975. №3. С. 424–425.
50. Сырчина А.И., Воронков М.Г., Тюкавкина Н.А. Флавоны Equisetum arvense // Химия природных соединений. 1978. №6. С. 807–808.
51. Сырчина А.И., Воронков М.Г., Тюкавкина Н.А. Апигенин-5-глюкозид из Equisetum arvense // Химия природных соединений. 1974. №5. С. 666–667.
52. Сырчина А.И., Запесочная Г.Г., Тюкавкина Н.А. Воронков М.Г. 5-Глюкозиды флавонов Equisetum arvense // Химия природных соединений. 1980. №3. С. 413–414.

53. Сырчина А.И., Запесочная Г.Г., Тюкавкина Н.А. Воронков М.Г. 6-Хлорапигенин из *Equisetum arvense* // Химия природных соединений. 1980. №4. С. 499–501.
54. Сырчина А.И., Воронков М.Г., Тюкавкина Н.А. Фенолокислоты *Equisetum arvense* // Химия природных соединений. 1975. №3. С. 416.
55. Сырчина А.И., Воронков М.Г., Тюкавкина Н.А. Фенолокислоты и флавоноиды спороносных стеблей *Equisetum arvense* // Химия природных соединений. 1978. №8. С. 803–804.
56. Francescato L.N., Debenedetti S.L., Schwanz T.G., Bassani V.L., Henriques A.T. Identification of phenolic compounds in *Equisetum giganteum* by LC–ESI-MS/MS and a new approach to total flavonoid quantification // *Talanta*. 2013. Vol. 105. Pp. 192–203. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.11.072
57. Боначева В.М., Ботиров Э.Х. Гликозиды флавоноидов *Equisetum silvaticum* L. Ханты-Мансийского автономного округа // Химия растительного сырья. 2013. №1. С. 171–174. DOI: 10.14258/jcrpm.1301171
58. Bonacheva V.M., Botirov E.Kh. Kaempferol and Its Glycosides from *Equisetum silvaticum* L. from the Khanty-Mansi Autonomous Area // *Rus. J. Bioorg. Chem.* 2014. Vol. 40. N7. Pp. 769–772. DOI: 10.1134/S1068162014070048
59. Боначева В.М., Ботиров Э.Х., Дренин А.А. Флавоноиды *Equisetum arvense* L и *Lathyrus pratensis* L. // Химия растительного сырья. 2014. №3. С. 195–199. DOI: 10.14258/jcrpm.1403195
60. Боначева В.М. Флавоноиды и фталаты *Equisetum arvense* L., *Equisetum sylvaticum* L. и *Pseudosophora alopecuroides* L.: автореф. дис. ... канд. хим. наук. Новосибирск, 2016. 18 с.
61. Wiedemfeld H.A., Andrade Cetto A.B., Amador C.P. Flavonol glycosides from *Equisetum myriochaetum* // *Biochem. System. and Ecol.* 2000. Vol. 28. Pp. 395–397. DOI: 10.1016/S0305-1978(99)00074-5.
62. Cramer L., Ernst L., Lubienski M., Papke U., Schiebel H.M., Jerz G., Beuerle T. Structural and quantitative analysis of *Equisetum* alkaloids // *Phytochemistry*. 2015. Vol. 116. Pp. 269–282. DOI: 10.1016/j.phytochem.2015.03.003.
63. Tipke I., Bucker L., Middelstaedt J., Winterhalter P., Lubienski M., Beuerle T. HILIC HPLC-ESI-MS/MS identification and quantification of the alkaloids from the genus *Equisetum* // *Phytochem. Anal.* 2019. Vol. 30. N6. Pp. 669–678. DOI: 10.1002/pca.2840.
64. Geiger H., Lang U., Britsch E., Mabry T.J., Suhr-Schiicker U., Velde G.V., Waldrum H. Die flavonolglykoside von *Equisetum telmateja* // *Phytochemistry*. 1978. Vol. 17. N2. Pp. 336–337.
65. Fahmi Aly H., Geiger H., Schucker U., Waldrum H., Vander Velde G., Mabry T.J. Die flavonolglykoside von *Equisetum sylvaticum* // *Phytochemistry*. 1975. Vol. 14. N7. Pp. 1613–1615.
66. Al-Snafi A.E. The pharmacology of *Equisetum arvense*. A review // *IOSR Journal of Pharmacy*. 2017. Vol. 7. N2. Pp. 31–42. DOI: 10.9790/3013-0702013142.
67. Tan J.M., Qiu Y.H., Tan X.Q., Tan C.H., Xiao K. Chemical constituents of *Equisetum debile* // *Journal of Asian Natural Products Research*. 2011. Vol. 13. N9. Pp. 811–816. DOI: 10.1080/10286020.2011.596829.
68. Radulović N., Stojanović G., Palić R. Composition and Antimicrobial Activity of *Equisetum arvense* L. Essential Oil. // *Phyther. Res.* 2006. Vol. 20. Pp. 85–88. DOI: 10.1002/ptr.1815.
69. Hayek M. *Encyclopedia of Medicinal Plants*. Librairie du Liban, Beyrouth, 1997. 255 p.
70. Natherova L., Kresanek J., Janasova Z. Anatomical study of the domestic species of genus *Equisetum* L. // *Cesk. Farm.* 1977. Vol. 26. N5. Pp. 206–211.
71. Коломиец Н.Э., Сапронова Н.Н., Калинкина Г.И., Дмитрук С.Е. Анатомическое строение растений рода Хвощ // *Фармация*. 2006. №1. С. 19–21.
72. Решетникова М.Д. Фармакогностическое изучение хвоща полевого: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Уфа, 1993. 17 с.
73. Kolomiets N.E., Yusubov M.S., Kalinkina G.I. Flavonoid composition of *Equisetum arvense* and *E. x litorale* studied by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry // *Chemistry of Natural Compounds*. 2012. Vol. 48. N1. Pp. 135–136. DOI: 10.1007/s10600-012-0181-9.
74. Oh H., Kim D.H., Cho J.H., Kim Y.C. Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenolic petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense* // *J. Ethnopharmacol.* 2004. Vol. 95. Pp. 421–424. DOI: 10.1016/j.jep.2004.08.015.
75. AbdElIslam N.M., Ullah R., Waseem M., Hussain I., Ahmad Sh. Evaluation of the Chemical Composition of *Equisetum ravens* // *Life Science Journal*. 2013. Vol. 10. N7. Pp. 966–968.
76. WHO monographs on medicinal plants commonly used in the Newly Independent States (NIS). World Health Organization. 2010. Pp. 113–126.
77. Mimica-Dukic N., Simin N., Cvejic J., Jovin E., Orcic D., Bozin B. Phenolic Compounds in Field Horsetail (*Equisetum arvense* L.) as Natural Antioxidants // *Molecules*. 2008. Vol. 13. Pp. 1455–1464. DOI: 10.3390/molecules13071455.
78. Syrchina A.I., Gorenysheva O.N., Semenov A.A., Biyushkin V.N., Malinovskii T.I. Isolation of an indanone from *Equisetum arvense* and its crystal and molecular structure // *Chemistry of Natural Compounds*. 1978. Vol. 14. N4. Pp. 432–436. DOI: 10.1007/BF00565253.
79. Ganeva Y., Chaney C., Dentchev T. Triterpenoids and sterols from *Equisetum arvense* // *Dokladi na Bulgarskata Akademiya na Naukite*. 2001. Vol. 54. Pp. 53–56.
80. Takatsuto S., Abe H. Sterol composition of Strobilus of *Equisetum arvense* L. // *Biosci. Biotech. Biochem.* 1992. Vol. 56. Pp. 834–835. DOI: 10.1271/bbb.56.834.
81. Takatsuto S., Abe H., Gamoh K. Evidence for Brassinosteroids in Strobilus of *Equisetum arvense* L. // *Agric. Bioi. Chern.* 1990. Vol. 54. Pp. 1057–1059. DOI: 10.1080/00021369.1990.10870042.

82. European Medicines Agency; Community herbal monograph on *Equisetum arvense* L. HERBA., Doc. Ref. EMEA/HMPC/394895/2007. 2008.
83. Jabeur I., Martins N., Barros L., Calhella R.C., Vaz J., Achour L., Santos-Buelga C., Ferreira I.C. Contribution of the phenolic composition to the antioxidant, anti-inflammatory and antitumor potential of *Equisetum giganteum* L. and *Tilia platyphyllos* Scop. // *Food Funct.* 2017. Vol. 8. N3. Pp. 975–984. DOI: 10.1039/c6fo01778a.
84. Pallag A., Jurca T., Pasca B., Sirbu V., Honges A., Costuleanu M. Analysis of Phenolic Compounds Composition by HPLC and Assessment of Antioxidant Capacity in *Equisetum arvense* L. Extracts // *Rev. Chim. (Bucharest)*. 2016. Vol. 67. N8. Pp. 1623–1627.
85. Qureshi M.N., Stecher G., Bonn G.K. Quantification of polyphenolic compounds and flavonoids in *Achillea millefolium* and *Equisetum arvense* // *Pak. J. Pharm. Sci.* 2016. Vol. 29. N5. Pp. 1519–1523.
86. The Palustrines // *The Alkaloids*, ed. A. Brossi. New York: Academic Press, 1983. Vol. XXII. Pp. 109–111.
87. Milovanovic V., Radulovic N., Todorovic Z., Stankovic M., Stojanovic G. Antioxidant, antimicrobial and genotoxicity screening of hydroalcoholic extracts of five Serbian equisetum species // *Plant Food Hum Nutr.* 2007. Vol. 62. N3. Pp. 113–119. DOI: 10.1007/s11130-007-0050-z.
88. Patil S.A., Patil R., Patil S.A. Recent developments in biological activities of indanones // *Eur. J. Med. Chem.* 2017. Vol. 138. Pp.182–198. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.06.032.
89. Rezanka T. Branched and very long-chain dicarboxylic acids from *Equisetum* species // *Phytochemistry*. 1998. Vol. 47. N8. Pp. 1539–1543. DOI: 10.1016/S0031-9422(97)00774-7.
90. Brune T., Haas K. *Equisetum* species show uniform epicuticular wax structures but diverse composition patterns // *AoB PLANTS*. 2011. plr009. DOI: 10.1093/aobpla/plr009.
91. Carnet A., Petitjean-Freytet C., Muller D., Lamaison J.L. Content of major constituents of horsetails, *Equisetum arvense* L. // *Plants Med. Phytother.* 1991. Vol. 25. Pp. 32–38.
92. Sola-Rabada A., Rinck J., Belton D.J., Powell A.K., Perry C.C. Isolation of a wide range of minerals from a thermally treated plant: *Equisetum arvense*, a Mare's tale // *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 2016. Vol. 21. N1. Pp. 101–112. DOI: 10.1007/s00775-015-1320-0.
93. Коломиец Н.Э., Агеева Л.Д., Абрамец Н.Ю. Элементный состав видов рода *Equisetum* L. // *Фундаментальные исследования*. 2014. №8. С. 1418–1421.
94. Воронков М.Г., Кузнецов И.Г. Кремний в живой природе. Новосибирск: Наука, 1984. 157 с.
95. Valtchev V., Smaïhi M., Faust A.C., Vidal L. Biomineral-silica-induced zeolitization of *Equisetum arvense* // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2003. Vol. 42. N24. Pp. 2782–2785. DOI: 10.1002/anie.200351175.
96. Holzhueter G., Narayanan K., Gerber T. Structure of silica in *Equisetum arvense* // *Anal. Bioanal. Chem.* 2003. Vol. 376. N4. Pp. 512–517. DOI: 10.1007/s00216-003-1905-2.
97. Коломиец Н.Э., Калинкина Г.И. Количественное определение кремния в хвощах // *Фармация*. 2009. №3. С. 13–15.
98. Weiss R.F. *Herbal Medicine*. Gothenburg, Sweden: AB Arcanum, 1998. Pp. 238–239.
99. Carneiro D.M., Jardim T.V., Araújo Y.C.L., Arantes A.C., Sousa A.C. et al. *Equisetum arvense*: New Evidences Supports Medical use in Daily Clinic // *Pharmacog. Rev.* 2019. Vol. 13. N26. Pp. 50–58. DOI: 10.5530/phrev.2019.2.4.
100. Carneiro D.M., Freire R.C., Honório T.C., Zoghaib I., Cardoso F.F., Tresvenzol L.M. Randomized, doubleblind clinical trial to assess the acute diuretic effect of *Equisetum arvense* (field horsetail) in healthy volunteers // *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2014. Vol. 10. 760683. DOI: 10.1155/2014/760683.
101. Lemus I., Garcia R., Erazo S., Pena R., Parada M., Fuenzalida M. Diuretic activity of an *Equisetum bogotense* tea (Platero herb): evaluation in healthy volunteers // *J. Ethnopharmacol.* 1996. Vol. 54. N1. Pp. 55–58. DOI: 10.1016/0378-8741(96)01444-4.
102. Wright C.I., Van-Buren L., Kroner C.I., Koning M.M.G. Herbal medicines as diuretics: A review of the scientific evidence // *J. Ethnopharmacol.* 2007. Vol. 114. N1. Pp. 1–31. DOI: 10.1016/j.jep.2007.07.023.
103. Canadanovic-Brunet J.M., Cetkovic G.S., Djilas S.M., Tumbas V.T., Savatovic S.S., Mandic A.I. Radical scavenging and antimicrobial activity of horsetail (*Equisetum arvense* L.) extracts // *International Journal of Food Science & Technology*. 2009. Vol. 44. N2. Pp. 269–278. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2007.01680.x.
104. Stajner D., Popović B.M., Canadanović-Brunet J., Boza P. Free radical scavenging activity of three *Equisetum* species from Fruska gora mountain // *Fitoterapia*. 2006. Vol. 77. N7-8. Pp. 601–604. DOI: 10.1016/j.fitote.2006.06.006.
105. Marin D.B., Cioanca O., Apostu M., Tuchilus C.G., Mircea C., Robu S., Tutunaru D., Corciova A., Hancianu M. The Comparative Study of *Equisetum pratense*, *E. Sylvaticum*, *E. Telmateia*: Accumulation of silicon, antioxidant and antimicrobial screening // *Revista de Chimie*. 2019. Vol. 70. N7. Pp. 2519–2523. DOI: 10.37358/rc.19.7.7372.
106. Коломиец Н.Э., Калинкина Г.И. Антибактериальные свойства хвощей // *Фармация*. 2007. №5. С. 38–39.
107. Dos Santos Alves C.F., Bonez P.C., De Souza Ebling M., Casagrande C., Freitas L., Dolwitsch C., Pires F., Sargrillo M.R., De Brum G.F., De Campos M.M.A., Santos R.C.V. Antimicrobial, cyto and genotoxic activities of *Equisetum hyemale* // *Pharmacognosy Journal*. 2019. Vol. 11. N6. Pp. 1563–1571. DOI: 10.5530/PJ.2019.11.239.
108. Коломиец Н.Э., Дмитрук С.Е., Калинкина Г.И. Антигрибковые свойства хвощей флоры Сибири // *Фармация*. 2007. №4. С. 36–40.
109. Goun E.A., Petrichenkov V.M., Solodnikov S.U., Suhinina T.V., Kline M.A., Cunningham G., Nguyen C., Miles H. Anticancer and antithrombin activity of Russian plants // *J. Ethnopharmacol.* 2002. Vol. 81. N3. Pp. 337–342. DOI: 10.1016/s0378-8741(02)00116-2.

110. Li P., Chiu Y., Shih C., Wen Z., Ibetto L., Huang S., Chiu C., Ma D., Leung C., Chang Y., Wang H. Biofunctional activities of *Equisetum ramosissimum* extract: Protective effects against oxidation, melanoma, and melanogenesis // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016. 2853543. DOI: 10.1155/2016/2853543
111. Haider B., Al-Badri H.B., Al-Ani W.M.K., Naser A-M.A.G. Cytotoxicity study of *Equisetum arvense* of Iraq. // *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2016. Vol. 5. N1. Pp.149–155.
112. Коломиец Н.Э., Шейкин В.В., Ратькин А.В., Бондарчук Р.А. Гепатопротекторные свойства хвощей // *Фармация*. 2011. №7. С. 15–16.
113. Коломиец Н.Э., Ефимов С.Н. Антимутагенные свойства растений рода хвощ // *Фармация*. 2005. №5. С. 31–32.
114. Revilla M.C., Andrade-Cetto A., Islas S., Wiedenfeld H. Hypoglycemic effect of *Equisetum myriochaetum* aerial parts on type 2 diabetic patients // *J. Ethnopharmacol.* 2002. Vol. 81. N1. Pp. 117–120. DOI: 10.1016/s0378-8741(02)00053-3.
115. Dos Santos J.G.Jr., Blanco M.M., Do Monte F.H., Russi M., Lanziotti V.M., Leal L.K. Sedative and anticonvulsant effects of hydroalcoholic extract of *Equisetum arvense* // *Fitoterapia*. 2005. Vol. 76. N6. Pp. 508–513. DOI: 10.1016/j.fitote.2005.04.017.
116. Singh N., Kaur S., Bedi P.M., Kaur D. Anxiolytic effects of *Equisetum arvense* Linn. extracts in mice // *Indian Journal of Experimental Biology*. 2011. Vol. 49. N5. Pp. 352–356.

Поступила в редакцию 14 мая 2020 г.

После переработки 3 октября 2020 г.

Принята к публикации 7 октября 2020 г.

Для цитирования: Ботиров Э.Х., Боначева В.М., Коломиец Н.Э. Химический состав и биологическая активность метаболитов растений рода *Equisetum* L. // *Химия растительного сырья*. 2021. №1. С. 5–26. DOI: 10.14258/jcprm.2021017760.

Botirov E.Kh.^{1*}, *Bonacheva V.M.*¹, *Kolomiets N.E.*² CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF METABOLITES OF THE GENUS EQUISETUM

¹ Surgut State University, ul. Lenina, 1, Surgut, 628412 (Russia), e-mail: botirov-nepi@mail.ru

² Siberian State Medical University, Moscovsky tract, 2, Tomsk, 634050 (Russia)

The review summarizes the scientific literature on the degree of knowledge of the chemical composition and biological activity of metabolites and plant extracts of the genus *Equisetum* L. of the world flora. Many types of horsetail are widely used in folk medicine as a diuretic, hemostatic, as well as for pulmonary tuberculosis and skin diseases, ulcers, dropsy, jaundice, as a heart remedy, for diseases of the kidneys, bladder, etc. Based on extracts of the horsetail canes (*Equisetum arvense* L.) a number of drugs and biologically active additives with a wide spectrum of pharmacological action have been created. The review presents data on the structural diversity and biological activity of metabolites of plants of the genus *Equisetum* L. Information is provided on the composition of the metabolites of 16 species of the genus *Equisetum* L., the structure and sources of more than 200 natural substances related to terpenoids, phytosterols, brassinosteroids, vitamins, alkaloids and other nitrogen-containing compounds, lignans, styryl pyrones, indanones, phenylpropanoids, organic acids, hydrocarbons, aldehydes and phenolic compounds. The main biologically active substances of plants of the genus *Equisetum* are flavonoids and other plant phenolic compounds. Extracts and individual compounds possess antioxidant, diuretic, antibacterial, antifungal, hepatoprotective, hypoglycemic, antimutagenic, sedative, anxiolytic, anti-tumor, anti-inflammatory properties. An analysis of literature data shows that plants of the genus *Equisetum* are promising for the creation of new effective drugs. The information presented in the review can be used as reference literature by phytochemists, biologists, and pharmacologists, as well as to solve the problems of chemosystematics of plants of the genus *Equisetum* L.

Keywords: *Equisetum* L., *Equisetaceae*, chemical composition of metabolites, structural diversity, biological activity.

* Corresponding author.

References

1. *Khvosht* [Horsetail]. URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Хвощ>. (in Russ.).
2. Chikov P.S., Abdukhamidov N.A., Adodina N.M., Alimbayeva P.K. i dr. *Atlas arealov i resursov lekarstvennykh rasteniy SSSR*. [Atlas of areas and resources of medicinal plants in the USSR]. Moscow, 1983, 320 p. (in Russ.).
3. Kashina L.I., Krasnoborov I.M., Shaulo D.N. *Flora Sibiri Lycopodiaceae – Hydrocharitaceae*. [Flora of Siberia Lycopodiaceae – Hydrocharitaceae]. Novosibirsk, 1988, pp. 42–47. (in Russ.).
4. Kolomiyyets N.E. *Farmatsiya*, 2006, no. 3, pp. 46–48. (in Russ.).
5. Kurkin V.A., Bekisheva Ye.V., Kurkina T.V. *Etimologiya nazvaniy lekarstvennykh rasteniy*. [Etymology of the names of medicinal plants]. Moscow, 2000, 44 p. (in Russ.).
6. Kurkin V.A. *Farmakognoziya*. [Pharmacognosy]. Samara, 2007, pp. 827–832. (in Russ.).
7. Walkowiak R. *IEA PAPER*, 2011. DOI: 10.13140/RG.2.2.21694.18249.
8. Skvortsov V.E. *Rod Equisetum L. v rossiyskoy i mirovoy flore: biomorfologiya, izmenchivost', taksonomiya: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk*. [Genus Equisetum L. in the Russian and world flora: biomorphology, variability, taxonomy: author. dis. ... Cand. biol. sciences]. Moscow, 2008, 22 p. (in Russ.).
9. Hauke R.L. *Flora Mesoamericana*. México, 1995, vol. 1, pp. 4–5.
10. Page C.N. *The ferns of Britain and Ireland. 2nd ed.*, 1997, 567 p.
11. Page C.N. *Fern Gazette*, 1974, vol. 11, no. 1, pp. 25–47.
12. Goncharova T.A. *Entsiklopediya lekarstvennykh rasteniy. Lecheniye travami*. [Encyclopedia of Medicinal Plants. Herbal treatment]. Moscow, 2004, vol. 1, pp. 88–90. (in Russ.).
13. Kukes V.G. *Fitoterapiya s osnovami klinicheskoy farmakologii*. [Phytotherapy with the basics of clinical pharmacology]. Moscow, 1999, p. 73. (in Russ.).
14. Kolomiyyets N.E., Kalinkina G.I. *Rasteniya roda Khvoshch (Equisetum L.). Sistematika, khimicheskiy sostav, perspektivy ispol'zovaniya v meditsine*. [Plants of the genus Horsetail (Equisetum L.). Taxonomy, chemical composition, prospects for use in medicine]. Tomsk, 2009, 88 p. (in Russ.).
15. *Rastitel'nyye resursy Rossii i sopredel'nykh gosudarstv. Chast' 1. Semeystva Lycopodiaceae – Ephedraceae*. [Plant resources of Russia and neighboring states. Part 1. Families Lycopodiaceae – Ephedraceae]. St.-Petersburg, 1996, pp. 12–15. (in Russ.).
16. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. 14-ye izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed.]. Moscow, 2018, vol. 4, 7019 p. (in Russ.).
17. *European Pharmacopoeia 6th Edition*, 2007, 4392 p.
18. *British Pharmacopoeia. British Herbal Pharmacopoeia. BHMA*. Bournemouth, 2004.
19. *EMA Assessment report on Equisetum arvense L., herba*, 2016. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-equisetum-arvense-l-herba_en.pdf
20. Gosudarstvennyy reyestr lekarstvennykh sredstv [State register of medicines]. URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>. (in Russ.).
21. Corletto F. *Miner. Ostoped Traumatol.*, 1999, vol. 50, pp. 201–206.
22. Badole S., Kotwal S. *Int. J. Pharm. Sci. and Health Care*, 2014, vol. 1, no. 4, pp. 131–141.
23. Kotwal S.D., Badole S.R. *Indian J. Pharmacol.*, 2016, vol. 48, no. 3, pp. 312–315.
24. Kolomiyyets N.E. *Farmakognosticheskoye issledovaniye roda Equisetum L. flory Sibiri kak istochnika lekarstvennykh sredstv: avtoref. diss. ... doktora farm. nauk*. [Pharmacognostic study of the genus Equisetum L. Siberian flora as a source of medicines. Author's abstract. diss. ... doctor farm. sciences]. Moscow, 2010, 42 p. (in Russ.).
25. Asgarpanah J., Roohi E. *J. Med. Plants Res.*, 2012, vol. 6, no. 21, pp. 3689–3693. DOI: 10.5897/JMPR12.234.
26. Sandhu N.S., Kaur S., Chopra D. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 2010, vol. 3, no. 3, pp. 146–150.
27. Kolomiyyets N.E., Kalinkina G.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2010, no. 1, pp. 149–154. (in Russ.).
28. Bondarchuk R.A., Kolomiyyets, N.E. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*, 2011, no. 5, pp. 25–29. (in Russ.).
29. Bondarchuk R.A. *Farmakognosticheskoye issledovaniye khvoshcha lesnogo kak perspektivnogo istochnika biologicheskii aktivnykh soyedineniy: avtoreferat dis. ... kand. farm. nauk*. [Pharmacognostic study of horsetail as a promising source of biologically active compounds: abstract of dis. ... Cand. farm. sciences]. Samara, 2013, 24 p. (in Russ.).
30. Suzuki K., Homma T. *J. Adv. Sci.*, 1997, vol. 9, no. 1–2, pp. 104–105. DOI: 10.2978/jsas.9.104
31. Chang J., Xuan L., Xu Y. *Zhiwu Xuebao*, 2001, vol. 43, no. 2, pp. 193–197.
32. Veit M., Geiger H., Czygan F.C., Markham K.R. *Phytochemistry*, 1990, vol. 29, no. 8, pp. 2555–2560. DOI: 10.1016/0031-9422(90)85187-K.
33. Pietta P., Mauri P., Bruno A., Rava A., Manera E., Ceva P. *J. Chromatogr.*, 1991, vol. 553, no. 1-2, pp. 223–231. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)88492-2.
34. Veit M., Geiger H., Wray V., Abou-Mandour A., Rozdzinski W., Witte L., Strack D., Czygan F.C. *Phytochem.*, 1993, vol. 32, no. 4, pp. 1029–1032.
35. Veit M., Geiger H., Kast B., Beckert C., Horn C., Kenneth R., Wong H. *Phytochemistry*, 1995, vol. 39, no. 4, pp. 915–917. DOI: 10.1016/0031-9422(95)00941-Y
36. Beckert C., Horn C., Schnitzler J.P., Lehning A., Heller W., Veit M. *Phytochemistry*, 1997, vol. 44, no. 2, pp. 275–283. DOI: 10.1016/S0031-9422(96)00543-2.
37. Veit M., Strack D., Czygan F.C., Wray V., Witt L. *Phytochemistry*, 1991, vol. 30, no. 2, pp. 527–529.
38. Veit M., Abou-Mandour A.A., Czygan F.C. *Planta Med Suppl.*, 1991, vol. 2, 57: A36.
39. Veit M., Beckert C., Hohne C., Bauer K., Geiger H. *Phytochemistry*, 1995, vol. 38, pp. 881–891. DOI: 10.1016/0031-9422(94)00658-G.
40. Veit M., Weidner C., Strack D., Wray V., Witte L., Czygan F.C. *Phytochemistry*, 1992, vol. 31, pp. 3483–3485.
41. Hohlfeld M., Veit M., Strack D. *Plant Physiol.*, 1996, vol. 111, no. 4, pp. 1153–1159. DOI: 10.1104/pp.111.4.1153.
42. Saleh N.A.M., Majak W., Towers G.H.N. *Phytochemistry*, 1972, vol. 11, no. 3, pp. 1095–1099.
43. Saleh N.A.M. *Phytochemistry*, 1975, vol. 14, no. 1, pp. 286–287.

44. Saleh N.A.M., Abdalla M.F. *Phytochemistry*, 1980, vol. 19, no. 5, p. 987.
45. Syrchina A.I. *Khimicheskoye issledovaniye fenol'nykh soyedineniy khvoshcha polevogo (Equisetum arvense L.): avtoref. dis. ... kand. khim. nauk.* [Chemical study of phenolic compounds of the field horsetail (*Equisetum arvense L.*): abstract of thesis. dis. ... Cand. chem. sciences]. Irkutsk, 1981, 26 p. (in Russ.).
46. Syrchina A.I., Gorokhova V.G., Tyukavkina N.A., Babkin V.A., Voronkov M.G. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1980, no. 3, pp. 334–337. (in Russ.).
47. Syrchina A.I., Voronkov M.G., Tyukavkina N.A. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1973, no. 5, pp. 671–672. (in Russ.).
48. Syrchina A.I., Voronkov M.G., Tyukavkina N.A. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1974, no. 6, pp. 794–795. (in Russ.).
49. Syrchina A.I., Voronkov M.G., Tyukavkina N.A. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1975, no. 3, pp. 424–425. (in Russ.).
50. Syrchina A.I., Voronkov M.G., Tyukavkina N.A. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1978, no. 6, pp. 807–808. (in Russ.).
51. Syrchina A.I., Voronkov M.G., Tyukavkina N.A. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1974, no. 5, pp. 666–667. (in Russ.).
52. Syrchina A.I., Zapesochnaya G.G., Tyukavkina N.A. Voronkov M.G. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1980, no. 3, pp. 413–414. (in Russ.).
53. Syrchina A.I., Zapesochnaya G.G., Tyukavkina N.A. Voronkov M.G. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1980, no. 4, pp. 499–501. (in Russ.).
54. Syrchina A.I., Voronkov M.G., Tyukavkina N.A. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1975, no. 3, pp. 416. (in Russ.).
55. Syrchina A.I., Voronkov M.G., Tyukavkina N.A. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1978, no. 8, pp. 803–804. (in Russ.).
56. Francescato L.N., Debenedetti S.L., Schwanz T.G., Bassani V.L., Henriques A.T. *Talanta*, 2013, vol. 105, pp. 192–203. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.11.072
57. Bonacheva V.M., Botirov E.Kh. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2013, no. 1, pp. 171–174. DOI: 10.14258/jcprm.1301171. (in Russ.).
58. Bonacheva V.M., Botirov E.Kh. *Rus. J. Bioorg. Chem.*, 2014, vol. 40, no. 7, pp. 769–772. DOI: 10.1134/S1068162014070048
59. Bonacheva V.M., Botirov E.Kh., Drenin A.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2014, no. 3, pp. 195–199. DOI: 10.14258/jcprm.1403195. (in Russ.).
60. Bonacheva V.M. *Flavonoidy i ftalaty Equisetum arvense L., Equisetum sylvaticum L. i Pseudosophora alopecuroides L.: avtoref. dis. ... kand. khim. nauk.* [Flavonoids and phthalates *Equisetum arvense L.*, *Equisetum sylvaticum L.*, and *Pseudosophora alopecuroides L.*: author. dis. ... Cand. chem. sciences]. Novosibirsk, 2016, 18 p. (in Russ.).
61. Wiedemfeld H.A., Andrade Cetto A.B., Amador C.P. *Biochem. System. and Ecol.*, 2000, vol. 28, pp. 395–397. DOI: 10.1016/S0305-1978(99)00074-5.
62. Cramer L., Ernst L., Lubienski M., Papke U., Schiebel H.M., Jerz G., Beuerle T. *Phytochemistry*, 2015, vol. 116, pp. 269–282. DOI: 10.1016/j.phytochem.2015.03.003.
63. Tipke I., Bückler L., Middelstaedt J., Winterhalter P., Lubienski M., Beuerle T. *Phytochem. Anal.*, 2019, vol. 30, no. 6, pp. 669–678. DOI: 10.1002/pca.2840.
64. Geiger H., Lang U., Britsch E., Mabry T.J., Suhr-Schiicker U., Velde G.V., Waldrum H. *Phytochemistry*, 1978, vol. 17, no. 2, pp. 336–337.
65. Fahmi Aly H., Geiger H., Schucker U., Waldrum H., Vander Velde G., Mabry T.J. *Phytochemistiy*, 1975, vol. 14, no. 7, pp. 1613–1615.
66. Al-Snafi A.E. *IOSR Journal of Pharmacy*, 2017, vol. 7, no. 2, pp. 31–42. DOI: 10.9790/3013-0702013142.
67. Tan J.M., Qiu Y.H., Tan X.Q., Tan C.H., Xiao K. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2011, vol. 13, no. 9, pp. 811–816. DOI: 10.1080/10286020.2011.596829.
68. Radulović N., Stojanović G., Palić R. *Phytother. Res.*, 2006, vol. 20, pp. 85–88. DOI: 10.1002/ptr.1815.
69. Hayek N. *Encyclopedia of Medicinal Plants*. Librairie du Liban, Beyrouth, 1997, 255 p.
70. Natherova L., Kresanek J., Janasova Z. *Cesk. Farm.*, 1977, vol. 26, no. 5, pp. 206–211.
71. Kolomiets N.E., Sapronova N.N., Kalinkina G.I., Dmitruk S.Ye. *Farmatsiya*, 2006, no. 1, pp. 19–21. (in Russ.).
72. Reshetnikova M.D. *Farmakognosticheskoye izucheniye khvoshcha polevogo: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk.* [Pharmacognostic study of field horsetail: author. dis. ... Cand. farm. sciences]. Ufa, 1993, 17 p. (in Russ.).
73. Kolomiets N.E., Yusubov M.S., Kalinkina G.I. *Chemistry of Natural Compounds*, 2012, vol. 48, no. 1, pp. 135–136. DOI: 10.1007/s10600-012-0181-9.
74. Oh H., Kim D.H., Cho J.H., Kim Y.C. *J. Ethnopharmacol.*, 2004, vol. 95, pp. 421–424. DOI: 10.1016/j.jep.2004.08.015.
75. AbdElIslam N.M., Ullah R., Waseem M., Hussain I., Ahmad Sh. *Life Science Journal*, 2013, vol. 10, no. 7, pp. 966–968.
76. *WHO monographs on medicinal plants commonly used in the Newly Independent States (NIS)*. World Health Organization, 2010, pp. 113–126.
77. Mimica-Dukic N., Simin N., Cvejic J., Jovin E., Orcic D., Bozin B. *Molecules*, 2008, vol. 13, pp. 1455–1464. DOI: 10.3390/molecules13071455.
78. Syrchina A.I., Gorenysheva O.N., Semenov A.A., Biyushkin V.N., Malinovskii T.I. *Chemistry of Natural Compounds*, 1978, vol. 14, no. 4, pp. 432–436. DOI: 10.1007/BF00565253.
79. Ganeva Y., Chaney C., Dentchev T. *Dokladi na Bulgarskata Akademiya na Naukite*, 2001, vol. 54, pp. 53–56.
80. Takatsuto S., Abe H. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1992, vol. 56, pp. 834–835. DOI: 10.1271/bbb.56.834.
81. Takatsuto S., Abe H., Gamoh K. *Agric. Bioi. Chern.*, 1990, vol. 54, pp. 1057–1059. DOI: 10.1080/00021369.1990.10870042.
82. *European Medicines Agency; Community herbal monograph on Equisetum arvense L. HERBA.*, Doc. Ref. EMEA/HMPC/394895/2007. 2008.
83. Jabeur I., Martins N., Barros L., Calhelha R.C., Vaz J., Achour L., Santos-Buelga C., Ferreira I.C. *Food Funct.*, 2017, vol. 8, no. 3, pp. 975–984. DOI: 10.1039/c6fo01778a.
84. Pallag A., Jurca T., Pasca B., Sirbu V., Honges A., Costuleanu M. *Rev. Chim. (Bucharest)*, 2016, vol. 67, no. 8, pp. 1623–1627.
85. Qureshi M.N., Stecher G., Bonn G.K. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 2016, vol. 29, no. 5, pp. 1519–1523.

86. *The Alkaloids*, ed. A. Brossi. New York: Academic Press, 1983, vol. XXII, pp. 109–111.
87. Milovanovic V., Radulovic N., Todorovic Z., Stankovic M., Stojanovic G. *Plant Food Hum Nutr.*, 2007, vol. 62, no. 3, pp. 113–119. DOI: 10.1007/s11130-007-0050-z.
88. Patil S.A., Patil R., Patil S.A. *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, vol. 138, pp.182–198. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.06.032.
89. Rezanika T. *Phytochemistry*, 1998, vol. 47, no. 8, pp. 1539–1543. DOI: 10.1016/S0031-9422(97)00774-7.
90. Brune T., Haas K. *AOB PLANTS*, 2011, plr009. DOI: 10.1093/aobpla/plr009.
91. Carnet A., Petitjean-Freytet C., Muller D., Lamaison J.L. *Plants Med. Phytother.*, 1991, vol. 25, pp. 32–38.
92. Sola-Rabada A., Rinck J., Belton D.J., Powell A.K., Perry C.C. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2016, vol. 21, no. 1, pp. 101–112. DOI: 10.1007/s00775-015-1320-0.
93. Kolomiets N.E., Ageyeva L.D., Abramets N.Yu. *Fundamental'nyye issledovaniya*, 2014, no. 8, pp. 1418–1421. (in Russ.).
94. Voronkov M.G., Kuznetsov I.G. *Kremniy v zhivoy prirode*. [Silicon in nature]. Novosibirsk, 1984, 157 p. (in Russ.).
95. Valtchev V., Smaih M., Faust A.C., Vidal L. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2003, vol. 42, no. 24, pp. 2782–2785. DOI: 10.1002/anie.200351175.
96. Holzhter G. Narayanan K., Gerber T. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2003, vol. 376, no. 4, pp. 512–517. DOI: 10.1007/s00216-003-1905-2.
97. Kolomiets N.E., Kalinkina G.I. *Farmatsiya*, 2009, no. 3, pp. 13–15. (in Russ.).
98. Weiss R.F. *Herbal Medicine*. Gothenburg, Sweden: AB Arcanum, 1998, pp. 238–239.
99. Carneiro D.M., Jardim T.V., Araújo Y.C.L., Arantes A.C., Sousa A.C. et al. *Pharmacog. Rev.*, 2019, vol. 13, no. 26, pp. 50–58. DOI: 10.5530/phrev.2019.2.4.
100. Carneiro D.M., Freire R.C., Honório T.C., Zoghaib I., Cardoso F.F., Tresvenzol L.M. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, vol. 10, 760683. DOI: 10.1155/2014/760683.
101. Lemus I., Garcia R., Erazo S., Pena R., Parada M., Fuenzalida M. *J. Ethnopharmacol.*, 1996, vol. 54, no. 1, pp. 55–58. DOI: 10.1016/0378-8741(96)01444-4.
102. Wright C.I., Van-Buren L., Kroner C.I., Koning M.M.G. *J. Ethnopharmacol.*, 2007, vol. 114, no. 1, pp. 1–31. DOI: 10.1016/j.jep.2007.07.023.
103. Canadanovic-Brunet J.M., Cetkovic G.S., Djilas S.M., Tumbas V.T., Savatovic S.S., Mandic A.I. *International Journal of Food Science & Technology*, 2009, vol. 44, no. 2, pp. 269–278. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2007.01680.x.
104. Stajner D., Popović B.M., Canadanović-Brunet J., Boza P. *Fitoterapia*, 2006, vol. 77, no. 7-8, pp. 601–604. DOI: 10.1016/j.fitote.2006.06.006.
105. Marin D.B., Cioanca O., Apostu M., Tuchilus C.G., Mircea C., Robu S., Tutunaru D., Corciova A., Hancianu M. *Revista de Chimie*, 2019, vol. 70, no. 7, pp. 2519–2523. DOI: 10.37358/rc.19.7.7372.
106. Kolomiets N.E., Kalinkina G.I. *Farmatsiya*, 2007, no. 5, pp. 38–39. (in Russ.).
107. Dos Santos Alves C.F., Bonez P.C., De Souza Ebling M., Casagrande C., Freitas L., Dolwitsch C., Pires F., Sargrillo M.R., De Brum G.F., De Campos M.M.A., Santos R.C.V. *Pharmacognosy Journal*, 2019, vol. 11, no. 6, pp. 1563–1571. DOI: 10.5530/PJ.2019.11.239.
108. Kolomiets N.E., Dmitruk S.Ye., Kalinkina G.I. *Farmatsiya*, 2007, no. 4, pp. 36–40. (in Russ.).
109. Goun E.A., Petrichenko V.M., Solodnikov S.U., Suhinina T.V., Kline M.A., Cunningham G., Nguyen C., Miles H. *J. Ethnopharmacol.*, 2002, vol. 81, no. 3, pp. 337–342. DOI: 10.1016/s0378-8741(02)00116-2.
110. Li P., Chiu Y., Shih C., Wen Z., Ibeto L., Huang S., Chiu C., Ma D., Leung C., Chang Y., Wang H. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2853543. DOI: 10.1155/2016/2853543.
111. Haider B., Al-Badri H.B., Al-Ani W.M.K., Naser A-M.A.G. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2016, vol. 5, no. 1, pp.149–155.
112. Kolomiets N.E., Sheykin V.V., Rat'kin A.V., Bondarchuk R.A. *Farmatsiya*, 2011, no. 7, pp. 15–16. (in Russ.).
113. Kolomiets N.E., Yefimov S.N. *Farmatsiya*, 2005, no. 5, pp. 31–32. (in Russ.).
114. Revilla M.C., Andrade-Cetto A., Islas S., Wiedenfeld H. *J. Ethnopharmacol.*, 2002, vol. 81, no. 1, pp. 117–120. DOI: 10.1016/s0378-8741(02)00053-3.
115. Dos Santos J.G.Jr., Blanco M.M., Do Monte F.H., Russi M., Lanzotti V.M., Leal L.K. *Fitoterapia*, 2005, vol. 76, no. 6, pp. 508–513. DOI: 10.1016/j.fitote.2005.04.017.
116. Singh N., Kaur S., Bedi P.M., Kaur D. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2011, vol. 49, no. 5, pp. 352–356.

Received May 14, 2020

Revised October 3, 2020

Accepted October 7, 2020

For citing: Botirov E.Kh., Bonacheva V.M., Kolomiets N.E. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 1, pp. 5–26. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021017760.

Antioxidant activity and physical-chemical properties of spray and spouted bed dried extracts of *Bauhinia forficata*

Claudia Regina Fernandes Souza^{1*}, Sandra Regina Georgetti², Marcos José Salvador³, Maria José Vieira Fonseca¹, Wanderley Pereira Oliveira¹

¹Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, University of São Paulo,

²Department of Food and Drugs Technology, Healthy Sciences Center, State University of Londrina, ³Institute of Biology, State University of Campinas

Two distinct drying methods (spouted bed and spray drying) were used for production of dried extracts of *Bauhinia forficata* Link (Leguminosae, Caesalpinoideae). High-quality powder products in terms of physical and chemical properties were obtained. HPLC fingerprints revealed that the chromatographic profiles of flavonoid compounds present in the dried extract did not change significantly, due to drying. In general, the spouted bed drying caused a degradation of total flavonoids than was lower than that of the spray drying. Antioxidant properties of the dried extract, examined by their radical scavenging activity using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH^{*}) and inhibition of lipid peroxidation induced by Fe⁺² assays (LPO), confirmed their antioxidant potential. The slight reduction in scavenging activity of the dried extracts may be associated with the occurrence of oxidative reactions, decomposition or losses of thermolabile compounds, induced by the heat.

Uniterms: *Bauhinia forficata*/antioxidant activity. *Bauhinia forficata*/dried extract/properties. Flavonoids/qualitative analysis. Spouted bed/utilization. Spray drying/utilization.

Neste trabalho foram utilizados dois distintos secadores (leito de jorro e *spray dryer*) para a produção de extratos secos de *Bauhinia forficata* Link (Leguminosae, Caesalpinoideae) obtendo-se um produto seco com elevada qualidade em termos de suas propriedades físicas e químicas. Análises qualitativas obtidas por CLAE revelam que os perfis cromatográficos dos compostos flavonóides presentes nos extratos secos não apresentaram significativas mudanças durante a secagem quando comparados aos perfis obtidos para os extratos concentrados. Em geral, a secagem por leito de jorro acarreta menores perdas dos flavonóides totais do que a secagem em *spray drying*. A atividade antioxidante dos extratos secos foi examinada pelos métodos de (DPPH^{*}) e peroxidação lipídica induzida por Fe⁺² (LPO). Uma pequena redução na atividade sequestradora de radicais livres observada para os extratos secos pode ser associada com a ocorrência de reações oxidativas, decomposição e/ou perdas de compostos termolábeis induzidas pelo calor.

Unitermos: *Bauhinia forficata*/atividade antioxidante. *Bauhinia forficata*/extrato seco/propriedades. Flavonóides/análise qualitativa. Leito de jorro/utilização. *Spray drying*/utilização.

INTRODUCTION

Currently, the causes of several diseases such as liver cirrhosis, arteriosclerosis, cancer, and diabetes have been associated with the presence of free radicals. These radicals may cause oxidative damage by oxidizing bio-

molecules, and it results in cellular death and consequent tissue damage. Therefore, free radicals scavenging compounds may have a great potential to inhibit or reduce the oxidative damage on the human body (Brighente *et al.*, 2007; Moein *et al.*, 2007; Sabu, Kuttan, 2002).

On the other hand, diabetes disease is increasing rapidly and consuming vast amounts of health care resources worldwide (Sousa *et al.*, 2004). In Latin America, the prevalence of type 2 diabetes mellitus among the younger age groups (20 to 44 years) has shown an upward trend,

*Correspondence: C. R. F. Souza, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, University of São Paulo. Via do Café, s/n – Bloco Q – Bairro Monte Alegre – 14040-903 – Ribeirão Preto – SP. E-mail: souzacrfg@gmail.com

having negative impact on quality of life and burdening the health care system (Sartorelli, Franco, 2003).

In the Brazilian folk medicine, *Bauhinia forficata* Link (Leguminosae, Caesalpinoideae), commonly known as *pata-de-vaca* (paw-of-cow), has been widely used as an antidiabetic herbal remedy (Pepato *et al.*, 2002; Pepato *et al.*, 2004; Silva, Cechinel, 2002). This plant species is characterized by the accumulation of flavonoids (glycosides and aglycones) in their leaves (Jorge *et al.*, 2004). Phytochemical and pharmacological studies carried out with *Bauhinia* species have demonstrated the presence of several classes of organic compounds of medicinal interest, including the flavonoids (Silva, Cechinel, 2002). Antioxidant properties (Sousa *et al.*, 2004; Damasceno *et al.*, 2004), anticoagulant and antifibrinolytic activities against *Bothrops jararacussu* Lacerda, 1884 (*Ophidia*, *Viperidae*) venom and its isolated thrombin-like serine protease enzyme, induced by aqueous extract from this plant, have been also reported (Oliveira *et al.*, 2005). Several chemical constituents, including lactones, terpenoids, glycosyl steroids, alkaloids, flavonoids, mucilage, essential oils, tannins and quinines have been isolated and identified from this species. Several authors have investigated the effects of natural flavonoids in physiological and pathological conditions of glucose metabolism as well as in lipid peroxidation (Silva *et al.*, 2000; Sousa *et al.*, 2004; Damasceno *et al.*, 2004; Menezes *et al.*, 2007; Volpato *et al.*, 2008). Souza *et al.* (2004) verified that the kaempferitrin, a flavonoid fraction from *Bauhinia forficata* leaves, possesses strong antioxidant potential. Pinheiro *et al.* (2006) have made attempts in order to correlate the attributed antidiabetic properties of the *Bauhinia forficata* extract to the kaempferitrin.

The quality of medicinal plants can be affected by many factors, including species variation, climate, harvesting, storage, and processing. Consequently, the standardization and quality control of herbs are important issues to assure the efficacy and safety of herbal medicines (Pietta, Mauri, 2001). Commonly, standardized herbal preparations are commercialized as liquid, viscous preparations and powders resulting from dried and comminuted plants, or from an extract drying. Important advantages attributed to the dried extracts over conventional forms are the facility of standardization, lower storage costs and higher concentration and stability of active substances. However, the drying method and the operating conditions used for the production of the dried extract may impact the product physicochemical properties, and can originate varying degrees of active compounds loss (Runha *et al.*, 2001; Souza, Oliveira, 2006; Oliveira, Bott, Souza, 2006).

The aim of this work was the evaluation of the effects of the spouted bed and spray drying on antioxidant

activity and physical-chemical properties of dried extracts of *Bauhinia forficata* Link.

MATERIALS AND METHODS

Plant material, chemicals and extract preparation

Dried leaves of *Bauhinia forficata* were acquired from Santa Rosa's Farm, located in Jundiá city, São Paulo State, Brazil. The leaves were pulverized in a knife mill until a mean diameter of 300 μm . This material was characterized by determination of loss on drying, extractable matter and total flavonoid content, used as a chemical marker for quantification of the bioactive compounds degradation during drying. The procedures used in this characterization are presented in Souza and Oliveira (2006).

Ethyl acetate, methanol, acetone, aluminum chloride, ethanol, hydrochloric acid (LabSynth), hexamethylenetetramine (Vetec), colloidal silicon dioxide (Tixosil 333[®], Rhodia - Brazil), dehydrated quercetin (Sigma-Aldrich) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•], Sigma-Aldrich) were used as reagents and reference substances.

Dried and powdered leaves were placed in contact with an ethanol:water solution (70:30 in weight) at temperature of 50 °C in a jacketed stirred vessel. The extraction time lasted 60 min at stirring rate of 200 rpm. The extract was filtered and concentrated three times in a rotary evaporator (vacuum pressure of 600 mmHg and 50 °C), and its density, solid concentration, alcohol, and total flavonoid content was determined.

Determination of total flavonoid contents

Total flavonoid contents present in the herbal material, concentrated and dried extracts was used as bioactive marker for the evaluation of thermal degradation during the processing stages. The total flavonoid contents was determined by UV spectrophotometry. The method includes the hydrolysis of glycosides, followed by the extraction of flavonoids with ethyl acetate and color development with a solution of aluminum chloride (Kulevanova, Stefova, Stafilov, 2000; Souza, 2003). Absorbance was measured at 425 nm after 30 min, using a spectrophotometer HP 8453 running the software HP Chem-Station[®]. The percentage of total flavonoid (F_T) was expressed as quercetin (average of three determinations), by means of a calibration curve.

HPLC-DAD fingerprints

Samples of 100 mg (dry-basis) of the extracts were dissolved in 4 mL of methanol:water (1:1, v/v), sonicated

for 15 min in an ultrasonic bath (Odontobras, model 802) and put to rest for 24 h. After this period, the samples were filtered through 0.45 μm polytetrafluoroethylene syringe tip filters into the glass HPLC vials. The analyses were carried out in a Shimadzu liquid chromatograph equipped with a Supelco RP-18 column (225 x 4.6 mm i.d.; 5 μm) operating at 25 °C. The mobile phase consisted of a linear gradient combining solvent A (acetonitrile) and solvent B (water/acetic acid, 99:1, v/v, pH 2.88) as follows: 15% A (15 min), 15–20% A (7 min), 20% A (5 min), 20–40% A (5 min), 40% A (5 min), 40–15% A (3 min). The analyses were carried out in triplicate, at a flow rate of 0.8 mL/min, with the photodiode array UV detector set at $\lambda = 330$ nm and an injection volume of 20 μL . The flavanone naringenin (25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) was used as internal standard.

Extracts drying

Two distinct drying systems (spouted bed and spray dryer) were used for production of the dried extracts. The spouted bed dryer consists of a conical base with internal angle of 40° and inlet orifice diameter of 33 mm. A cylindrical column with diameter of 150 mm and height of 400 mm is connected to the conical base of the dryer. The upper part of the equipment is constituted by another cone and by a cyclone. All parts are made in stainless steel. Teflon® beads of concave-cylindrical shape with mean diameter of 5.45 mm, shape factor of 0.96, specific surface of 5.27 cm^2/g and density of 2.16 g/cm^3 were used as inert material. Teflon was selected due to its inert nature, high thermal stability, low coefficient of friction, insolubility and lack of toxicological effects (Tzeng *et al.*, 1997). The main components of the system are a 7.5 HP blower, a flow meter, an electric heater (power of 5000 W), and a temperature controller. The extract feed system consists of a double fluid atomizer with internal mixing (0.8 mm hole), a peristaltic pump and an air compressor. The dried product was collected in a stainless steel Lapple type cyclone with diameter of 0.095 m, having a cut diameter of 4.1 μm (for the experimental conditions used). Thermocouples, pressure transducers and a thermo-hygrometer were employed in the equipment instrumentation.

Spray drying was carried out in a bench-top spray dryer, model SD-05 (Lab-Plant, U.K.), with concurrent flow regime. The drying chamber has diameter of 215 mm and height of 500 mm. The main components of the system were the extract feed unit, constituted of a peristaltic pump, a two fluid atomizer (inlet orifice diameter of 0.5 mm) and an air compressor; a feed mechanism of the drying gas (constituted of a blower and an air filter), and a temperature control unit of the drying gas. The dried product was collected in a Lapple cyclone with diameter of 0.085 m (cut diameter of 3.9 μm).

The drying runs were performed at optimized operating conditions obtained from previous studies (Souza, 2003). The drying operation started with injection of the drying air to the dryers. The air was heated and, when reached the desired temperature, the feed of the concentrated extracts with a preset flow rate together with the atomizing air was started. Measurements of the outlet gas temperature, T_{go} , were taken at regular intervals in order to detect the moment when the dryers attained the steady state (± 15 min). Once the steady state was reached, samples of the dried extract were withdrawn. The samples were used for the assessment of the antioxidant activity and characterization of the physical and chemical properties. The size distribution was determined by an optical microscope Olympus BX60MI connected to an image analysis system (Image Pro-plus 4.5). Colloidal silicon dioxide (Tixosil® 333 – Rhodia, Brazil) was added to the concentrated extracts before drying, to improve the dryer performance (80 % calculated on the solid contents). Table I shows the operational parameters used in the drying runs.

Assessment of the antioxidant activity of concentrated and dried extracts

DPPH• is a stable free radical that reacts with compounds, which are able to donate a hydrogen atom (Blois, 1958; Brand-Willians *et al.*, 1995). The hydrogen donating ability of the concentrated and dried extracts of *B. forficata* to DPPH• was determined according to Blois (1958). The concentrated extract (10 μL) at different dilutions (1:10, 1:20, 1:50, 1:100, and 1:200) and of the dried extract of *B.*

TABLE I - Spouted bed and spray drying parameters used in manufacture of the dried extract

Dryer	T_{gi} (°C)	W_s/W_{max} (%)	W_s (g/min)	W_g (kg/s)
SB	150	45	33.0	0.0340
SD	150	15	4.0	0.0227

SB: spouted bed dryer; SD: spray dryer; T_{gi} : inlet gas temperature; W_s/W_{max} : feed extract mass flow rate relative to evaporation capacity of the dryer; W_s : feed extract flow rate; W_g : feed gas flow rate

forficata (6.25-0.375 µg/mL) in ethanol were added in a reaction mixture containing 1 mL of 0.1 M acetate buffer pH 5.5, 1 mL of ethanol, and 0.5 mL of 250 µM DPPH• µM in ethanol solution. The resulting samples concentrations in the reaction medium were 0.02-0.4 µL/mL and 1.5-25 µg/mL, respectively. The change in absorbance was measured at 517 nm after 15 min (at room temperature). All measurements were made in quintuplicate (Fejes *et al.*, 2002; Nuutila, Kammiovirta, Oksman-Caldentey, 2006; Georgetti *et al.*, 2006; Casagrande *et al.*, 2007).

Lipid peroxidation induced by Fe⁺²/citrate (LPO) was assayed by malondialdehyde (MDA) generation (Rodrigues *et al.*, 2002; Cain, Skilleter, 1987) in the presence of different concentrations of *B. forficata* extracts. Mitochondria were prepared by standard differential centrifugation techniques as described by Rodrigues *et al.* (2002) and by Cain and Skilleter (1987). 10 µL of the concentrated extract (1:10-1:200) and dried extract (0.15-2.5 mg/mL) at different concentrations (12.5-300 µg/mL in DMSO) were added to 1.0 mL of a reaction mixture (125 mmol/L sucrose, 65 mmol/L KCl and 10 mmol/L Tris-HCl, pH 7.4 – medium I). Mitochondria were added to yield a final concentration of 1 mg of protein plus 50 µM (NH₄)₂Fe(SO₄)₄ and 2 mM sodium citrate for 30 min at 37 °C. The final concentrations of the concentrated and dried extracts in the reaction medium were 0.02-0.4 µL/mL and 0.6-10 µg/mL, respectively. To determine MDA, 1 mL of 1% thiobarbituric acid (TBA), prepared in 50 mM NaOH, and 0.1 mL of 10 M NaOH and 0.5 mL of 20% H₃PO₄ were added, followed by incubation for 20 min at 85 °C. The MDA-TBA complex was extracted with 2 mL of isobutanol. The samples were then centrifuged at 1660 g for 10 min. The measurement was performed on the supernatant at 535 nm (Casagrande *et al.*, 2007; Rodrigues *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 1998). Two controls were used, a positive control (samples absence) and a negative control (iron absence). The blank was prepared from the medium I without mitochondria. Thus, the positive control indicates the maximum MDA formation, which was considered 100% of peroxidation to calculate the inhibition of lipid peroxidation by the antioxidants retained in the dried extracts. All measurements were performed in quintuplicate. Quercetin was used as a reference sample for both assays.

Statistical analysis

The concentration of dried extract that caused 50% of the hydrogen-donating ability and/or lipid peroxidation was considered as the IC₅₀ in each assay. These values were determined through the GraphPad Prism® software. Experimental IC₅₀ results were statistically analyzed by one-way ANOVA, followed by Bonferroni's multiple comparisons *t*-test to evaluate the effect of the drying process on antioxidant activity. Results were expressed as mean ± standard deviation and considered significant when *P* < 0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

Characterization of the herbal material and extractive solution

The herbal material presented moisture content (loss on drying) of 9.5 ± 0.2 (% w/w), extractable matter (ethanol:water mixture) of 26.7 ± 0.05 (% w/w) and total flavonoid content of 1.36 ± 0.2 (% w/w). The extractive solution was prepared by placing the pulverized herbal material in contact with ethanol:water solution (70:30 in weight) at temperature of 50 °C in a jacketed stirred vessel with controlled temperature. The extractive solution was concentrated three times in order to increase the solids content to approximately 8.0%. The properties of the extractive solution and of the concentrated extract are presented at Table II. The results of total flavonoid contents (F_T) in the concentrated extract (EC) showed a thermal degradation rate of the order of 5.89%, as compared to the results of the extractive solution. Ethanol is more volatile and has a lower boiling point than water, presenting a greater tendency to be removed from the extractive solution during concentration, than water does. This fact leads to a concentrated extract with reduced alcohol concentration.

Drying performance and product properties

Spouted bed and spray drying performances were evaluated through determination of the elutriation ratio, E; product recovery ratio, R; and, product accumulation

TABLE II - Properties of the extractive solution and of the concentrated extract

Extracts	F _T (% mg/g _{extract})	ρ (g/cm ³)	Solid contents (% w/w)	Alcohol content (°GL)
ES	13.92 ± 0.05	0.96 ± 0.009	2.66 ± 0.02	70.0
EC	13.10 ± 0.03	0.95 ± 0.010	8.05 ± 0.06	0.0

F_T: Chemical markers (flavonoids); ES: extractive solution; EC: concentrated extract; ρ: density

TABLE III - Spray and spouted bed dryers performance and properties of the dried extracts

Dryer	Dryer performance					Dried extract properties			
	R** (%)	E (%)	Ac* (%)	W _s (g/min)	T _{go} (°C)	F _T ** (% mg/g _{extract})	D (%)	X _p (%)	d _p (µm)
SB	78.44	19.36	2.20	33.18	116.2	13.08 ± 0.01	0.2	3.99 ± 0.22	21.8
SD	48.90	51.10	–	2.90	108.0	7.87 ± 0.05	39.9	3.78 ± 1,21	14.4

*Ac: accumulation rate (only for SB); R: product recovery; E: elutriation; F_T: total flavonoid contents; D: thermal degradation of flavonoid compounds; X_p: loss on drying; d_p: mean particle diameter; T_{go}: outlet gas temperature.

**Statistically significant difference ($P < 0.05$).

(only for the spouted bed), Ac (Souza, Oliveira, 2006; 2005). The dried extracts were characterized by the loss on drying, total flavonoids concentration and HPLC-DAD fingerprint, product size distribution, antioxidant activity, and physical properties. Table III presents the spray and spouted bed dryers' performance and the properties of the dried extracts. It can be observed at Table III that the spouted bed dryer gives an end product with higher concentration of chemical markers and small loss on drying values (\approx low residual moisture content) than the spray dryer does. The spouted bed dryer also presented a better performance than the spray dryer, leading to higher product recovery. The spouted bed drying gives an end product with higher concentration of the chemical markers and lower loss on drying values than the spray drying; even both processes working at similar relation W_s/W_{max} and inlet gas temperatures. Similar results have been reported elsewhere (Oliveira, Bott, Souza, 2006).

The particle size distribution is an important property, which may be related with bioavailability and uniform and constant release of the product (Freitag, 2001). Polydisperse particles within a limited range (0 to 30 µm) were obtained by both drying systems. Spouted bed drying generates irregular particles with flakes shape, whereas the spray drying process gives a high proportion of near rounded particles.

In general, during hot air drying the product is exposed to high temperatures and high oxygen levels. In addition, the solids concentration increases during drying (removal of solvent). These factors may increase the rate of oxidative and degradation reactions, reducing the product quality (Giovanelli, Paradiso, 2002). Degradation rates of 0.2% were observed for the spouted bed dried, smaller than the observed for the spray dried product (39.9%). This behavior possibly is related with the distinct drying mechanism involved in both dryers and may be related with the different residence time of the product in the dryers. In order to verify the occurrence of alteration in the flavonoid compounds chromatographic profiles presented

in the concentrated and in the dried extract, HPLC-DAD analyses were carried out. The chromatographic profiles were used only to find out changes in the relative magnitudes of the peaks, in order to know if major changes have occurred. Figure 1 shows typical chromatograms obtained for the concentrated extracts (reference sample) and for the spouted bed and spray dried extracts. HPLC-DAD analyses performed for the *B. forficata* extracts did not indicate significant alteration in the chromatographic profiles of the dried product, comparatively with the concentrated extracts. However, although the same peaks were presented in the HPLC chromatograms, the peaks magnitude may differ, suggesting molecular changes due to the drying (oxidation, enzymatic hydrolyses, etc).

Antioxidant activity of concentrated and dried extracts

The antioxidant properties of the concentrated (used as a control) and resulting dried extracts were assessed by the DPPH• and LPO methods. The parameter IC₅₀ (concentration needed to inhibit the oxidative reaction by 50%) was used to interpret the experimental data. Quercetin, a natural antioxidant, was used here as a standard reference material. This flavonoid presented a concentration-dependent hydrogen-donating ability and showed an IC₅₀ of 1.17 µg/mL. The maximum percentage of hydrogen-donating ability (89.0%) was obtained using 4 µg/mL; at a higher concentration (10 µg/mL) a plateau effect was observed (Casagrande *et al.*, 2007). Table IV shows, respectively, the results of the DPPH• inhibition produced by the concentrated extract (EC), for the spouted bed (SB) and for the spray dried extract (SD). The results indicate that the free radical scavenging activity of the analyzed samples were concentration dependent. The maximum DPPH• reduction promoted by the concentrated extract was approximately 76% at a concentration of 39.2 µg/mL, giving an IC₅₀ = 16.2 µg/mL. A maximum DPPH• inhibition of 69.2 and 70.4%, respectively, were obtained for the

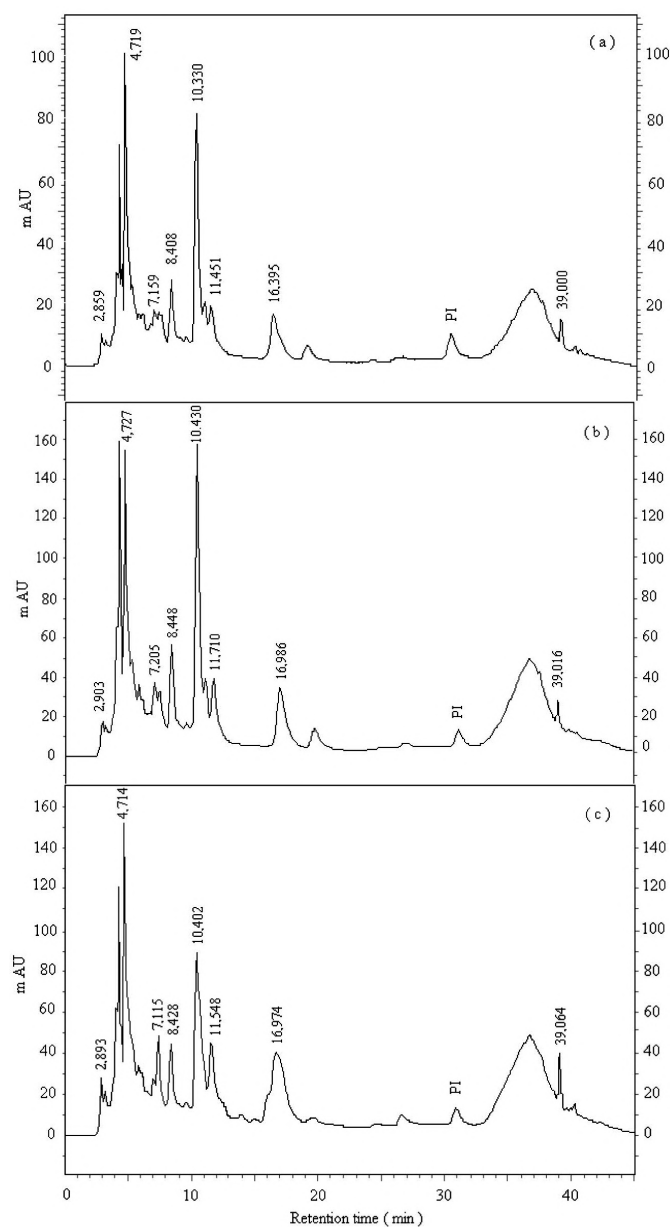


FIGURE 1 - HPLC fingerprint analysis of the *Bauhinia forficata* extracts (a: concentrated extract, b: spouted bed dried extract, and c: spray dried extract).

spouted bed and for the spray dried extracts. These results were reached at concentrations of 55.5 $\mu\text{g/mL}$ of the extract material, giving IC_{50} values of 12.2 and 12.9 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The slight decreases in the maximum scavenging activity of the dried extracts may be associated with the occurrence of oxidative reactions, decomposition of thermolabile compounds or even losses of volatile substances induced by the heat. A review of the influence of the processing on the antioxidant properties of foods was presented by Nicoli, Anese and Parpinel (1999). According to these authors, the changes occurred during the processing are

expected to affect the content, activity and bioavailability of the bioactive compounds. In addition, compounds capable of providing a synergistic effect for antioxidant activity could be damaged or removed due the drying, contributing for the reduction of the antioxidant effectiveness of the dried product (Cousins *et al.*, 2007; Djerdane *et al.*, 2006; Ungar, Osundahunsi, Shimoni, 2003).

The effects of the *B. forficata* extracts on inhibition of lipid peroxidation induced by Fe^{+2} /citrate were investigated by the production of MDA-TBA complex (absorbance reading at 535 nm). Quercetin inhibited the lipid peroxidation following a concentration-dependent manner, as shown in Casagrande *et al.*, (2006). Significant inhibitory activity of the lipid peroxidation as compared to the positive control (100% complex MDA-TBA) was demonstrated by quercetin, which presented an $\text{IC}_{50} = 0.34 \mu\text{g/mL}$. The maximum percentage of formed MDA inhibition was obtained using 1 $\mu\text{g/mL}$ for quercetin. At a higher concentration (2.5 $\mu\text{g/mL}$), a plateau effect was observed. Table V show the experimental results of the lipid peroxidation inhibition obtained for the concentrated, spouted bed and spray dried extracts. It can be seen that the anti-lipid peroxidation activity of the extracts of *B. forficata* is concentration dependent. The maximum inhibition falls from 80.3 to 64.0%. The IC_{50} values obtained for the concentrated, spouted bed and spray dried extracts were, respectively, 22.5, 25.9, and 19.4 $\mu\text{g/mL}$ in the reaction medium. Thus, the *B. forficata* extracts were able to inhibit the lipid peroxidation induced by the Fe^{+2} /citrate, evidencing their strong antioxidant properties.

Sousa *et al.*, (2004), investigated the *in vitro* antioxidant potential of kaempferitrin (a isolate compound found in the *Bauhinia forficata* leaves) by the scavenging of free radicals (DPPH), inhibition of the prooxidant enzyme myeloperoxidase (MPO), and prevention of the lipid peroxidation. The results showed high reactivity with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, IC_{50} of $84.0 \pm 7.8 \mu\text{M}$, inhibition of the myeloperoxidase activity ($K_{0.5} = 86.0 \pm 9.9 \mu\text{M}$), and a decrease in the lipid peroxidation induced by ascorbyl radical either in microsomes or in asolectin and phosphatidylcholine liposomes with IC_{50} of $320.0 \pm 14.1 \mu\text{M}$, $22.3 \pm 8.3 \mu\text{M}$ and $112.0 \pm 8.8 \mu\text{M}$, respectively. The authors used quercetin as a positive control, obtaining (as expected), a strong antioxidant activity against lipid peroxidation with an IC_{50} in liver microsomes of $125.0 \pm 5.0 \mu\text{M}$ and, essentially, the same value of $80 \pm 6.0 \mu\text{M}$ in asolectin and phosphatidylcholine liposomes. These results indicate that kaempferitrin is 2-3 times less potent than quercetin.

Hot air drying (spray and spouted bed dryers) implies thermal treatment, and losses of polyphenols compounds

TABLE IV - Antiradical activity of *Bauhinia forficata* extracts observed with DPPH

	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH Inhibition* (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
EC extract	1.96	9.48 \pm 0.74	16.2
	3.92	14.53 \pm 0.45	
	7.84	16.76 \pm 0.65	
	19.2	44.08 \pm 0.81	
	39.2	76.13 \pm 0.22	
SB dried extract	3.47	21.18 \pm 0.38	12.2
	6.94	36.26 \pm 0.74	
	13.9	56.90 \pm 0.74	
	27.8	68.80 \pm 0.46	
	55.5	69.17 \pm 0.76	
SD dried extract	3.47	17.34 \pm 0.76	12.9
	6.94	30.77 \pm 0.48	
	13.9	53.05 \pm 0.38	
	27.8	70.13 \pm 0.46	
	55.5	70.44 \pm 0.26	

* n = 5; mean \pm sd**TABLE V** - Antiradical activity of *Bauhinia forficata* extracts observed with lipidic peroxidation assays (LPO)

	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Inhibition LPO* (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
EC extract	1.96	9.48 \pm 0.74	22.5
	3.92	14.53 \pm 0.45	
	7.84	16.76 \pm 0.65	
	19.2	44.08 \pm 0.81	
	39.2	76.13 \pm 0.22	
SB dried extract	3.47	6.13 \pm 0.75	25.9
	6.94	19.28 \pm 0.64	
	13.9	34.65 \pm 0.55	
	27.8	48.77 \pm 0.45	
	55.5	80.30 \pm 0.45	
SD dried extract	3.47	7.32 \pm 0.81	30.3
	6.94	21.86 \pm 2.16	
	13.9	31.77 \pm 0.37	
	27.8	44.44 \pm 0.63	
	55.5	64.00 \pm 1.32	

* n = 5; mean \pm sd

may be expected. The degradation of the polyphenols depends on the herbal matrix and processing conditions (Sensoy *et al.*, 2006). Figure 2.a presents a comparison

between the concentration of the total flavonoids and the antioxidant activity of the *B. forficata* extracts. As can be seen, the total antioxidant activity evaluated by DPPH* and

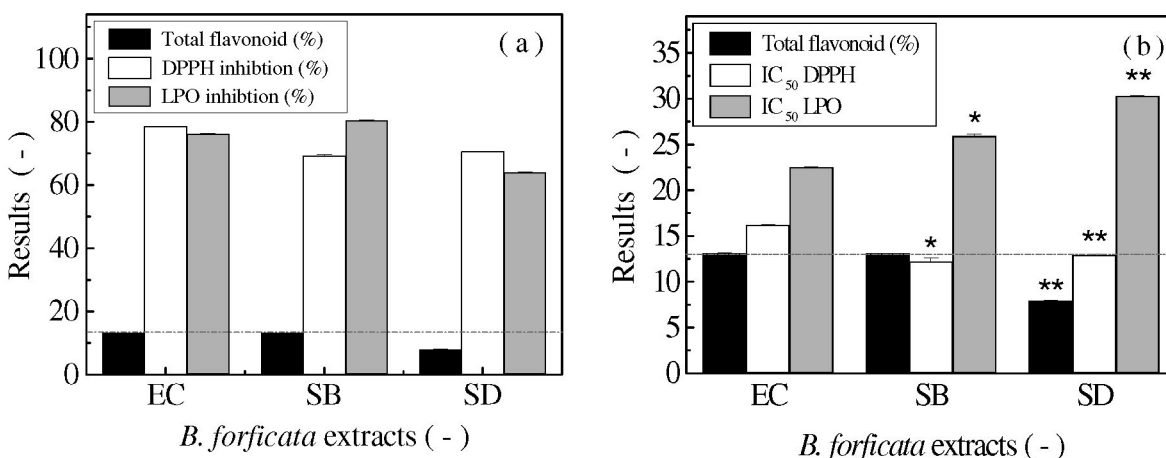


FIGURE 2 - Comparison between total flavonoid contents, maximum anti-radical activity (Fig. a), and IC_{50} (Fig. b), for the *Bauhinia forficata* extracts. Statistical analysis was performed by one-way ANOVA followed by Bonferroni's test of multiple comparisons test. *Significant statistical difference compared to EC ($P < 0.05$). **Significant statistical difference compared to EC and SB ($P < 0.05$).

inhibition of lipid peroxidation methods do not present a direct relationship with the total flavonoids concentration. Interestingly, although the spray dried extract presented lower concentration of total flavonoids than the spouted bed one, they presented similar antioxidant activity in both experimental models. The relation between the total flavonoid content and the IC_{50} values is presented in Figure 2.b.

According to Mrkic *et al.* (2006), oxidation reactions may take place during drying and polyphenols with an intermediate oxidation state can exhibit higher radical scavenging activity than non-oxidized polyphenols. High temperature drying could further cause the formation of Maillard reaction products (MRPs). These compounds have been shown to act as antioxidants in dried foodstuffs, individually or in synergism with the naturally occurring antioxidants. Maillard reactions, which occurs when sugars condense with free amino acids, peptides or proteins, leads to the formation of a wide variety of brown melanoidins. Thus, the loss of natural antioxidants in heated foods could be minimized or compensated by the formation of non-nutrient antioxidants such as MRPs, enhancing the overall antioxidant properties of the product (Nicoli *et al.*, 1997). These factors may be the responsible agents for the behavior shown in Figure 2.b.

The spouted bed and spray dried extracts present distinct color characteristics, as can be seen in Figure 3. Changes in coloration (yellow-green for spouted bed extracts and yellow-brown for spray dried extract), may indicate the development and the extent of browning that contributes to the formation of compounds with pro-oxidant properties, justifying the antioxidant properties presented by the spray dried extracts, even with the high flavonoids degradation rate (39.9%) obtained.

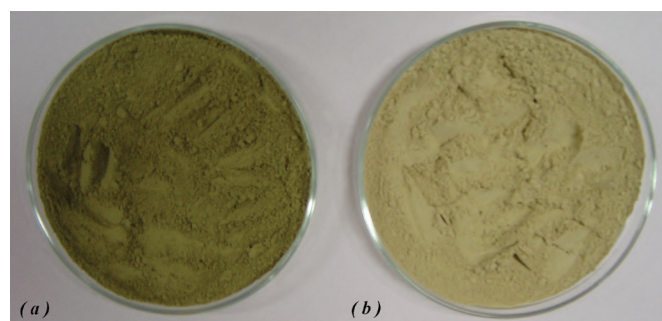


FIGURE 3 - Colour characteristics of the dried extracts (a: spouted bed dried extract, b: spray dried extract).

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank to The State of São Paulo Research Foundation (FAPESP) for the fellowship to the first author and for the whole project financial support (Proc. 03/08317-1 and 01/10140-7).

REFERENCES

- BLOIS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, v.26, p.1199-1200, 1958.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. u.-Technol.*, v.25, p. 25-30, 1995.
- BRIGHENTE, I.M.C.; DIAS, M.; VERDI, L.G.; PIZZOLATTI, M.G. Activity and total phenolic content of some Brazilian species. *Pharm. Biol.*, v.45, n.2, p.156-161, 2007.

- CAIN, K.; SKILLETER, D.N. Preparation of and use of mitochondria in toxicological research, In: Snell K, Mullock B (Eds.). *Biochemical Toxicology - A Practical Approach*, Oxford: IRL Press, 1987. p. 217-254.
- CASAGRANDE, R.; GEORGETTI, S.R.; VERRI Jr, W.; BORIN, M.F.; LOPEZ, R.F.V.; FONSECA, M.J.V. In vitro evaluation of quercetin cutaneous absorption from topical formulations and its functional stability by antioxidant activity. *Int. J. Pharm.*, v.328, p. 183-190, 2007.
- COUSINS, M.; ADELBERG, J.; CHEN, F.; RIECK, J. Antioxidant capacity of fresh and dried rhizomes from four clones of turmeric (*Curcuma longa* L.) grown in vitro. *Ind. Crops Prod.*, v.25, n.2, p.129-135, 2007.
- DAMASCENO, D.C.; VOLPATO, G.T.; CALDERON, I.M.P.; AGUILAR, R.; RUDGE, M.V.C. Effect of *Bauhinia forficata* extract in diabetic pregnant rats: maternal repercussions. *Phytomedicine*, v.11, p.196-201, 2004.
- DJERIDANE, A.; YOUSFI, M.; NADJEMI, B.; BOUTASSOUNA, D.; STOCKER, P.; VIDAL, N. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.*, v.97, p.654-660, 2006.
- FEJES, S.A.; BLÁZOVICS, A.; LUGASI, E.; LEMBERKOVICS, G.; PETRI, A.K. In vitro antioxidant activity of *Anthriscus cerefolium* L. (Hoffm.) extracts. *J. Ethnopharmacol.*, v.69, p.259-265, 2000.
- FREITAG, G. Guidelines on dissolution profiles comparison. *Drug Inf. J.*, v.35, p.865-874, 2001.
- GEORGETTI, S.R.; CASAGRANDE, R.; VICENTINI, F.T.M.D.; VERRI, W.A.; FONSECA, M.J.V. Evaluation of the antioxidant activity of soybean extract by different in vitro methods and investigation of this activity after its incorporation in topical formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v.64, n.1, p.99-106, 2006.
- GIOVANELLI, G.; PARADISO, A. Stability of dried and intermediate moisture tomato pulp during storage. *J. Agric. Food Chem.*, v.50, p.7277-7281, 2002.
- JORGE, A.P.; HORST, H.; SOUSA, E.; PIZZOLATTI, M.G.; SILVA, F.R.M.B. Insulinomometric effects of kaempferitrin on glycaemia and ¹⁴C-glucose uptake in rat soleus muscle. *Chemico-Biol. Interactions*, v.149, p.89-96, 2004.
- KULEVANOVA, S.; STEFOVA, M.; STAFILOV, T. Determination of total flavonoids and quercetin in *Hyperici herba* and its aqueous, aqueous-ethanolic and oil extracts. *Acta Pharm.*, v.50, p.29-37, 2000.
- MENEZES, F.S.; MINTO, A.B.M.; RUELA, H.S.; KUSTER, R.M.; SHERIDAN, H.; FRANKISH, N. Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz. *Braz. J. Pharmacogn.*, v.17 n.1, p. 08-13, 2007.
- MOEIN, S.; FARZAMI, B.; KHAGHANI, S.; MOEIN, M.R.; LARIJANI, B.A. Antioxidant properties and protective effect on cell cytotoxicity of *Salvia mirzayani*. *Pharm. Biol.*, v.45, n.2, p.458-463, 2007.
- MRKIC, V.; COCCI, E.; DALLA ROSA, M.; SACCHETTI, G. Effect of drying conditions on bioactive compounds and antioxidant activity of broccoli (*Brassica oleracea* L.). *J. Sci. Food Agric.*, v.86, p.1559-1566, 2006.
- NICOLI, M.C.; ANESE, M.; PARPINEL, M.T.; FRANCESCHI, S.; LERICI, C.R. Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. *Cancer Lett.*, v.114, p.71-74, 1997.
- NICOLI, M.C.; ANESE, M.; PARPINEL, M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Sci. Technol.*, v.10, p.94-100, 1999.
- NUUTILA, A.M.; KAMMIOVIRTA, K.; OKSMAN-CALDENTY, M. Comparison of methods for the hydrolysis of flavonoids and phenolic acids from onion and spinach for HPLC analysis. *Food. Chem.*, v.76, p.519-525, 2002.
- OLIVEIRA, C.Z.; MAIORANO, V.A.; MARCUSSI, S.; SANT'ANA, C.D.; JANUÁRIO, A.H.; LOURENÇO, M.V.; SAMPAIO, S.V.; FRANÇA, S.C.; PEREIRA, P.S.; SOARES, A.M. Anticoagulant and antifibrinolytic properties of the aqueous extract from *Bauhinia forficata* against snake venoms. *J. Ethnopharmacol.*, v.98, p.213-216, 2005.
- OLIVEIRA, W.P.; BOTT, R.F.; SOUZA, C.R.F. Manufacture of standardized dried extracts from medicinal Brazilian plants. *Drying Technol.*, v.24, n.4, p.523-533, 2006.

- PEPATO, M.T.; BAVIERA, A.M.; VENDRAMINI, R.C.; BRUNETTI, I.L. Evaluation of toxicity after one-months treatment with *Bauhinia forficata* decoction in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complement. Altern. Med.* (abreviar conforme ISSN), v.4, n.7, p.1-7, 2004.
- PEPATO, M.T.; KELLER, E.H.; BAVIERA, A.M.; KETTELHUT, I.C.; VENDRAMINI, R.C.; BRUNETTI, I.L. Anti-diabetic activity of *Bauhinia forficata* decoction in streptozotocin-diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, v.81, p.191-197, 2002.
- PIETTA, P.; MAURI, P. Analysis of flavonoids in medicinal plants. *Methods Enzimol.*, v.335, p.26-45, 2001.
- PINHEIRO, T.S.D.B.; JOHANASSON, L.A.P.; PIZZOLATTI, M.G.; BIAVATTI, M.W. Comparative assessment of kaempferitrin from medicinal extracts of *Bauhinia forficata* Link. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v.41, p. 431-436, 2006.
- RODRIGUES, T.; SANTOS, A.C.; PIGOSO, A.A.; MINGATTO, F.E.; UYEMURA, S.A.; CURTI, C. Thioridazine interacts with the membrane of mitochondria acquiring antioxidant activity toward apoptosis – potentially implicated mechanisms *British. J. Pharmacol.*, v.36, p.136-142, 2002.
- RUNHA, F.P.; CORDEIRO, D.S.; PEREIRA, C.A.M.; VILEGAS, J.; OLIVEIRA, W.P. Production of dry extracts of medicinal Brazilian plants by spouted bed process: development of the process and evaluation of thermal degradation during drying operation. *Food Bioprod. Process.*, v.79, n.C3, p.160-168, 2001.
- SABU, M.C.; KUTTAN, R. Anti-diabetic activity of medicinal plants and its relationship with their antioxidant property. *J. Ethnopharmacol.*, v.81, p.155-160, 2002.
- SANTOS, A.C.; UYEMURA, S.A.; LOPES, J.L.C.; BAZON, J.N.; MINGATTO, F.E.; CURTI, C. Effect of naturally occurring flavonoids on lipid peroxidation and membrane permeability transition in mitochondria. *Free Radic. Biol. Med.*, v.24, p. 1455-1461, 1998.
- SARTORELLI, D.S.; FRANCO, L.J. Trends in diabetes mellitus in Brazil: the role of the nutritional transition. *Cad. Saúde Púb.*, v.19, n.1, p.S29-S36, 2003.
- SENSOY, I.; ROSEN, R.T.; HO, C.T.; KARWE, M.V. Effect of processing on buckwheat phenolics and antioxidant activity. *Food Chem.*, v.99, p.388-393, 2006.
- SILVA, K.L.; BIAVATTI, M.W.; LEITE, S.N.; YUNES, R.A.; MONACHE, F.; CECHINEL-FILHO, V. Phytochemical and pharmacognostic investigation of *Bauhinia forficata* Link. *Z. Naturforsch. C.*, v.55, p.478-480, 2000.
- SILVA, K.L.; CECHINEL-FILHO, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. *Quim. Nova*, v.25, n.3, p.449-454, 2002.
- SOUSA, E.; ZANATTA, L.; SEIFRIZ, I.; CRECZYNSKI-PASA, T.B.; PIZZOLATTI, M.G.; SZPOGANICZ, B.; SILVA, F.R.M.B. Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol-3,7-O-(α)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. *J. Natural Product*, v.67, p.829-832, 2004.
- SOUZA, C.R.F. Comparative study of the production of dried extract of *Bauhinia forficata* Link by spray and spouted bed drying. Master Thesis, PPG-FCFRP/USP, Ribeirão Preto, SP, Brazil, p.180, 2003.
- SOUZA, C.R.F.; OLIVEIRA, W.P. Powder properties and system behavior during spray drying of *Bauhinia forficata* Link extract. *Drying Technol.*, v.24, n.6, p.735-749, 2006.
- SOUZA, C.R.F.; OLIVEIRA, W.P. Spouted bed drying of *Bauhinia forficata* Link extract: effect of the position of the feed atomizer and operating conditions on equipment performance and product properties. *Braz. J. Chem. Eng.*, v.22, n.2, p.239-247, 2005.
- TZENG, G.S.; CHEN, H.J.; WANG, Y.Y.; WAN, C.C. The effects of roughening on teflon surfaces. *Surface Coatings Technol.*, v.89, p.108-113, 1997.
- UNGAR, Y.; OSUNDAHUNSI, O.F.; SHIMONI, E. Thermal stability of genistein and daidzein its effect on their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, v.51, p.4394-4399, 2003.
- VOLPATO, G.T.; DAMASCENO, D.C.; RUDGE, M.V.C.; PADOVANI, C.R.; CALDERON, I.M.P. Effect of *Bauhinia forficata* aqueous extract on the maternal-fetal outcome and oxidative stress biomarkers of streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Ethnopharm.*, v.116, p. 131-137, 2008.

Received for publication on 18th february 2008
Accepted for publication on 16th november 2008

Red Wine Polyphenols Affect the Collagen Composition in the Aorta after Oxidative Damage Induced by Chronic Administration of CCl₄

L. HLAVAČKOVÁ¹, P. JANEĀA^{1,2}, A. ČERNÁ¹, O. PECHÁŇOVÁ²,
R. ANDRIANTSITOHAINA³, P. BABÁL¹

¹Department of Pathology, Faculty of Medicine Comenius University, ²Institute of Normal and Pathological Physiology, Centre of Excellence for Cardiovascular Research, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia, ³Pharmacologie et Physico-Chimie des Interactions Cellulaires et Moléculaires, Université Louis Pasteur de Strasbourg, Unité Mixte de Recherche Centre National de la Recherche Scientifique 7034, Faculté de Pharmacie, Illkirch, France

Received October 23, 2007

Accepted February 20, 2008

On-line July 18, 2008

Summary

Increased amount of collagen type I and decreased amount of type III is described in various pathological processes in the vascular wall. Polyphenols were shown to have protective effect on endothelium, decrease blood pressure and prevent oxidative damage induced by various stimuli. Tetrachlormethane (CCl₄) is a toxic substance with known negative systemic effects induced by free radicals. Chronic administration of CCl₄ for 12 weeks led to an increase of collagen type I and a decrease of type III in the wall of aorta. Parallel administration of red wine polyphenols significantly reduced the increase of collagen type I, at the same time the content of type III rose to the level above controls. After 4 weeks of spontaneous recovery no changes were observed. If polyphenols were administered during the recovery period, there was a decrease of type I and an increase of type III collagen content in the aorta. It can be concluded that polyphenols have a tendency to lower the amount of type I and to increase the proportion of type III collagen in the wall of the aorta. These changes are significant in prevention or in regression of changes induced by chronic oxidative stress. This effect of polyphenols is most likely the result of their influence on MMP-1 and TIMP activities through which they positively influence the collagen types I and III content ratio in the vascular wall in favor of the type III collagen.

Key words

Red wine • Polyphenols • Collagen • Aorta • CCl₄

Corresponding author

P. Babál, Department of Pathology, Faculty of Medicine Comenius University, Sasinkova 4, 81372 Bratislava, Slovak Republic. E-mail: pavel.babal@fmed.uniba.sk, Fax: +421259357592

Introduction

Polyphenolic compounds represent a wide spectrum of substances in foods including lignins (walnuts, cereals), proanthocyanins (vine, pine bark), antocyanins (fruits, vegetables), isoflavons (soya beans), catechins (tea, vine), tannins (tea, nuts), quercetin (grapes, vine, onion) and naringenin (citrus fruits) (Mandelová 2005). Epidemiologic studies indicate that high intake of polyphenols in vegetables and fruits is connected with decreased cardiovascular diseases. Mechanisms that would explain the mentioned observations remain unclear. It is supposed that flavonoids improve functions of endothelial cells and inhibit platelets aggregation (Vita 2005, Číž *et al.* 2008). One of the important facts is the decreased oxidation of LDL in the presence of flavonoids (Miyagi *et al.* 1997, Hayek *et al.* 1997, O'Byrne *et al.* 2002).

Short-lasting administration of polyphenols from red wine leads to a decrease of blood pressure in normotensive rats. This hemodynamic effect is connected with the increase of endothelium-related relaxation and induction of genes expression of inducible NO-synthase

and COX-2 in the vascular wall (Diebolt *et al.* 2001). Bernátová *et al.* (2002) reported by polyphenols evoked significant decrease of blood pressure in experimental hypertension induced by chronic inhibition of NO synthesis. They also reported decreased hypertrophy of vascular walls, improved endothelium-related relaxation responses and reduction of vasoconstrictor reactivity. Preventive effects of red wine polyphenols on increased blood pressure, myocardial fibrosis, vascular wall remodeling and altered vascular functions were also demonstrated in this model of experimental hypertension (Pecháňová *et al.* 2004). The protection of functional and structural changes was ascribed to the increased NO production. However, the significance of modulation of oxidative stress by polyphenols was also pointed out.

The application of polyphenols in prevention and therapy of neoplastic processes was also investigated (Mojžiš *et al.* 2008). Nakazato *et al.* (2005) described rapid apoptosis of myeloid leukemia cells activated by catechin through modulation of reactive oxygen species production.

Collagens are a heterogeneous group of structurally related proteins of the extracellular matrix. There are roughly 27 types of collagens divided according to the structure and size of their α chain and tissue distribution (Boot-Handford *et al.* 2003). The aortic wall contains filaments of collagen, smooth muscle cells and fibers of elastin as basic structural components. It is known that the collagen fibers bear the circular tension and elastin exerts both longitudinal and transversal support. Stiffness of the vascular wall is connected with the loss of elastic tissue and the increase of collagen content (Silver *et al.* 2001). Main collagens present in the aortic wall are of type I and III (Satta *et al.* 1995).

Increased number of cells producing type I collagen has been described in every type of atherosclerotic lesions in man (Andreeva *et al.* 1997). It had been shown that collagen type I supports calcification of vessels *in vitro* (Watson *et al.* 1998). It also plays a role in neoangiogenesis in the plaque (Jackson and Jenkins 1991) and in organization of thrombi (Rekhter *et al.* 1996). Moreover, there are proofs about the relationship between collagen type I accumulation and the severity of coronary artery restenosis after angioplasty (Pickering *et al.* 1996). However, insufficient formation of type III collagen is linked to the occurrence of aneurysms in the abdominal aorta and cerebral arteries without (Majamaa *et al.* 1992, Anderson *et al.* 1996) or with connection to atherosclerosis (Kuga *et al.* 1998).

Tetrachlormethane (CCl₄) is a toxic substance

from which a trichlormethyl radical is formed by P-450. Further process of detoxication includes trichlormethylperoxyl radical formation that produces lipoperoxidation and oxidative stress (International Programme on Chemical Safety, 1999). CCl₄ is frequently used for induction of experimental liver cirrhosis (Zwart *et al.* 1998). Recently, it has been applied as a model of oxidative damage to vascular endothelium (Babál *et al.* 2006).

The aim of the present work is to evaluate how the polyphenols influence the content of collagen type I and III in the wall of aorta in experimental animals exposed to chronic oxidative stress produced by administration of CCl₄.

Materials and Methods

Animals

All procedures and experimental protocols were approved by the Ethical Committee of the Institute of Normal and Pathological Physiology SAS, and conform to the European Convention on Animal Protection and Guidelines on Research Animal Use.

Male Wistar rats (3 months old) were divided into six groups (8 animals in each). The preventive experiment lasting for 12 weeks consisted of four groups: the control group, the group receiving CCl₄ 0.5 ml/kg of body weight twice a week subcutaneously in a 1:1 solution with olive oil, the group receiving dried red wine extract Provinols™ (40 mg/kg/day) in drinking water and the group receiving Provinols™ + CCl₄. In the recovery experiment, the initial 12 weeks of CCl₄ treatment were followed by 4 weeks of spontaneous recovery in the first group, and recovery with Provinols™ administration in the second group of animals. To make sure that each animal received the complete dose of Provinols™, calculated amount of Provinols™ was given to each rat in the appropriate volume of water. Daily water consumption was estimated individually for every animal one week before the experiment. During the experiment, water consumption was controlled and Provinols™ concentration in the drinking fluid was adjusted, if necessary. All animals were housed at a temperature of 22-24 °C and fed with a regular pellet diet *ad libitum*.

The red wine extract dry powder Provinols™ was kindly provided by Mr. D. Ageron (Société Française de Distillerie, Vallont Pont d'Arc, France). Polyphenols content in Provinols™ has already been reported (Diebolt *et al.* 2001) and it was (in mg/g of dry powder):

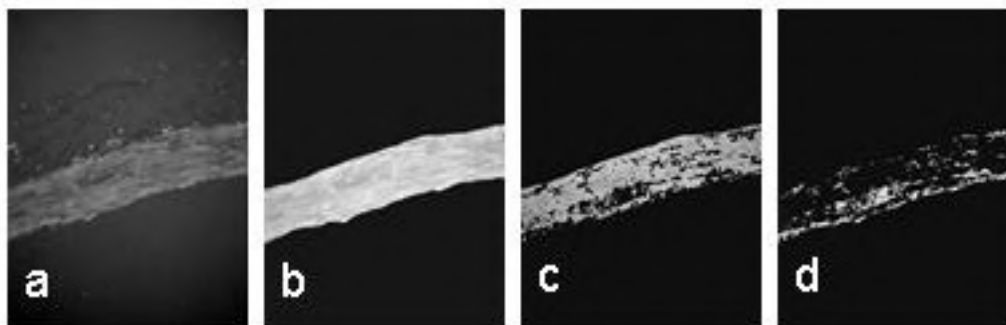


Fig. 1. Aorta stained with picosirius red showing digitalization of the findings. **(a)** Aorta from CCl_4 -treated animal, with the perivascular fat tissue (asterisk). **(b)** The wall of aorta deprived of perivascular fat and intima. Both types of collagen (type I is originally red and type III is green) are captured. **(c)** Digitally subtracted red color detecting collagen type I **(d)** Digitally selected green color detecting collagen type III Picosirius red, fluorescence light, original magnification 200x.

proanthocyanidins 480, total anthocyanins 61, free anthocyanins 19, catechin 38, hydroxycinnamic acid 18, flavonols 14.

Histology

The thoracic aorta, carotid, pulmonary and renal arteries were fixed 24 h in 10 % formalin, routinely processed in paraffin and 5 μm thick slices were cut perpendicularly to the vessel axis and stained with hematoxylin and eosin. The slides were evaluated in a Leica light microscope (Leica Systeme, Wetzlar, Germany).

Collagen type I and III evaluation

Deparaffinized and rehydrated 5 μm thick slices were stained with picosirius red as follows: the slides were submerged in 0.2 % phosphomolybden acid for clearing the cytoplasm, then the slides were stained with 0.1 % sirius red F3BA in a saturated water solution of picric acid for 90 min. The slides were washed 2 min in 0.01 N HCl, dehydrated and mounted.

The findings were documented with a digital photographic camera GC-X3E (JVC, Japan) and evaluated with ImageJ software (National Institute of Health, Bethesda, USA). Threshold values were determined for the particular colors of spectrum: from 0 to 35 for the red color corresponding to the type I collagen, from 45 to 110 for the green color corresponding to the collagen type III (Fig. 1). The numbers of pixels of each color were counted and the percentage of the whole cross-sectional area was calculated.

Statistics

The results were expressed as mean \pm S.E.M.,

statistically analyzed by one-way ANOVA with Keuls-Neumann test.

Results

The group C (animals administered CCl_4) had increased content of collagen type I in the wall of aorta (56.3 ± 2.2 %). Parallel administration of CCl_4 with polyphenols in the group CP lead to decreased amount of type I collagen in the aorta (27.2 ± 3.4 %) when compared to control. The group P (rats administered polyphenols only) had higher amount of collagen type I (38.3 ± 3.8 %) then CP group and lower than control group K (43.6 ± 3.7 %), but the differences were not significant (Fig. 2).

The group C had decreased content of collagen type III (20.7 ± 1.6 %). Parallel administration of polyphenols with CCl_4 (group CP) resulted in its higher content in aortic wall (52.7 ± 3.9 %). The group P contained more collagen type III (39.4 ± 3.9 %) than control group K (29.1 ± 2.6 %) (Fig. 3).

After spontaneous recovery following the intoxication with CCl_4 , the content of collagen type I in the wall of aorta was the highest (56.5 ± 2.3 %). If polyphenols were administered during the recovery phase, the amount of collagen type I (8.2 ± 1.0 %) was the lowest (Fig. 4). Collagen type III content was the lowest (18.6 ± 1.8 %) in the CR group. Conversely, administration of polyphenols during the recovery period resulted in its highest content (71.2 ± 3.2 %) (Fig. 5).

Discussion

Our study shows that administration of CCl_4 increases the amount of collagen type I and, on the

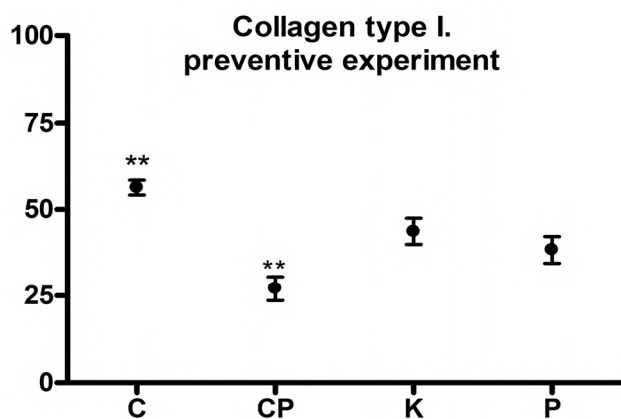


Fig. 2. Collagen type I content in the aorta after chronic intoxication with CCl_4 (C) and the preventive effect of parallel administration of polyphenols (CP). Control group (K), polyphenols alone (P). ** $p < 0.01$ compared to controls K.

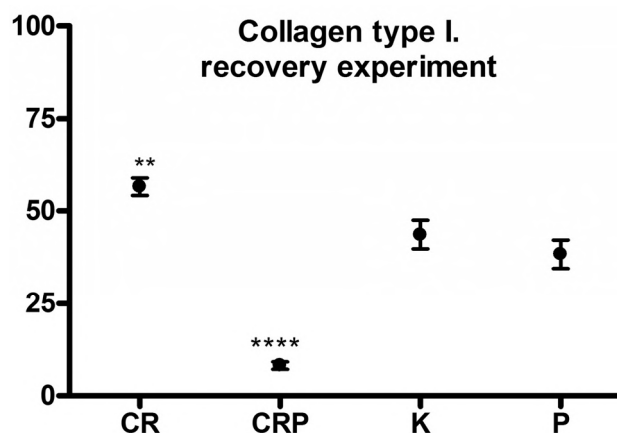


Fig. 4. Collagen type I content in the aorta after chronic intoxication with CCl_4 followed by 4-week reparation phase without (CR) and with administration of polyphenols (CRP). Control group (K), polyphenols administration alone (P). ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$ compared to controls K.

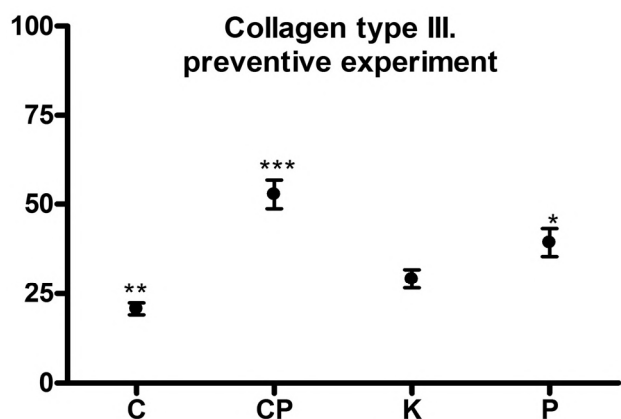


Fig. 3. Collagen type III content in the aorta after chronic intoxication with CCl_4 (C) and the preventive effect of parallel administration of polyphenols (CP). Control group (K), polyphenols alone (P). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared to controls K.

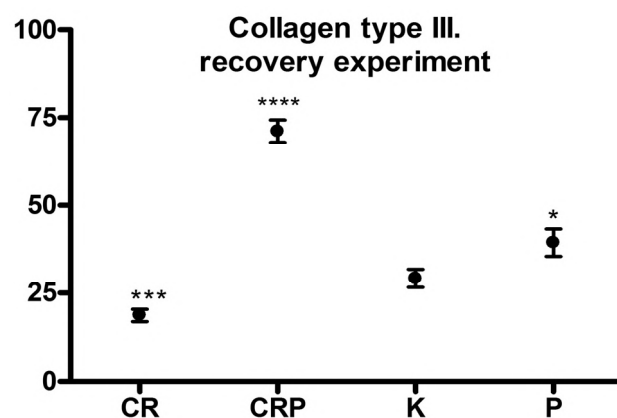


Fig. 5. Collagen type III content in the aorta after chronic intoxication with CCl_4 followed by 4-week reparation period without (CR) and with polyphenols administration (CRP). Control group (K), polyphenols administration alone (P). * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$ compared to controls K.

contrary, decreases the content of collagen type III in the wall of the aorta. At present, tetrachlormethane is most frequently used for liver cirrhosis induction through the mechanism of oxidative stress (Zwart *et al.* 1998). It had been confirmed that chronic (10 weeks) administration of CCl_4 increased the amount of collagens type I and III together with fibronectin in the liver. The oxidative damage by tetrachlormethane does not concern only the liver. Toxic damage of bone marrow and the spleen or the kidneys were also described (Singh *et al.* 1990). A direct relation between liver cirrhosis induced by CCl_4 and vascular changes has been reported (Castro *et al.* 1993, Zhang *et al.* 1997). Recently, toxic effect of CCl_4 on vascular endothelium has been published (Babál *et al.* 2006).

We have found that subcutaneous administration

of tetrachlormethane lead to a decreased content of collagen type I and an increase of collagen type III in the of aorta. Increased amount of type I collagen in blood vessels is considered as an unfavorable factor. The increase in its production is observed in various pathological processes in blood vessels, like atherosclerosis (Andreeva *et al.* 1997) or coronary stenosis (Lafont *et al.* 1999). In contrast, the decreased amount of collagen type III was attributed to reduced elasticity of the vessels (Silver *et al.* 2001) and aneurysm formation (Kontusaari *et al.* 1990, Majamaa *et al.* 1992, Anderson *et al.* 1996).

Sirius red F3BA dissolved in the saturated picric acid solution stains collagens. Viewed under polarized or fluorescent light the color of collagen fibers depends on

their thickness (Allon *et al.* 2006). Detailed study of combined usage of picrosirius red with hue analysis documented suitability of this method for evaluation of collagens (Rich *and* Whittaker 2005). The reliability of such analysis is supported by the results obtained by means of immunohistochemistry or expression of collagen type I and type III mRNA (Pauschinger *et al.* 1999).

Components of extracellular matrix are in a dynamic balance in the organism (Bissel 2001). Remodeling of the extracellular matrix includes both, the degradation and removal of its components, as well as the production and deposition of the newly synthesized components. Homeostasis of these processes influences the preservation or the changes in structure or function of the tissue (Liu and Connolly 1998). Matrix metalloproteinases (MMP) mediate the resorption of extracellular material, while the creation of extracellular matrix depends mainly on the production of collagens (Mauch 1998). Under normal physiological conditions the activity of metalloproteinases is regulated by tissue inhibitors of proteinases (Nagase and Woessner 1999). Loss of the control of MMP activity for whatever reason may result in various diseases like arthritis, atherosclerosis, aneurysm, nephritis and fibrosis (Woessner 1998).

MMP-1 is a collagenase that splits collagens type I, II and III, while type III collagen is split more effectively than the other types of collagen (Ohuchi *et al.* 1996). This enzyme is not produced by healthy endothelium. However, its presence is confirmed in atherosclerotic plaques (Nikkari *et al.* 1995) and increased amounts of MMP-1 are found in aneurysms (Lesauskaite *et al.* 2001). On the contrary, decreased amount of MMP-1 prevents the development of vascular lesions (Wilson *et al.* 2003). Tissue inhibitors of proteinases (TIMP) play an important role in maintenance of the dynamic balance of collagen matter. Their increased presence acts as a protective factor against aneurysm rupture (Allaire *et al.* 1998) and reduces atherosclerotic changes (Rouis *et al.* 1999).

Polyphenols were shown to increase TIMP expression (Lambert and Yang 2003). According to our results, the effect of polyphenols on the ratio of collagen types in the wall of the aorta is more expressed in the toxic damage induced by tetrachlormethane than in the

normal control tissue. Evaluation of the control groups (with or without polyphenols) showed only a moderate shift of the ratio in favor of the type III collagen, when compared to the toxic groups. This difference might result from the damaged control mechanisms in CCl₄ intoxication. Under physiological conditions, the regulatory molecules like TIMP, are able to maintain the balance between the particular units of the extracellular matrix. This could explain the less effective performance of polyphenols in the control groups. Chronic toxicity of CCl₄ results in a serious systemic damage that has significant effects on the dynamic equilibrium between components of the extracellular matrix. As had been mentioned above, polyphenols inhibit the synthesis of MMP-1 (Oak *et al.* 2004) and increase the formation of TIMP (Lambert and Yang 2003). Through the preference of collagen type III as the substrate for MMP-1 (Ohuchi *et al.* 1996), the polyphenols influence the collagen types I/III ratio in favor of collagen type III. By this activity the polyphenols enhance their protective effect on blood vessels from oxidative damage caused by tetrachlormethane.

Conclusions

Subcutaneous application of CCl₄ increases the amount of collagen type I and on the contrary decreases the amount of type III in the wall of the aorta. Red wine polyphenols lead to reduced content of collagen type I and increase the proportion of collagen type III in the aortic wall. This effect is enhanced after previous oxidative damage when compared with the control, and also after 4 weeks of recovery. The effect of polyphenols is most likely the result of their influence on MMP-1 and TIMP activities through which they positively influence the collagen types I and III content ratio in favor of the type III collagen.

Conflict of Interest

There is no conflict of interest.

Acknowledgements

The study was performed with partial support by APVT 20-025204, APVV-0586-06, APVV-0538-07 and VEGA 1/0524/08. We would like to express our gratitude to Mrs. Gabika Fugeriková for technical assistance.

References

- ALLON I, VERED M, BUCHNER A, DAYAN D: Stromal differences in salivary gland tumors of a common histopathogenesis but with different biological behavior: a study with picosirius red and polarizing microscopy. *Acta Histochem* **108**: 259-264, 2006.
- ALLAIRE E, FOUROUGH R, CLOWES M, STARCHER B, CLOWES AW: Local overexpression of TIMP-1 prevents aortic aneurysm degeneration and rupture in a rat model. *J Clin Invest* **102**: 1413-1420, 1998.
- ANDERSON DW, EDWARDS TK, RICKETTS MH, KUIVANIEMI H, TROMP G, STOLLE CA, DEAK SB, BOYD CD: Multiple defects in type III collagen synthesis are associated with the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *Ann NY Acad Sci* **800**: 216-228, 1996.
- ANDREEVA ER, PUGACH IM, OREKHOV AN: Collagen-synthesizing cells in initial and advanced atherosclerotic lesions of human aorta. *Atherosclerosis* **130**: 133-142, 1997.
- BABÁL P, KRISTOVA V, ČERNÁ A, JANEĞA P, PECHÁŇOVÁ O, DANIHEL L, ANDRIANTSITOHAINA R: Red wine polyphenols prevent endothelial damage induced by CCl₄ administration. *Physiol Res* **55**: 245-251, 2006.
- BERNÁTOVÁ I, PECHÁŇOVÁ I, BABÁL P, KYSELÁ S, ŠTVRTINA S, ANDRIANTSITOHAINA R: Wine polyphenols improve cardiovascular remodeling and vascular function in NO-deficient hypertension. *Am J Physiol* **282**: H942-H948, 2002.
- BISSELL DM: Chronic liver injury, TGF- β , and cancer. *Exp Mol Med* **33**: 179-190, 2001.
- BOOT-HANDFORD RP, TUCKWELL DS, PLUMB DA, ROCK CF, POULSOM R: A novel and highly conserved collagen (pro(α 1)(XXVII)) with a unique expression pattern and unusual molecular characteristics establishes a new clade within the vertebrate fibrillar collagen family. *J Biol Chem* **278**: 31067-31077, 2003.
- CASTRO A, JIMENEZ W, CLARIA J, ROS J, MARTINEZ JM, BOSCH M, ARROYO V, PIULATS J, RIVERA F, RODES J: Impaired responsiveness to angiotensin II in experimental cirrhosis: role of nitric oxide. *Hepatology* **18**: 367-372, 1993.
- ČÍŽ M, PAVELKOVÁ M, GALLOVÁ L, KRÁLOVÁ J, KUBALA L, LOJEK A: The influence of wine polyphenols on reactive oxygen and nitrogen species production by murine macrophages RAW 264.7. *Physiol Res* **57**: 393-402, 2008.
- DIEBOLT M, BUCHER B, ANDRIANTSITOHAINA R: Wine polyphenols decrease blood pressure, improve NO vasodilatation and induce gene expression. *Hypertension* **38**: 159-165, 2001.
- HAYEK T, FUHRMAN B, VAYA J, ROSENBLAT M, BELINKY P, COLEMAN R, ELIS A, AVIRAM M: Reduced progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice following consumption of red wine, or its polyphenols quercetin or catechin, is associated with reduced susceptibility of LDL to oxidation and aggregation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **17**: 2744-2752, 1997.
- International Programme on Chemical Safety, The (World Health Organization): Environmental health criteria. Geneva, <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc208.htm#PartNumber:6>, 1999.
- JACKSON CJ, JENKINS KL: Type I collagen fibrils promote rapid vascular tube formation upon contact with the apical side of cultured endothelium. *Exp Cell Res* **192**: 319-323, 1991.
- KONTUSAARI S, TROMP G, KUIVANIEMI H, ROMANIC AM, PROCKOP DJ: A mutation in the gene for type III procollagen (COL3A1) in a family with aortic aneurysms. *J Clin Invest* **86**: 1465-1473, 1990.
- KUGA T, ESATO K, ZEMPO N, FUJIOKA K, NAKAMURA K: Detection of type III collagen fragments in specimens of abdominal aortic aneurysms. *Surg Today* **28**: 385-390, 1998.
- LAFONT A, DURAND E, SAMUEL JL, BESSE B, ADDAD F, LÉVY BI, DESNOS M, GUÉROT C, BOULANGER CM: Endothelial dysfunction and collagen accumulation. Two independent factors for restenosis and constrictive remodeling after experimental angioplasty. *Circulation* **100**: 1109-1115, 1999.
- LAMBERT JD, YANG CS: Mechanisms of cancer prevention by tea constituents. *J Nutr* **133**: 3262-3267, 2003.
- LESAUSKAITE V, TANGANELLI P, SASSI C, NERI E, DICIOLLA F, IVANOVIENE L, EPISTOLATO MC, LALINGA AV, ALESSANDRINI C, SPINA D: Smooth muscle cells of the media in the dilatative pathology of ascending thoracic aorta: morphology, immunoreactivity for osteopontin, matrix metalloproteinases, and their inhibitors. *Hum Pathol* **32**: 1003-1011, 2001.

- LIU B, CONNOLLY MK: The pathogenesis of cutaneous fibrosis. *Semin Cutan Med Surg* **17**: 3-11, 1998.
- MAJAMAA K, SAVOLAINEN ER, MYLLYLÄ VV: Synthesis of structurally unstable type III procollagen in patients with cerebral artery aneurysm. *Biochim Biophys Acta* **1138**: 191-196, 1992.
- MANDELOVÁ L: Polyphenols: Distribution and food sources. (in Czech) *Výživa a potraviny* **60**: 11-14, 2005.
- MAUCH C: Regulation of connective tissue turnover by cell-matrix interactions. *Arch Dermatol Res* **290**: 30-36, 1998.
- MIYAGI Y, MIWA K, INOUE H: Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by flavonoids in red wine and grape juice. *Am J Cardiol* **15**: 1627-1631, 1997.
- MOJŽÍŠ J, ŠARISSKÝ M, PILÁTOVÁ M, VOHAROVÁ V, VARINSKÁ L, MOJŽÍŠOVÁ G, OSTRO A, URDZÍK P, DANKOVČIK R, MIROSSAY L: In vitro antiproliferative and antiangiogenic effects of Flavin7. *Physiol Res* **57**: 413-420, 2008.
- NAGASE H, WOESSNER JF JR: Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* **274**: 21491-21494, 1999.
- NAKAZATO T, ITO K, MIYAKAWA Y, KINJO K, YAMADA T, HOZUMI N, IKEDA Y, KIZAKI M: Catechin, a green tea component, rapidly induces apoptosis of myeloid leukemic cells via modulation of reactive oxygen species production in vitro and inhibits tumor growth in vivo. *Haematologica* **90**: 317-325, 2005.
- NIKKARI ST, O'BRIEN KD, FERGUSON M, HATSUKAMI T, WELGUS HG, ALPERS CE, CLOWES AW: Interstitial collagenase (MMP-1) expression in human carotid atherosclerosis. *Circulation* **92**: 1393-1398, 1995.
- OAK MH, EL BEDOUI J, ANGLARD P, SCHINI-KERTH VB: Red wine polyphenolic compounds strongly inhibit pro-matrix metalloproteinase-2 expression and its activation in response to thrombin via direct inhibition of membrane type 1-matrix metalloproteinase in vascular smooth muscle cells. *Circulation* **110**: 1861-1867, 2004.
- O'BYRNE DJ, DEVARAJ S, GRUNDY SM, JIALAL I: Comparison of the antioxidant effects of Concord grape juice flavonoids alpha-tocopherol on markers of oxidative stress in healthy adults. *Am J Clin Nutr* **76**: 1367-1374, 2002.
- OHUCHI E, IMAI K, FUJII Y, SATO H, SEIKI M, OKADA Y: Membrane type 1 matrix metalloproteinase digests interstitial collagens and other extracellular matrix macromolecules. *J Biol Chem* **272**: 2446-2451, 1997.
- PAUSCHINGER M, KNOPF D, PETSCHAUER S, DOERNER A, POLLER W, SCHWIMMBECK PL, KÜHL U, SCHULTHEISS HP: Dilated cardiomyopathy is associated with significant changes in collagen type I/III ratio. *Circulation* **99**: 2750-2756, 1999.
- PECHÁŇOVÁ O, BERNÁTOVÁ I, BABÁL P, MARTINEZ MC, KYSELÁ S, ŠTVRTINA S, ANDRIAN-TSITOHAINA R: Red wine polyphenols prevent cardiovascular alterations in L-NAME-induced hypertension. *J Hypertens* **22**: 1551-1559, 2004.
- PICKERING JG, FORD CM, CHOW LH: Evidence for rapid accumulation and persistently disordered architecture of fibrillar collagen in human coronary restenosis lesions. *Am J Cardiol* **78**: 633-637, 1996.
- REKHTER MD, O'BRIEN E, SHAH N, SCHWARTZ SM, SIMPSON JB, GORDON D: The importance of thrombus organization and stellate cell phenotype in collagen I gene expression in human, coronary atherosclerotic and restenotic lesions. *Cardiovasc Res* **32**: 496-502, 1996.
- RICH L, WHITTAKER P: Collagen and picrosirius red staining: a polarized light assessment of fibrillar hue and spatial distribution. *Braz J Morphol Sci* **22**: 97-104, 2005.
- ROUIS M, ADAMY C, DUVERGER N, LESNIK P, HORELLOU P, MOREAU M, EMMANUEL F, CAILLAUD JM, LAPLAUD PM, DACHET C, CHAPMAN MJ: Adenovirus-mediated overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 reduces atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* **100**: 533-540, 1999.
- SATTA J, JUVONEN T, HAUKIPURO K, JUVONEN M, KAIRALUOMA MI: Increased turnover of collagen in abdominal aortic aneurysms, demonstrated by measuring the concentration of the aminoterminal propeptide of type III procollagen in peripheral and aortal blood samples. *J Vasc Surg* **22**: 155-160, 1995.
- SILVER FH, HORVATH I, FORAN DJ: Viscoelasticity of the vessel wall: the role of collagen and elastic fibers. *Crit Rev Biomed Eng* **29**: 279-301, 2001.
- SINGH KP, ZAIDI SI, RAISUDDIN, SAXENA AK, DWIVEDI PD, SETH PK, RAY PK: Protection against carbon-tetrachloride-induced lymphoid organotoxicity in rats by protein A. *Toxicol Lett* **51**: 339-351, 1990.

-
- VITA JA: Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function. *Am J Clin Nutr* **81** (Suppl): 292-297, 2005.
- WATSON KE, PARHAMI F, SHIN V, DEMER LL: Fibronectin and collagen I matrices promote calcification of vascular cells in vitro, whereas collagen IV matrix is inhibitory. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **18**: 1964-1971, 1998.
- WILSON D, MASSAELI H, RUSSELL JC, PIERCE GN, ZAHRADKA P: Low matrix metalloproteinase levels precede vascular lesion formation in the JCR:LA-cp rat. *Mol Cell Biochem* **249**: 151-155, 2003.
- WOESSNER JF: The matrix metalloproteinase family. In: *Matrix Metalloproteinases*. PARKS WC, RP (eds), Academic Press, San Diego, 1998, pp 1-13.
- ZHANG P, LIANG K, LIN J, WANG T, DU L: Nitric oxide synthase activity in arterial tissues of cirrhotic rats. *J Tongji Med Univ* **17**: 25-27, 1997.
- ZWART LL, HERMANNNS RCA, MEERMAN JHN, COMMANDEUR JNM, SALEMINK PJM, VERMEULEN NPE: Evaluation of urinary biomarkers for radical-induced liver damage in rats treated with carbon tetrachloride. *Toxicol Appl Pharmacol* **148**: 71-82, 1998.
-