

УДК 615.322+577.121

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИФЕНОЛОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА МОРСКОЙ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ *ULVA LACTUCA* L.

© С.Е. Фоменко*, Н.Ф. Кушнерова, В.Г. Спрыгин, Е.С. Другова, В.Ю. Мерзляков, Л.Н. Лесникова

Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН,
ул. Балтийская, 43, Владивосток, 690041 (Россия),
e-mail: fomenko29@mail.ru

Исследовано влияние водно-спиртового экстракта (70%) из морской зеленой водоросли *Ulva lactuca* L., обогащенного полифенольной фракцией, и растительного препарата экстракта элеутерококка – *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae) на показатели антиоксидантной защиты печени и плазмы крови крыс при остром стрессе (вертикальная фиксация за дорсальную шейную складку). Общее содержание полифенолов и флавоноидов в экстракте *U. lactuca* составляло 16.2 ± 1.8 мг-экв ГК/г и 9.10 ± 1.87 мг-экв Кв/г соответственно, что в 2 раза превышало их количество в экстракте элеутерококка – 7.6 ± 0.25 мг-экв ГК/г и 4.8 ± 0.3 мг-экв Кв/г. Уровень антирадикальной активности к АВТС⁺ и алкил-пероксильным радикалам в экстракте *U. lactuca* также был выше почти в 2 раза по сравнению с элеутерококком. Фармакологический эффект фенольного комплекса *U. lactuca* при стрессовом воздействии на крыс линии Вистар проявлялся в стабилизации состояния антиоксидантной защиты. Отмечалось снижение содержания малонового диальдегида, повышение уровня антирадикальной активности, восстановленного глутатиона и активности ферментов глутатионового звена в печени и плазме крови крыс. По эффективности экстракт *U. lactuca* не уступал препарату сравнения элеутерококка, а по способности восстанавливать активность антиоксидантных ферментов и показателей глутатионовой системы превосходил таковой. Фармакологический эффект фенольного комплекса *U. lactuca*, по нашему мнению, обусловлен действием входящих в его состав флавоноидов, фенольных терпеноидов, фенольных кислот (гидроксибензойная, гидроксикоричная, кумаровая, синаповая) и др., обладающих выраженными антиоксидантными свойствами, что препятствует развитию процессов липопероксидации и оксидативного стресса. Морская зеленая водоросль *U. lactuca* является перспективным видом сырья для создания препаратов, способных повышать потенциал эндогенной системы антиоксидантной защиты организма в условиях стресс-индуцированных расстройств.

Ключевые слова: полифенольный комплекс, *Ulva lactuca* L., *Eleutherococcus senticosus*, стресс, антиоксидантная защита, крысы.

Работа выполнена в рамках госзадания ФГБУН Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН по теме № 11 «Эколого-биогеохимические процессы в морских экосистемах: роль природных и антропогенных факторов», (0211-2021-0014). Регистрационный номер: 121-21500052-9.

Введение

Обширную группу соединений среди вторичных метаболитов наземных и морских растений составляют полифенолы, каротиноиды, терпены, алкалоиды и др., которые привлекают все большее внимание из-

за их антиоксидантных свойств [1]. Эти биоактивные соединения достаточно хорошо исследованы в растениях и фруктах, однако представляют менее изученный источник фенольных и флавоноидных соединений в морских водорослях. Морские водоросли и полученные из них препараты обладают широким спектром фармакологических свойств, в

Фоменко Светлана Евгеньевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии, e-mail: fomenko29@mail.ru
Кушнерова Наталья Федоровна – доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией биохимии, e-mail: natasha50@mail.ru
Спрыгин Владимир Геннадьевич – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии, e-mail: vsprygin@poi.dvo.ru

Окончание на С. 386.

* Автор, с которым следует вести переписку.

том числе антиоксидантных, противодиабетических, противовоспалительных, противовирусных, антибактериальных и др. [2, 3]. Положительное воздействие морских водорослей на здоровье во многом связано со способностью полифенолов улавливать свободные радикалы, что может предотвратить развитие оксидативного стресса, являющегося причиной многочисленных нарушений гомеостаза при патологических процессах в организме животных и человека.

В работах ряда авторов [4, 5] было показано, что зеленые водоросли обладают выраженными антиоксидантными свойствами, благодаря содержащимся в них флавоноидам, бромфенолам, фенольным кислотам и др. в числе прочих биологически активных соединений. Богатым источником вторичных метаболитов являются морские зеленые водоросли рода *Ulva sp.*, которые относятся к массовым видам. Фитохимический анализ метанольных экстрактов *Ulva lactuca L.* показал присутствие флавоноидов, фенолов, дубильных веществ, фенольных терпеноидов и др., многие из которых обладают антиоксидантным, противовоспалительным, противомикробным действием [6]. Использование метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC-PDA) [7] выявило высокое содержание фенольных кислот и флавонолов в экстрактах водорослей рода *Ulva sp.*, что также обуславливает их высокую антиоксидантную способность. На рисунке 1 представлены структурные формулы некоторых полифенолов и флавоноидов, содержащихся в экстракте *Ulva lactuca L.*

Характерной особенностью фенольных соединений является наличие одного или нескольких ароматических колец, содержащих гидроксильные группы. Механизм антиоксидантного действия полифенолов обусловлен их способностью отдавать атомы водорода, участвовать в транспорте электронов и образовывать прочные хелатные комплексы с ионами металлов [8], что делает их активными нейтрализаторами свободных радикалов.

На содержание полифенольных соединений морских макрофитов и их антирадикальную активность оказывают воздействие различные биотические и абиотические факторы, такие как среда обитания водорослей, сезон их сбора, возраст, репродуктивный статус, интенсивность освещения, температура, глубина, соленость вод и т.д. [3]. Считается, что биологическая активность морских водорослей, обитающих в северных и дальневосточных морях, значительно выше, чем у тропических представителей этих видов.

Преыдушие наши исследования были посвящены изучению фармакологических и биомедицинских свойств липидной составляющей экстрактов *U. lactuca*, имеющих высокую практическую ценность [9–11]. Однако исследование состава и антирадикальной активности полифенольных соединений, являющихся не менее ценными компонентами водорослей, имеет также большое практическое значение. Антиоксидантные свойства фенольных соединений морских водорослей позволяют использовать их в качестве дополнительных средств (добавок) к основной терапии для снижения потока свободных радикалов, образующихся при ряде заболеваний [12].

Основными факторами риска развития различных болезней, включая заболевания пищеварительной, кровеносной, нейроэндокринной, иммунной систем, считается действие стресса на организм, в особенности хронического [13]. Воздействие стрессовых факторов, в первую очередь, нарушает антиоксидантную защиту организма, приводя к образованию избытка реактивных оксигенных радикалов (супероксид-анион радикал, гидроксильный радикал, гидропероксид и др.), что сопровождается липидной пероксидацией клеточных мембран, повышением их проницаемости. В связи с этим использование экстрактов морских водорослей, обогащенных полифенольными соединениями, будет способствовать устранению избыточного количества образующихся свободных радикалов и, таким образом, позволит улучшить общее состояние при патологических процессах в организме.

Цель настоящей работы – исследование содержания фенольного комплекса водно-спиртового экстракта, выделенного из таллома морской зеленой водоросли *U. lactuca*, и оценка его антиоксидантной активности при остром стрессе у крыс.

Другова Елена Сергеевна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории биохимии, e-mail: drug-2005.84@mail.ru

Мерзляков Валерий Юрьевич – научный сотрудник лаборатории биохимии, e-mail: vum77@mail.ru

Лесникова Лариса Николаевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии, e-mail: lesnikova@poi.dvo.ru

Экспериментальная часть

Ulva lactuca L. – ульва латук (салатная). Относится к Отделу *Chlorophyta* – зеленые водоросли, класс *Ulotrichophyceae*, порядок *Ulvales* – ульвоые. Растет в основном на мелководье, на глубине 2–5 м, на камнях, скалах, илистом грунте с песком,

распространена на всем побережье Дальнего Востока. Ульва является потенциально промышленным видом и объектом культивирования в странах Юго-Восточной Азии (Япония, Южная Корея, Китай). Vegetирует в течение всего года, при этом биомасса может достигать от 1 до 4 кг/м.² Используется в пищу как в сыром, так и обработанном виде, в народной медицине применяется как ранозаживляющее, общеукрепляющее средство, сырье для получения пищевых и кормовых добавок [14].

Водоросли собирали в летний период в бухте Алексеева, о-в Попова, залива Петра Великого (Японское море). Слоевища очищали от эпифитов и донного бентоса, промывали морской водой, затем дистиллированной. После этого водоросли отжимали и сушили до воздушно-сухого состояния. Высушенный таллом измельчали с помощью лабораторной мельницы (до размеров частиц 0.5–1 мм), затем экстрагировали 70%-ным этиловым спиртом методом реперколяции. Выход экстракта составлял 1 л на 1 кг сухого сырья. Экстрагирование этанолом является эффективным способом переработки водорослей, в процессе которого извлекается основная часть минеральных и органических веществ, проявляющих биологическую активность, а этиловый спирт, благодаря низкой токсичности, является более предпочтительным для экстракции фенольных соединений среди других растворителей [3]. Получение экстракта из *U. lactuca*, обогащенного полифенольной фракцией, представлено на схеме (рис. 2).

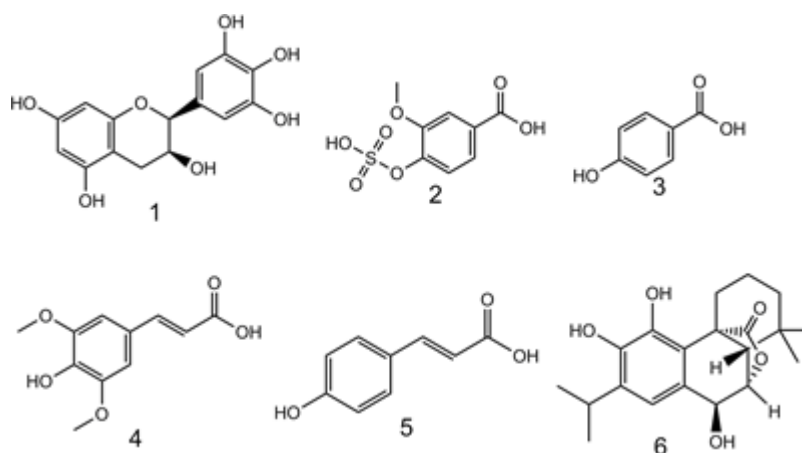


Рис. 1. Структурные формулы отдельных представителей фенольной фракции экстракта морской зеленой водоросли *Ulva lactuca* L. 1 – Галлокатехин (флаванол), 2 – Ванильная кислота-4-сульфат, 3 – 4-гидроксibenзойная кислота, 4 – Синаповая кислота, 5 – Кумаровая кислота, 6 – Розманол (фенольный терпеноид)

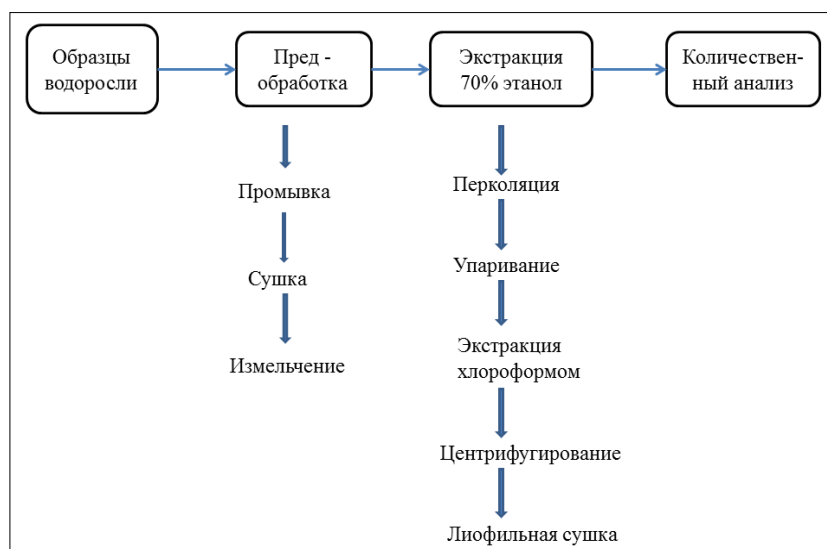


Рис. 2. Схема выделения полифенольной фракции из морской зеленой водоросли *U. lactuca*

Для выделения полифенольной фракции экстракты водорослей упаривали в вакууме до полного удаления этанола. Полученную водную составляющую последовательно экстрагировали хлороформом для удаления липофильных веществ и пигментов в соответствии с методом, описанным ранее [15], затем центрифугировали (при 10000 g в течение 10 мин) для удаления взвеси. Полученную водную (надосадочную) фракцию, содержащую полифенолы, упаривали в вакууме досуха и ресуспендировали в воде для получения исходного раствора (10 мг/мл), в котором определяли общее содержание полифенолов, флавоноидов и величину антирадикальной активности. Все биохимические исследования проводили на спектрофотометре «Shimadzu UV-2550» (Shimadzu, Япония). Общее содержание полифенолов (ПФ) определяли с использованием реактива Фолина-Чокальтеу при длине волны 765 нм [16]. В качестве стандарта сравнения при определении общего содержания ПФ использовали галловую кислоту (ГК). Общее содержание ПФ выражали в мг-экв ГК на 1 г сухого экстракта. Общее содержание флавоноидов определяли спектрофотометрически с хлоридом алюминия по методу Chan et al. [17] с некоторыми модификациями. В качестве стандарта сравнения при определении общего содержания флавоноидов использовали кверцетин (Кв) и выражали в мг-экв Кв на 1 г сухого экстракта.

Уровень антирадикальной активности оценивали также спектрофотометрически по отношению к катион-радикалу ABTS⁺ ($\lambda=734$ нм) [18] и алкилпероксильному радикалу ($\lambda=414$ нм) [19]. При определении антирадикальной активности в качестве стандарта сравнения использовали тролокс (водорастворимый аналог витамина Е). Антирадикальную активность выражали в мкмоль тролокса на мг ПФ. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ InStat 3.0, используя статистическую программу (Graph Pad Software Inc. USA, 2005), включающую функцию проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий в зависимости от параметров распределения использовали параметрический t-критерий Стьюдента или непараметрический U-критерий Манна-Уитни.

Эксперимент проводили на крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г, содержащихся в условиях вивария на стандартном рационе питания, при естественном освещении и постоянной температуре воздуха 20–22 °С. Животные содержались в клетках по 5 особей. Острый стресс моделировали путем вертикальной фиксации животных за дорсальную шейную складку на 24 ч. Это классическая модель острого стресса, которая применяется на лабораторных животных и позволяет получить основные метаболические изменения в организме, характерные для стресса [20].

Освобожденные от спирта экстракты водорослей вводили крысам в виде водной взвеси в дозе 100 мг общих полифенолов на кг массы тела в желудок через зонд дважды: непосредственно перед вертикальной фиксацией и через 6 ч после первого введения. Данная концентрация соответствует известной терапевтической дозе для полифенольных препаратов [21]. Разведение проводили таким образом, чтобы терапевтическая доза, принятая в данном исследовании, составила по объему 5.0 мл/кг, что соответствовало 1 мл разведенного препарата на одно животное. В качестве препарата сравнения использовали аптечный экстракт элеутерококка (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae), известный адаптоген и стресс-протектор [22]. Животным контрольной группы и группы «стресс» вводили дистиллированную воду в объеме, равном объему вводимых препаратов.

В ходе исследования были выделены четыре группы животных по 10 особей в каждой: 1 группа – контроль (интактные); 2 группа – стресс (вертикальная фиксация за дорсальную шейную складку); 3 группа – стресс + экстракт ульвы; 4 группа – стресс + экстракт элеутерококка. Животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Проведение исследований одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН.

Кровь для исследований собирали из шейной зоны животных в вакуэты с 1%-ным раствором гепарина. Для отделения плазмы кровь центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин, затем образцы плазмы замораживали при $t=-80$ °С для дальнейшего определения биохимических показателей. Печень после извлечения промывали в физиологическом растворе и также замораживали в холодильнике при -80 °С. Состояние антиоксидантной системы оценивали в плазме крови и печени животных спектрофотометрическим методом по величине общей антирадикальной активности (АРА) [18], уровню малонового диальдегида (МДА) [23],

активности супероксиддисмутазы (СОД) [24] и ферментов глутатионового звена – глутатионредуктазы (ГР) [25] и глутатионпероксидазы (ГП) [26], а также по уровню восстановленного глутатиона (Г-SH) [27].

Обсуждение результатов

Перед проведением экспериментальных исследований по изучению влияния растительных экстрактов на состояние системы антиоксидантной защиты животных в условиях стресса в образцах экстрактов ульвы и элеутерококка определяли общее содержание ПФ и флавоноидов, а также уровень их антирадикальной активности. Величину антирадикальной активности оценивали по отношению к катион-радикалу АВТС⁺ и алкил-пероксильному радикалу, которые являются одними из основных инициаторов свободнорадикальных реакций. Как следует из таблицы 1, общее содержание ПФ и флавоноидов в экстракте ульвы в 2 раза превышало их количество в экстракте элеутерококка.

При этом уровень антирадикальной активности к АВТС⁺ и алкил-пероксильным радикалам в экстракте ульвы также был выше почти в 2 раза по сравнению с элеутерококком. Полученные данные по содержанию полифенолов и флавоноидов, а также антирадикальной активности экстракта *U. lactuca* соответствуют известным в литературе данным [6, 7].

Воздействие стресса (вертикальная фиксация животных за дорсальную шейную складку) сопровождалось рассогласованием системы антиоксидантной защиты в результате избыточного образования свободных радикалов, о чем свидетельствует повышение активности супероксиддисмутазы (СОД) на 34% ($p < 0.001$) и снижение уровня антирадикальной активности (АРА) в ткани печени почти в 2 раза ($p < 0.001$) (табл. 2).

Отмечалось почти двукратное повышение уровня малонового диальдегида (МДА), что свидетельствует об активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени. Формируется дисбаланс прооксидантных и антиоксидантных параметров. Подтверждением рассогласования в системе антиоксидантной защиты в организме стрессированных животных является также снижение уровня восстановленного глутатиона (Г-SH) в печени почти в 2 раза и активности ферментов глутатионового звена – глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГП) на 26% ($p < 0.01$) и 35% ($p < 0.001$) соответственно. Впоследствии истощение пула восстановленного глутатиона и снижение активности антиоксидантных ферментов приводит к неконтролируемому усилению процессов липопероксидации и развитию оксидативного стресса.

Таблица 1. Содержание полифенолов и антирадикальная активность экстрактов из морской зеленой водоросли *Ulva lactuca* и элеутерококка ($M \pm m$)

Биохимические показатели	<i>Ulva lactuca</i>	Элеутерококк
Полифенолы, мг-экв ГК/г сухого экстракта	16.2±1.8	7.6±0.25
Флавоноиды, мг-экв Кв/г сухого экстракта	9.10±1.87	4.8±0.3
Антирадикальная активность к АВТС ⁺ , μ М тролокса/мг ПФ	0.32±0.03	0.15±0.03
Антирадикальная активность к алкилпероксильным радикалам, μ М тролокса/мг ПФ	0.15±0.02	0.08±0.02

Примечание: ПФ – полифенолы; мг-экв ГК – миллиграмм-эквивалент галловой кислоты; мг-экв Кв – миллиграмм эквивалент кверцетина.

Таблица 2. Влияние экстрактов из ульвы и элеутерококка на показатели антиоксидантной защиты плазмы крови и печени крыс при стрессе ($M \pm m$)

Биохимические показатели	1 группа Контроль	2 группа Стресс	3 группа Стресс+Ульва	4 группа Стресс + Элеутерококк
СОД (ед/мг белка)	14±0.53	***18.76±0.69	13.88±0.70 ²	*15.9±0.56 ²
АРА (мкмоль/г печени)	6.0±0.19	***3.18±0.21	5.92±0.18 ³	***5.12±0.14 ^{3,6}
МДА (нмоль/г печени)	35.6±1.6	***60.5±1.4	37.2±1.7 ³	**45.4±1.7 ^{3,6}
Г-SH (мкмоль/г печени)	4.7±0.15	***2.5±0.14	**3.6±0.18 ²	**3.48±0.26 ¹
ГР (нмоль/мин/мл плазмы)	88.20±4.26	**65.17±3.6	***78±7.09 ³	*72.7±3.34 ^a
ГП (нмоль/мин/мл плазмы)	695±24	***452.5±21	*600±20.4 ³	**550±14 ^{2,a}

Примечание: различия статистически достоверны при ^{1,a,*} $p < 0,05$; ^{2,6,**} $p < 0,01$; ^{3,в,***} $p < 0,001$. Звездочки слева – сравнение с контрольной группой, цифры справа – сравнение со 2-й группой, буквы справа – сравнение с 3-й группой. Сокращения: МДА – малоновый диальдегид, АРА – антирадикальная активность, СОД – супероксиддисмутазы, Г-SH – восстановленный глутатион, ГР – глутатионредуктаза, ГП – глутатионпероксидаза.

У животных 3 и 4 групп, получавших растительные препараты на фоне стресса, прослеживалась тенденция к стабилизации показателей системы антиоксидантной защиты. Так, в 3 группе животных, получавших экстракт *U. lactuca*, исследуемые показатели приближались к контрольным значениям. При сравнении со 2 группой «стресс» в печени этих животных отмечалось снижение уровня МДА на 38% ($p < 0.001$) при одновременном повышении значений АРА в 1.9 раза ($p < 0.001$). Под действием экстракта *U. lactuca* выявлено также повышение уровня Г-SH в ткани печени на 44% ($p < 0.001$), при этом активность глутатионовых ферментов (ГП и ГР) в плазме крови возросла в среднем на 20–33% ($p < 0.001$) по сравнению с показателями 2 группы. Активность СОД при этом сохранялась на уровне контрольных значений.

В свою очередь, в показателях системы антиоксидантной защиты животных, получавших экстракт элеутерококка в условиях стрессового воздействия, отмечались статистические различия с контролем почти по всем исследованным параметрам (СОД, АРА, МДА, Г-SH, ГП). В то же время при сравнении с группой «стресс» была выявлена положительная динамика. Так, в печени крыс, получавших экстракт элеутерококка, отмечалось повышение уровня АРА на 61% ($p < 0.001$) и снижение содержания МДА на 25% ($p < 0.001$). В отношении показателей Г-SH и ферментов глутатионового звена также проявлялась некоторая стабилизация. Под действием экстракта элеутерококка содержание Г-SH в ткани печени повысилось на 39% ($p < 0.05$), а активность ГР и ГП в плазме крови на 12% ($p < 0.01$) и 22% ($p < 0.05$) соответственно, по сравнению с аналогичными показателями во 2-й группе (стресс).

На основании полученных данных видно, что параметры антиоксидантной защиты у крыс, получавших на фоне стресса экстракт элеутерококка, уступали аналогичным показателям в группе животных, получавших экстракт из *U. lactuca*. Расчет статистической достоверности между величинами изученных биохимических показателей в плазме крови и ткани печени крыс 3 и 4 групп подтверждает это (табл. 2). Так, содержание МДА в печени животных, получавших экстракты элеутерококка (4 группа), было выше на 22% ($p < 0.01$) по сравнению с соответствующими показателями в 3 группы крыс, получавших экстракт *U. lactuca*. Достоверные отличия между этими группами были выявлены и по другим показателям: уровень АРА ниже на 14% ($p < 0.001$), активность ГП и ГР ниже в среднем на 7–8% ($p < 0.05$).

Данный эффект обусловлен, вероятно, тем, что экстракт морской зеленой водоросли *U. lactuca*, обогащенный полифенольными соединениями, проявляет более высокую антиоксидантную активность, в отличие от растительных полифенолов элеутерококка. Полученные данные подтверждаются исследованиями авторов [4], отмечавших тесную связь между общим содержанием полифенолов в морских водорослях и их высокой антиоксидантной активностью. При этом авторами было отмечено, что фенольные соединения морских водорослей в отличие от наземных растений являются одними из самых эффективных антиоксидантов.

В состав фенольной фракции элеутерококка входят в основном элеутерозиды (производные лигнанов, кумаринов, фенилпропаноидов) и флавоноиды [28, 29]. При этом, как было показано выше (табл. 1), общее содержание полифенолов и уровень антирадикальной активности в экстракте *U. lactuca* превышали вдвое соответствующие показатели в экстракте элеутерококка. Состав полифенольного комплекса экстракта *U. lactuca* характеризуется наличием флавоноидов, в том числе флавонола галлокатехина, фенольных терпеноидов, фенольных кислот и др. [7] (рис. 1). Среди идентифицированных кислот в экстракте *U. lactuca* в большом количестве содержатся гидроксибензойная, гидроксикоричная, кумаровая, синаповая и другие фенольные кислоты, обладающие выраженными антиоксидантными свойствами. Присутствие данных фенольных соединений обуславливает высокий антиоксидантный потенциал экстракта *U. lactuca*.

Таким образом, морская зеленая водоросль *U. lactuca* является перспективным видом сырья для создания препаратов, способных активизировать антиоксидантную защиту организма для предупреждения стресс-индуцированных расстройств.

Выводы

1. Общее содержание полифенолов и флавоноидов, а также уровень антирадикальной активности экстракта из морской зеленой водоросли *U. lactuca* превышали в 2 раза соответствующие значения в экстракте элеутерококка.

2. Воздействие острого стресса сопровождалось изменениями показателей системы антиоксидантной защиты, что выражалось в подавлении нормального функционирования глутатионовой системы, снижении антирадикальной активности, а также активации процессов ПОЛ в печени и плазме крови экспериментальных животных.

3. Профилактическое введение экстракта из морской зеленой водоросли *U. lactuca* на фоне стресса способствовало стабилизации системы антиоксидантной защиты, которая участвует в протекании большинства жизненно-важных процессов.

4. При стрессовом воздействии экстракт из *U. lactuca* не уступал препарату сравнения элеутерококка, а по исследованным биохимическим параметрам антиоксидантной защиты (МДА, АРА, Г-SH, ГР, ГП) превосходил таковой.

Список литературы

1. Tian C., Hao L., Yi W., Ding S., Xu F. Polyphenols, Oxidative Stress, and Metabolic Syndrome // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020. Pp. 1–2. DOI: 10.1155/2020/7398453.
2. Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. Polyphenols: Food sources and bioavailability // *American Journal of Clinical Nutrition*. 2004. Vol. 79. N5. Pp. 727–747. DOI: 10.1093/ajcn/79.5.727.
3. Cotas J., Leandro A., Monteiro P., Pacheco D., Figueirinha A., Goncalves A.M.M., da Silva G.J., Pereira L. Seaweed Phenolics: From Extraction to Applications // *Marine Drugs*. 2020. Vol. 18. N8. Pp. 384–431. DOI: 10.3390/md18080384.
4. Farasat M., Khavari-Nejad R.A., Nabavi S.M., Namjooyan F. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoid contents of some edible green seaweeds from northern coasts of the Persian Gulf // *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2014. Vol. 13. N1. Pp. 163–170.
5. Cho M., Kang I.J., Won M.H., Lee H.S., You S. The antioxidant properties of ethanol extracts and their solvent-partitioned fractions from various green seaweeds // *Journal of Medicinal Food*. 2010. Vol. 13. N5. Pp. 1232–1239. DOI: 10.1089/jmf.2010.1124.
6. Alagan V.T., Valsala R.N., Rajesh K.D. Bioactive Chemical Constituent Analysis, in vitro Antioxidant and Antimicrobial Activity of Whole Plant Methanol Extracts of *Ulva lactuca* Linn. // *British Journal of Pharmaceutical Research*. 2017. Vol. 15. N1. Pp. 1–14. DOI: 10.3923/ijp.2018.572.583.
7. Zhong B., Robinson N.A., Warner R.D., Frank R. LC-ESI-QTOF-MS/MS Characterization of Seaweed Phenolics and Their Antioxidant Potential // *Marine Drugs*. 2020. Vol. 18. N6. Pp. 331–352. DOI: 10.3390/md18060331.
8. Leopoldini M., Russo N., Toscano M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants // *Food Chem*. 2011. Vol. 125. Pp. 288–306. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.08.012.
9. Спрыгин В.Г., Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф. Защитное действие липидной фракции из морской зеленой водоросли *Ulva fenestrata* при поражении печени крыс четыреххлористым углеродом // *Фундаментальные исследования*. 2014. №8-1. С. 110–114.
10. Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Другова Е.С., Мерзляков В.Ю., Лесникова Л.Н. Липидный состав и мембранопротекторное действие экстракта из морской зеленой водоросли *Ulva lactuca* (L.) // *Химия растительного сырья*. 2019. №3. С. 41–51. DOI: 10.14258/jcrpm.2019035116.
11. Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г., Другова Е.С., Момот Т.В., Мерзляков В.Ю., Лесникова Л.Н. Влияние липидного комплекса из морской зеленой водоросли *Ulva lactuca* Linnaeus, 1753 на биохимические показатели плазмы крови и печени при экспериментальной дислипидемии // *Биология моря*. 2022. Т. 48. №2. С. 123–132. DOI: 10.31857/S0134347522020073.
12. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2007. Vol. 39. Pp. 44–84. DOI: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.
13. Chrousos G.P. Stress and disorders of the stress system // *Nature Reviews Endocrinology*. 2009. N5. Pp. 374–381. DOI: 10.1038/nrendo.2009.106.
14. Титлянов Э.А., Титлянова Т.В. Морские растения стран Азиатско-Тихоокеанского региона, их использование и культивирование. Владивосток, 2012. 377 с.
15. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е., Сизова Л.А., Момот Т.В. Гепатопротекторные свойства экстракта из бурой водоросли *Saccharina japonica* // *Биология моря*. 2013. Т. 39. №1. С. 50–54.
16. Parys S., Rosenbaum A., Kehraus S., Reher G., Glombitza K.W., König G.M. Evaluation of quantitative methods for the determination of polyphenols in algal extracts // *Journal of Natural Products*. 2007. Vol. 70. N12. Pp. 1865–1870. DOI: 10.1021/np070302f.
17. Chan P.T., Matanjun P., Yasir S.M., Tan T.S. Antioxidant activities and polyphenolics of various solvent extracts of red seaweed *Gracilaria changii* // *Journal of Applied Phycology*. 2015. Vol. 27. N6. Pp. 2377–2386. DOI: 10.1007/s10811-014-0493-1.
18. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS+ radical cation decolorization assay // *Free Radical Biology and Medicine*. 1999. Vol. 26. N9-10. Pp. 1231–1237. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
19. Bartosz G., Janaszewska A., Ertel D., Bartosz M. Simple determination of peroxy radical-trapping capacity // *Biochemistry and Molecular Biology International*. 1998. Vol. 46. N3. Pp. 519–528. DOI: 10.1080/15216549800204042.
20. Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Момот Т.В. Нарушение обменных процессов в печени крыс под действием стресса // *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2013. №2. С. 67–70.

21. Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Доклиническое изучение гепатозащитных средств // Ведомости фармакологического комитета. 1999. №2. С. 9–12.
22. Davydov M., Krikorian A.D. *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae) as an adaptogen: a closer look // Journal of Ethnopharmacology. 2000. Vol. 72. Pp. 345–393
23. Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation // Methods Enzymology. 1978. Vol. 52. Pp. 302–310.
24. Paoletti F., Aldinucci D., Mocali A., Caparrini A. A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide-dismutase activity in tissue-extracts // Analytical biochemistry. 1986. Vol. 154. N2. Pp. 536–541. DOI: 10.1016/0003-2697(86)90026-6.
25. Goldberg D.M., Spoons R.J. Assay of Glutathione Reductase // Methods of enzymatic analysis. Deerfield Beach, 1983. Vol. 3. Pp. 258–265.
26. Burk R.F., Lawrence R.A., Lane J.M. Liver necrosis and lipid peroxidation in the rat as the result of paraquat and diquat administration. Effect of selenium deficiency // Journal of Clinical Investigation. 1980. Vol. 65. N5. Pp. 1024–1031.
27. Карпищенко А.И., Алипов А.Н., Алексеев В.В. Медицинские лабораторные технологии. Руководство по клинической лабораторной диагностике. М., 2013. Т. 2. 792 с.
28. Adamczyk K., Kuzniowski R., Olech V., Rapacka-Gackowska A., Abramek J., Bogucka-Kocka A., Wojciak-Kosior M., Skalski T., Feldo M., Pietrzak W., Nowak R., Strzemski M., Zaluski D. Eleutherococcus Species Cultivated in Europe: A New Source of Compounds with Antiacetylcholinesterase, Antihyaluronidase, Anti-DPPH and Cytotoxic Activities // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2019. Pp. 1–10. DOI: 10.1155/2019/8673521.
29. Куркин В.А., Рязанова Т.К. Методологические подходы к стандартизации корневищ и корней элеутерококка колючего // Химико-фармацевтический журнал. 2022. Т. 56. №3. С. 34–41. DOI: 10.30906/0023-1134-2022-56-3-34-41.

Поступила в редакцию 1 августа 2022 г.

После переработки 8 ноября 2022 г.

Принята к публикации 9 ноября 2022 г.

Для цитирования: Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Другова Е.С., Мерзляков В.Ю., Лесникова Л.Н. Исследование содержания полифенолов и антиоксидантной активности экстракта морской зеленой водоросли *Ulva lactuca* L. // Химия растительного сырья. 2023. №1. С. 385–393. DOI: 10.14258/jcrpm.20230111742.

Fomenko S.E.*, Kushnerova N.F., Sprygin V.G., Drugova E.S., Merzlyakov V.Yu., Lesnikova L.N. STUDY OF THE CONTENT OF POLYPHENOLS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE EXTRACT OF GREEN MARINE ALGAE *ULVA LACTUCA* L.

V.I Il'ichev Pacific Oceanological Institute FEB RAS, ul. Baltiyskaya, 43, Vladivostok, 690041 (Russia),
e-mail: fomenko29@mail.ru

It was studied the impact of a water-alcohol extract (70%) from the marine green algae *Ulva lactuca* L., enriched with a polyphenol fraction, and a herbal preparation – extract of *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae) on the indicators of antioxidant protection of the liver and blood plasma of rats under acute stress (vertical fixation by the dorsal neck fold). The total polyphenols and flavonoids content in the extract of *U. lactuca* made 16.2±1.8 µg GAE/g and 9.10±1.87 µg QE/g, respectively, which was 2 times higher than its amount in the *Eleutherococcus* extract – 7.6±0.25 µg GAE/g and 4.8±0.3 µg QE/g respectively. The antiradical activity against ABTS⁺ and alkyl-peroxyl radicals of the *U. lactuca* extract was also almost 2 times higher in compare with *Eleutherococcus*. The pharmacological effect of the phenolic complex of *U. lactuca* in Wistar rats under stress was manifested in the stabilization of the antioxidant defense system. It was noted a decrease of the malondialdehyde content, an increase of the antiradical activity level, reduced glutathione content and the activity of enzymes of glutathione cycle in the liver and blood plasma of rats. In terms of efficiency, the extract of *U. lactuca* was not inferior to the reference preparation *Eleutherococcus*, and in terms of the ability to restore the activity of antioxidant enzymes and indicators of the glutathione system, it was superior to that. The pharmacological effect of the phenolic complex of *U. lactuca*, to our opinion, is provided by the action of its constituent flavonoids, phenolic terpenoids, phenolic acids (hydroxybenzoic, hydroxycinnamic, coumaric, synapic), etc., which have pronounced antioxidant properties, which prevents the development of lipid peroxidation and oxidative stress. Thus, the marine green algae *U. lactuca* is a promising raw material for the development of preparations that can increase the potential of the endogenous antioxidant defense system of the body at stress-induced disorders.

Keywords: polyphenol complex, *Ulva lactuca* L., *Eleutherococcus senticosus*, stress, antioxidant defense, rats.

* Corresponding author.

References

1. Tian C., Hao L., Yi W., Ding S., Xu F. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, pp. 1–2. DOI: 10.1155/2020/7398453.
2. Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, vol. 79, no. 5, pp. 727–747. DOI: 10.1093/ajcn/79.5.727.
3. Cotas J., Leandro A., Monteiro P., Pacheco D., Figueirinha A., Goncalves A.M.M., da Silva G.J., Pereira L. *Marine Drugs*, 2020, vol. 18, no. 8, pp. 384–431. DOI: 10.3390/md18080384.
4. Farasat M., Khavari-Nejad R.A., Nabavi S.M., Namjooyan F. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2014, vol. 13, no. 1, pp. 163–170.
5. Cho M., Kang I.J., Won M.H., Lee H.S., You S. *Journal of Medicinal Food*, 2010, vol. 13, no. 5, pp. 1232–1239. DOI: 10.1089/jmf.2010.1124.
6. Alagan V.T., Valsala R.N., Rajesh K.D. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 2017, vol. 15, no. 1, pp. 1–14. DOI: 10.3923/ijpp.2018.572.583.
7. Zhong B., Robinson N.A., Warner R.D., Frank R. *Marine Drugs*, 2020, vol. 18, no. 6, pp. 331–352. DOI: 10.3390/md18060331.
8. Leopoldini M., Russo N., Toscano M. *Food Chem.*, 2011, vol. 125, pp. 288–306. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.08.012.
9. Sprygin V.G., Fomenko S.Ye., Kushnerova N.F. *Fundamental'nyye issledovaniya*, 2014, no. 8-1, pp. 110–114. (in Russ.).
10. Fomenko S.Ye., Kushnerova N.F., Sprygin V.G., Drugova Ye.S., Merzlyakov V.Yu., Lesnikova L.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 3, pp. 41–51. DOI: 10.14258/jcprm.2019035116. (in Russ.).
11. Kushnerova N.F., Fomenko S.Ye., Sprygin V.G., Drugova Ye.S., Momot T.V., Merzlyakov V.Yu., Lesnikova L.N. *Biologiya morya*, 2022, vol. 48, no. 2, pp. 123–132. DOI: 10.31857/S0134347522020073. (in Russ.).
12. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2007, vol. 39, pp. 44–84. DOI: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.
13. Chrousos G.P. *Nature Reviews Endocrinology*, 2009, no. 5, pp. 374–381. DOI: 10.1038/nrendo.2009.106.
14. Titlyanov E.A., Titlyanova T.V. *Morskiye rasteniya stran Aziatsko-Tikhookeanskogo regiona, ikh ispol'zovaniye i kul'tivirovaniye*. [Marine plants of the countries of the Asia-Pacific region, their use and cultivation]. Vladivostok, 2012, 377 p. (in Russ.).
15. Sprygin V.G., Kushnerova N.F., Fomenko S.Ye., Sizova L.A., Momot T.V. *Biologiya morya*, 2013, vol. 39, no. 1, pp. 50–54. (in Russ.).
16. Parys S., Rosenbaum A., Kehraus S., Reher G., Glombitza K.W., König G.M. *Journal of Natural Products*, 2007, vol. 70, no. 12, pp. 1865–1870. DOI: 10.1021/np070302f.
17. Chan P.T., Matanjun P., Yasir S.M., Tan T.S. *Journal of Applied Phycology*, 2015, vol. 27, no. 6, pp. 2377–2386. DOI: 10.1007/s10811-014-0493-1.
18. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, vol. 26, no. 9-10, pp. 1231–1237. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
19. Bartosz G., Janaszewska A., Ertel D., Bartosz M. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 1998, vol. 46, no. 3, pp. 519–528. DOI: 10.1080/15216549800204042.
20. Fomenko S.Ye., Kushnerova N.F., Sprygin V.G., Momot T.V. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*, 2013, no. 2, pp. 67–70. (in Russ.).
21. Vengerovskiy A.I., Markova I.V., Saratikov A.S. *Vedomosti farmakologicheskogo komiteta*, 1999, no. 2, pp. 9–12. (in Russ.).
22. Davydov M., Krikorian A.D. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, vol. 72, pp. 345–393.
23. Buege J.A., Aust S.D. *Methods Enzymology*, 1978, vol. 52, pp. 302–310.
24. Paoletti F., Aldinucci D., Mocali A., Caparrini A. *Analytical biochemistry*, 1986, vol. 154, no. 2, pp. 536–541. DOI: 10.1016/0003-2697(86)90026-6.
25. Goldberg D.M., Spooone R.J. *Methods of enzymatic analysis*. Deerfield Beach, 1983, vol. 3, pp. 258–265.
26. Burk R.F., Lawrence R. A., Lane J.M. *Journal of Clinical Investigation*, 1980, vol. 65, no. 5, pp. 1024–1031.
27. Karpishchenko A.I., Alipov A.N., Alekseyev V. V. *Meditsinskiye laboratornyye tekhnologii. Rukovodstvo po klinicheskoy laboratornoy diagnostike*. [Medical laboratory technologies. Guidelines for Clinical Laboratory Diagnostics]. Moscow, 2013, vol. 2, 792 p. (in Russ.).
28. Adamczyk K., Kuzniewski R., Olech V., Rapacka-Gackowska A., Abramek J., Bogucka-Kocka A., Wojciak-Kosior M., Skalski T., Feldo M., Pietrzak W., Nowak R., Strzemski M., Zaluski D. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, pp. 1–10. DOI: 10.1155/2019/8673521.
29. Kurkin V.A., Ryazanova T.K. *Khimiko-farmatsevticheskij zhurnal*, 2022, vol. 56, no. 3, pp. 34–41, DOI: 10.30906/0023-1134-2022-56-3-34-41. (in Russ.).

Received August 1, 2022

Revised November 8, 2022

Accepted November 9, 2022

For citing: Fomenko S.E., Kushnerova N.F., Sprygin V.G., Drugova E.S., Merzlyakov V.Yu., Lesnikova L.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2023, no. 1, pp. 385–393. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20230111742.

