ФАРМАКОЛОГИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ИЗОФЛАВОНОИДОВ ИЗ КОРНЕЙ *MAACKIA AMURENSIS* ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ

Н. Ф. Кушнерова[1, 3], С. А. Федореев[2], С. Е. Фоменко[1], В. Г. Спрыгин[1], Н. И. Кулеш[2], Н. П. Мищенко[2], М. В. Веселова[2], Т. В. Момот[3, 4]

Проведено исследование гепатопротекторных свойств экстракта из корней маакии амурской (*Maackia amurensis* Ruper et Maxim.) на модели токсического гепатита, вызванного четыреххлористым углеродом. Показано, что экстракт, содержащий даидзин, 7-О-гентиобиозиды изофлавонов генистеина, формононетина, псевдобабтигенина, 5-О-метилгенистеина и 3-О-гентиобиозиды птерокарпанов (6aR,11aR)-маакиаина, (6aR,11aR)-медикарпина, способствует восстановлению активности ферментов антиоксидантной защиты и уровня восстановленного глутатиона, уменьшает образование токсичных продуктов пероксидации, оказывает нормализующее влияние на фосфолипидный состав печени и повышает устойчивость эритроцитов к гемолизу. Экстракт из корней Маакии амурской оказался более эффективным при восстановлении метаболических реакций печени и устранении токсического стресса, чем эталонный гепатопротектор легалон.

Ключевые слова: четыреххлористый углерод; антиоксидантная защита печени; экстракт корней Маакии амурской; изофлавоноиды; легалон

ВВЕДЕНИЕ

Разработка новых гепатопротекторных средств из природного растительного сырья является одним из направлений в современной фармакологии. Природные ресурсы Дальнего Востока предоставляют большие возможности для создания на их основе лекарственных препаратов, которые нашли бы применение в терапии ряда заболеваний, в том числе, патологии печени.

Согласно современным представлениям, значительную роль в развитии патологии при токсических поражениях печени играют свободнорадикальные реакции. Активные формы кислорода вызывают усиленную пероксидацию липидов клеточных мембран печени и, как следствие, нарушение ее функции [17]. Ингибирование подобных процессов природными антиоксидантами оказывает, как правило, лечебное действие. Такими свойствами обладают растительные полифенолы, что обеспечивает выраженный гепатозащитный эффект [6].

В ранее проведенных исследованиях были показаны гепатопротекторные свойства препарата, полученного из сухого экстракта ядровой древесины Маакии амурской (*Maackia amurensis* Ruper et Maxim.) семейства Fabaceae, основными компонентами которого являются растительные полифенолы: изофлавоны, птерокарпаны, мономерные и димерные стильбены и др. [7]. Препарат был зарегистрирован в качестве субстанции (P N003309/01) для получения гепатопротекторного лекарственного средства Максар® (P N 003294/01).

Для более эффективного использования реликтового растения Дальнего Востока в фармацевтической промышленности важно было оценить возможность использования других частей растения, например, корней, в качестве альтернативного источника сырья для создания фармацевтических препаратов. Проведенный сравнительный химический анализ органов этого растения показал, что по составу метаболитов корни существенно отличаются от древесины. Полученный экстракт из корней Маакии амурской содержал свыше 78 % от сухого остатка дигликозидных производных изофлавонов и птерокарпанов. Следовательно, корни этого растения являются новым перспективным источником изофлавоноидов. Целью настоящей работы явилось изучение гепатопротекторных свойств экстракта корней Маакии амурской при интоксикации крыс четыреххлористым углеродом.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С использованием колоночной хроматографии из спиртового экстракта корней Маакии амурской были выделены 7 изофлавоноидов, а их структуры установлены методами 1H, 13C, 1H-1H COSY, HSQC, HMBC ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии: даидзин (**1**), генистеин-7-*О*-гентиобиозид (**2**), псевдобаптигенин-7-*О*-гентиобиозид (**3**), формононетин-7-*О*-гентиобиозид (**4**), 5-*О*-метилгенистеин-7-*О*-гентиобиозид (**5**), (6aR,11aR)-

[1] ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В. И. Ильичева ДВО РАН, 690041, Владивосток, ул. Балтийская, 43.
[2] ФГБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, 690022, Владивосток, Проспект 100 лет Владивостоку, 159.
[3] Дальневосточный федеральный университет, Школа биомедицины, 690950, Владивосток, ул. Суханова, 8.
[4] ФГБУН Институт биологии моря им. А. В. Жирмунского ДВО РАН, 690041, Владивосток, ул. Пальчевского, 17.

© 2014 Коллектив авторов

маакиаин-3-*O*-гентиобиозид (**6**) и (6aR,11aR)-медикарпин-3-*O*-гентиобиозид (**7**) (патент RU № 2454243 C1).

Экстракт корней Маакии амурской (ЭКМА) получали путем экстракции измельченных корней этого растения 95 % спиртом при 50 – 55 °C в соотношении сырья к экстрагенту 1:5 (v/v) с выходом суммарного экстракта 3,7 % в пересчете на сухое сырье. Экстракцию осуществляли методом реперколяции. Полученное спиртовое извлечение упаривали и высушивали в вакуумном эксикаторе до постоянного веса, затем растворяли в 30 % этиловом спирте, фильтровали и трижды экстрагировали гексаном для удаления неполярных компонентов, представляющих собой растительные воски и липиды. Выход ЭКМА, содержащий суммарную фракцию гликозидов изофлавонов и птерокарпанов (**1** – **7**) после упаривания составил 2,0 % в пересчете на сухие корни и 78 % в пересчете на сухой спиртовой экстракт.

Выделенный комплекс изофлавоноидов (**1** – **7**) обладал низкой токсичностью ($ЛД_{50}$ для крыс составляет 1000 мг/кг), не оказывал нежелательного действия при длительных введениях в желудок и парэнтерально.

В качестве препарата сравнения использовали Легалон®140 (Madaus AG, Германия). Лекарственная форма — капсулы (1 капсула Легалон-140 содержит 173 – 188,7 мг сухого экстракта из плодов расторопши пятнистой (*Silybum marianum*), эквивалентно 140 мг силимарина, рассчитанного из силибинина).

При определении химического состава ЭКМА среди биологически активных фракций доминирующими были изофлавоноиды, поэтому стандартизацию экстракта проводили по суммарному содержанию изофлавоноидов (**1** – **7**) и дозу вводимого вещества рассчитывали в мг суммы изофлавоноидов на 1 кг массы животного. Суммарное содержание изофлавоноидов составляло 77 мг в 100 мг экстракта корней маакии. Стандартизацию экстракта (качественный состав и количественное содержание изофлавоноидов (**1** – **7**) проводили методом ВЭЖХ на приборе Agilent Technologies серии 1100, оснащенном детектором VWD при λ 280 нм и колонкой Hypersil BDS-C-18 (5 мкм, 250 × 5 мм). Условия проведения ВЭЖХ анализа, применительно к изофлавоноидам, приведены в [10]. Коэффициенты корреляции (К) и времена удержания (t_R) для соединений **1** – **7** были трехкратно измерены для всех стандартных соединений по отношению к дигидрокверцетину и использованы для количественной оценки и содержания изофлавоноидов **1** – **7** в ЭКМА.

Эксперимент проводили на 50 белых крысах-самцах линии Вистар массой 200 – 220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария при естественном освещении и постоянной температуре 20 – 22 °C. Интоксикацию животных (крысы) четыреххлористым углеродом (CCl_4) осуществляли согласно руководству для проведения доклинических испытаний новых фармакологических препаратов [5]. Крысам внутрижелудочно вводили 50 % масляный раствор CCl_4 из расчета 1,25 мл/кг в течение 4 сут. Контрольным животным вводили оливковое масло в сопоставимом объеме. Предварительно освобожденный от спирта экстракт корней маакии и легалон животным вводили внутрижелудочно через зонд в дозе 200 мг/кг в виде взвеси в 1 % крахмальном клейстере. Доза 200 мг/кг соответствует терапевтической дозе полифенольных гепатопротекторов [1]. В ходе эксперимента были выделены следующие группы животных по 10 крыс в каждой: 1-я — контроль; 2-я — внутрижелудочное введение через зонд CCl_4 в течение 4 сут; 3-я — введение CCl_4 в течение 4 сут с последующей отменой (депривация) в течение 7 дней; 4-я — депривация и введение экстракта корней в течение 7 сут, 5-я — депривация и введение легалона в течение 7 сут. Крыс выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых

Таблица 1. **Влияние экстракта из корней Маакии амурской и легалона на показатели антиоксидантной, антирадикальной защиты и перекисного окисления липидов в крови крыс после интоксикации четыреххлористым углеродом (*M* ± *m*)**

Показатель	1-я группа контроль	2-я группа CCl_4	3-я группа Депривация (отмена CCl_4)	4-я группа Депривация + ЭКМА	5-я группа Депривация + легалон
АРА, ед. тролокса/мл плазмы	10,70 ± 0,44	6,58 ± 0,21[3]	7,17 ± 0,23[3]	10,30 ± 0,16[в, г]	9,50 ± 0,25[в]
МДА, нмоль/мл плазмы	5,43 ± 0,30	7,27 ± 0,15[3]	8,61 ± 0,19[3]	5,36 ± 0,06[в]	5,40 ± 9,11[в]
СОД, усл. ед.	719 ± 7,6	255 ± 6,5[3]	234,7 ± 7,5[3]	628 ± 7,0[3, в,г]	591 ± 12[3, в]
ГП, мкмоль НАДФН/мин/мл плазмы	170 ± 2,7	137 ± 2,2[2]	130 ± 2,0[3]	170 ± 2,4[в, д]	157 ± 2,9[2, в]
ГР, нмоль/мин/мл плазмы	15,50 ± 0,82	8,16 ± 0,45[3]	7,61 ± 0,47[3]	13,00 ± 0,80[1, в,е]	8,0 ± 0,61[3]
ВГ, мкмоль/г гемоглобина	6,12 ± 0,13	3,83 ± 0,16[3]	3,45 ± 0,12[3]	6,85 ± 0,16[2, в,д]	6,10 ± 0,15[в]

Примечание. Здесь и в табл. 2 различия статистически значимы по сравнению:
с контролем: [1] — $p < 0,05$; [2] — $p < 0,01$; [3] — $p < 0,001$;
с 3-й группой: [а] — $p < 0,05$; [б] — $p < 0,01$; [в] — $p < 0,001$;
с 5-й группой: [г] — $p < 0,05$; [д] — $p < 0,01$; [е] — $p < 0,001$.
ЭКМА — экстракт корней Маакии амурской, АРА — антирадикальная активность, МДА — малоновый диальдегид, СОД — супероксиддисмутаза, ГП — глутатионпероксидаза, ГР — глутатионредуктаза, ВГ — восстановленный глутатион.

для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Исследование одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В. И. Ильичева ДВО РАН.

Кровь для исследований собирали из шейной вены животных в вакуэты с 1 % раствором гепарина. Выделение эритроцитов из крови проводили стандартным способом, определение их осмотической резистентности к изменению концентрации NaCI выполняли по методу [8]. Печень после извлечения промывали в физиологическом растворе и использовали для исследования биохимических параметров. Состояние антиоксидантной системы крови оценивали по величине антирадикальной активности [15], активности супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1) [14], глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2) [13], глутатионпероксидазы (ГП, КФ 1.11.1.9) [9], уровня восстановленного глутатиона (ВГ) и малонового диальдегида (МДА) [3]. Экстракты общих липидов из ткани печени готовили по методу J. Folch и соавт. [11]. Фракционное разделение фосфолипидов осуществляли методом двумерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле, а их количественное определение по методу V. E. Vaskovsky и соавт. [16]. Содержание отдельных фракций фосфолипидов выражали в процентах от их общего количества. Полученные данные обрабатывали с помощью параметрического t-критерия Стьюдента, используя статистическую программу Instat (Graph Pad Software Inc. USA, 2005) со встроенной процедурой проверки соответствия выборки закону нормального распределения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Введение CCl_4 в течение четырех дней вызвало у животных типичную картину токсического гепатита с изменением биохимических показателей, характеризующих уровень свободнорадикальных процессов. Так, в ткани печени отмечали увеличение содержания МДА на 34 % ($p < 0{,}001$), по сравнению с контролем (табл. 1), что свидетельствует об активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), индуцированного образованием свободных радикалов из CCl_4. Образующийся при метаболизме ксенобиотика в системе цитохрома Р-450 трихлорметильный радикал, в свою очередь, реагирует с кислородом с образованием еще более токсичного трихлорметилпероксильного радикала [17]. Высокая активность процессов ПОЛ при интоксикации CCl_4 свидетельствует о нарушениях в клеточной системе антиоксидантной защиты, выражающихся в снижении уровня ВГ (на 37 %; $p < 0{,}001$) и антирадикальной активности (АРА) в крови (на 40 %; $p < 0{,}001$) по отношению к контрольным показателям. Одновременно отмечали снижение активности ферментов глутатионового звена — ГП на 20 % ($p < 0{,}001$) и ГР на 47 % ($p < 0{,}001$). Также достоверно ниже контроля (в 2,8 раз) была активность СОД, являющегося главным инактиватором супероксид-анион радикала [2]. Такие нарушения в представленных показателях системы антиоксидантной защиты при интоксикации CCl_4, можно расценивать как ее истощение.

Высокая активность ПОЛ приводит к изменениям в соотношении фосфолипидных фракций гепатоцитов и, соответственно, меняется проницаемость их мембран. В фосфолипидном спектре печени (табл. 2) среди холинсодержащих фракций необходимо отметить достоверное снижение уровня фосфатидилхолина (ФХ) на 6 % ($p < 0{,}01$) при одновременном увеличении лизофосфатидилхолина (ЛФХ) на 36 % ($p < 0{,}001$) и сфингомиелина (СМ) на 26 % ($p < 0{,}05$). ФХ преимущественно входит в структуру наружного монослоя мембран и является преобладающим в спектре фосфолипидов. Известно, что при активации свободнорадикальных процессов в первую очередь подвергаются окислению полиненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов, что и вызывает уменьшение содержания ФХ в структуре мембран.

Среди этаноламиновых фракций следует отметить снижение количества фосфатидилэтаноламина (ФЭ) на 10 % ($p < 0{,}05$), фосфатидилсерина (ФС) на 23 % ($p < 0{,}01$) и увеличение доли лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ) на 50 % ($p < 0{,}001$). Повышение содержания лизофракций фосфолипидов (ЛФХ и ЛФЭ) обусловлен повышением активности фосфолипазы A_2 [12]. Накопление лизофракций фосфолипидов в мембране гепатоцитов способствует повышению проницаемости их мембран.

Таблица 2. **Влияние экстракта из корней Маакии амурской и легалона на фосфолипидный спектр ткани печени крыс после интоксикации четыреххлористым углеродом (в % от суммы фракций; $M \pm m$)**

Фракция	1-я группа Контроль	2-я группа CCl_4	3-я группа Депривация (отмена CCl_4)	4-я группа Депривация + ЭКМА	5-я группа Депривация + легалон
ФХ	45,14 ± 0,57	42,31 ± 0,79[2]	41,19 ± 0,82[3]	46,02 ± 0,63[а]	44,78 ± 0,86[б]
ЛФХ	4,61 ± 0,20	6,28 ± 0,27[3]	7,40 ± 0,15[3]	3,82 ± 0,25[1, в]	4,43 ± 0,29[в]
СМ	7,70 ± 0,46	9,67 ± 0,69[1]	11,43 ± 0,56[3]	7,50 ± 0,16[в]	7,62 ± 0,31[в]
ФЭ	22,57 ± 0,73	20,23 ± 0,73[1]	19,90 ± 0,54[2]	22,63 ± 0,88[а]	22,35 ± 0,69[а]
ЛФЭ	3,41 ± 0,14	5,11 ± 0,13[3]	5,80 ± 0,22[3]	3,25 ± 0,17[в]	3,71 ± 0,23[в]
ФС	4,28 ± 0,23	3,28 ± 0,13[2]	3,40 ± 0,10[2]	4,13 ± 0,30[а]	4,88 ± 0,21[в]
ФИ	4,86 ± 0,11	3,86 ± 0,11[3]	3,44 ± 0,08[3]	5,10 ± 0,07[в]	4,87 ± 0,15[3]
ФК	2,99 ± 0,09	5,89 ± 0,18[3]	4,21 ± 0,07[3]	2,61 ± 0,10[1, в,д]	3,07 ± 0,12[в]
ДФГ	4,44 ± 0,14	3,37 ± 0,07[3]	3,23 ± 0,12[3]	4,94 ± 0,07[2, в,е]	4,29 ± 0,10[в]

Примечание. ФХ — фосфатидилхолин, ЛФХ — лизофосфатидилхолин, СМ — сфингомиелин, ФЭ — фосфатидилэтаноламин, ЛФЭ — лизофосфатидилэтаноламин, ФС — фосфатидилсерин, ФИ — фосфатидилинозитол, ФК — фосфатидная кислота, ДФГ — дифосфатидилглицерин.

Компенсаторной реакцией на повышение проницаемости мембран является увеличение количества сфингомиелина, являющегося совместно с холестерином ее стабилизатором. Подтверждением высокой активности фосфолипаз при интоксикации CCl_4 является увеличение количества фосфатидной кислоты (ФК), которая служит основой для синтеза фосфолипидов. Снижение количества дифосфатидилглицерина (ДФГ) на 24 % ($p < 0{,}001$) определяет нарушение в системе фосфорилирования и синтеза АТФ, так как этот фосфолипид является маркером митохондрий и необходим для функционирования ферментов дыхательной цепи.

Подтверждением происходящих изменений в мембранах под действием CCl_4, является повышение проницаемости мембран эритроцитов, выявленное при определении их осмотической резистентности к изменению концентрации NaCl. Результаты исследования показали сдвиг начала и окончания гемолиза к более высоким концентрациям NaCl (соответственно, 0,65 и 0,6 % против 0,45 и 0,35 % в контроле, $p < 0{,}001$). То есть, из-за высокой проницаемости мембран эритроцитов произошло раннее начало и раннее завершение гемолиза, что свидетельствует о низкой устойчивости мембран к гемолизирующему агенту.

Таким образом, интоксикация CCl_4 вызывает не только истощение антиоксидантной защиты, но и оказывает непосредственное воздействие на клеточные мембраны, повышая их проницаемость.

Через 7 сут после отмены CCl_4 (период депривации) в печени подопытных животных (3-я группа) большинство изученных биохимических параметров не достигло нормы, более того, отмечено еще большее их отклонение от контрольных величин, что свидетельствует о продолжающемся токсическом стрессе и недостаточности собственных защитных сил противостоять развитию токсической патологии. Так, состояние антиоксидантной системы в период депривации характеризовалось еще более низкой активностью СОД, ГР и ГП при одновременном сниженном уровне ВГ (табл. 1). То есть, в период депривации из-за истощения собственной антиоксидантной защиты, окислительный стресс продолжается. При этом количество МДА в период депривации возросло (на 17 %; $p < 0{,}001$) по отношению к показателям 2-й группы, что определяет сохранение высокой активности ПОЛ. В то же время отмечали повышение величины АРА в плазме крови относительно 2-й группы, что, вероятно, обусловлено прекращением поступления ксенобиотика в организм.

Анализ фракционного состава фосфолипидов печени в период отмены CCl_4 показал (табл. 2), что содержание ЛФХ и ЛФЭ стало еще выше. Это свидетельствует о дальнейшем усилении ПОЛ и активности фосфолипаз. Содержание основных структурных компонентов мембран гепатоцитов — ФХ и ФЭ претерпело дальнейшее снижение, по сравнению со 2-й группой, а по сравнению с контролем достоверно снизилось в среднем на 9 – 12 % ($p < 0{,}01 – 0{,}001$). Количество фосфатидилинозитола (ФИ) и ДФГ, необходимых для функционирования мембраносвязанных ферментов, снизилось еще больше, чем соответствующие показатели во 2-й группе. При этом количество СМ стало выше (на 48 % по сравнению с контролем; $p < 0{,}001$), что, вероятно, обусловлено компенсаторной реакцией на нарушение проницаемости мембран.

В 3-й группе животных заметна тенденция к повышению осмотической резистентности эритроцитов. Так, начало гемолиза происходило при концентрации 0,60 ± 0,01 % NaCl, а завершение при 0,50 ± 0,01 % NaCl. Однако полного восстановления устойчивости мембран к гемолизирующему агенту в период отмены CCl_4 еще не происходит, по-видимому, из-за пониженной активности восстановительных процессов.

Таким образом, результаты анализа полученных биохимических параметров печени и крови в период депривации указывают на продолжающиеся и углубляющиеся нарушения метаболических реакций даже в отсутствие токсического агента.

При введении животным в период отмены CCl_4 ЭКМА и препарата сравнения легалон (4-я и 5-я группы) отмечали нормализацию большинства изученных биохимических показателей. Исследование величин антирадикальной и антиоксидантной систем защиты при введении препаратов выявило увеличение активности СОД, ГП и количества ВГ относительно соответствующих показателей в 3-й группе (депривация). Нормализация активности ГР отмечена только в группе животных, леченных ЭКМА. При сравнении этих показателей с таковыми у контрольных животных следует отметить еще не полное восстановление активности антиоксидантных ферментов, так как их значения были ниже контрольных, в среднем, на 12 – 17 % ($p < 0{,}001$). По нашему предположению антиоксидантную и антирадикальную функцию могли взять на себя растительные полифенолы и изофлавоноиды, входящие в состав препаратов, как физиологически совместимые антиоксиданты [4] и «ловушки» свободных радикалов. При сравнении показателей ПОЛ мембран (МДА) в 4-й и 5-й группах следует отметить их полную нормализацию. В то же время относительно 3-й группы (депривация) уровень МДА был снижен, в среднем, на 50 % ($p < 0{,}001$). Исследование осмотической резистентности эритроцитов у крыс в 4-й группе показало, что введение ЭКМА вызывало сдвиг границ осмотической устойчивости. Так, начало гемолиза происходило при 0,40 ± 0,01 % NaCl, а завершение гемолиза при 0,30 ± 0,01 % NaCl. При введении легалона (5-я группа) начало гемолиза происходило при 0,45 ± 0,01 % NaCl, а его завершение при 0,35 ± 0,01 % NaCl, то есть ЭКМА и легалон способствовали восстановлению этого показателя до контрольного уровня.

При анализе спектра фосфолипидов в ткани печени животных 4-й и 5-й групп с таковым в контроле показано, что введение легалона нормализовало исследуемые параметры. В то же время, при введении ЭКМА происходит не только восстановление параметров до референсных значений, но достижение более низкого значения концентраций дестабилизирующих вязкостные свойства мембран фракций — ЛФХ и ФК. По-видимому, ЭКМА, содержащий гликозиды изофлавонов и птерокарпанов (**1** – **7**) более эффективно способствует синтезу ФХ из

ЛФХ и ФК, чем легалон, что подтверждается более высоким уровнем ФХ в 4-й группе (46,02 ± 0,63%) (табл. 2).

Можно сделать вывод о том, что действие ЭКМА и легалона было практически идентичным, но по ряду показателей экстракт, в состав которого входят изофлавоноиды (**1** – **7**) превосходит эталонный препарат сравнения легалон.

ВЫВОД

Экстракт из корней Маакии амурской, содержащий даидзин (1), 7-О-гентиобиозиды изофлавонов (2 – 5) и птерокарпанов (6 – 7), при внутрижелудочном введении в дозе 200 мг/кг крысам с экспериментальным CCl_4-гепатитом демонстрирует выраженные антиоксидантные, гепатозащитные свойства и по отдельным параметрам антирадикальной активности превосходит препарат сравнения легалон на 8 – 40 % ($p < 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. А. И. Венгеровский, И. В. Маркова, А. С. Саратиков, *Ведомости фарм. комитета*, № 2, 9 – 12 (1999).
2. А. В. Максименко, *Хим.-фарм. журн.*, **41**(5), 3 – 12 (2007).
3. Т. П. Новгородцева, Э. А. Эндакова, В. И. Янькова, *Руководство по методам исследования параметров системы "Перекисное окисление липидов — антиоксидантная защита" в биологических жидкостях*, ДВГУ, Владивосток (2003).
4. В. Е. Новиков, О. С. Левченкова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **76**(5), 37 – 47 (2013).
5. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Р. У. Хабриев (ред), Медицина, Москва (2005).
6. А. С. Саратиков, В. С. Чучалин, А. В. Ратькин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **68**(2), 51 – 54 (2005).
7. С. А. Федореев, Н. И. Кулеш, Л. И. Глебко и др., *Хим.-фарм. журн.*, **38**(11), 22 – 26 (2004).
8. Б. Л. Эндрю, *Экспериментальная физиология*, Мир, Москва (1972).
9. R. F. Burk, R. A. Lawrence, J. M. Lane, *J. Clin. Invest.*, **65**(5), 1024 – 1031 (1980).
10. S. A. Fedoreyev, V. P. Bulgakov, O. V. Grishchenko, et al., *J. Agric. Food Chem.*, **56**(16), 7023 – 7031 (2008).
11. J. Folch, M. Less, G. H. Sloane-Stanley, *Biol. Chem.*, **226**, 497 – 509 (1957).
12. E. A. Glende, R. O. Recknagel, *Toxicol Appl. Pharmacol.*, **113**(1), 159 – 162 (1992).
13. D. M. Goldberg, R. J. Spoone., *Methods of enzymatic analysis*, H. U. Bergmeyer (ed. in-chive), Weinheim; Deerfield Beach, Florida; Basel, 3, (1983), 258 – 265.
14. F. Paoletty, D. Adinucci, A. Mocali, A. Caparrini, *Analytical biochemistry*, **154**(2), 536 – 541 (1986).
15. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **26**(9 – 10), 1231 – 1237 (1999).
16. V. E. Vaskovsky, E. Y. Kostetsky, I. M. Vasenden, *J. Chromatography*, **114**(1), 129 – 141(1975).
17. L. M. Weber, M. Boll, A. Stampfl, *Crit. Rev. Toxicol.*, **33**(2), 105 – 136 (2003).

Поступила 08.11.13

HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES OF ISOFLAVONOIDS FROM ROOTS OF *MAACKIA AMURENSIS* ON EXPERIMENTAL CARBON TETRACHLORIDE-INDUCED HEPATIC DAMAGE

N. F. Kushnerova[1,3], S. A. Fedoreev[2], S. E. Fomenko[1], V. G. Sprygin[1], N. I. Kulesh[2], N. P. Mishenko[2], M. V. Veselova[2], and T. V. Momot[3,4]

[1] Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, ul. Baltiiskaya 43, Vladivostok, 690041, Russia.
[2] Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, pr. Stoletiya Vladivostoka 159, Vladivostok, 690022, Russia.
[3] School of Biomedicine, Far East Federal University, ul. Sukhanova 8, Vladivostok, 690091, Russia.
[4] Institute of Marine Biology, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, ul. Pal'chevskogo 17, Vladivostok, 690041, Russia

Hepatoprotective properties of ethanol extract from the roots of *Maackia amurensis* Ruper et Maxim have been studied on the model of toxic hepatitis induced by carbon tetrachloride damage. It is established that the extract contains daidzein, 7-O-gentobiosides of isoflavonoids genistein, formononetin, pseudobabtigenin, and 5-O-methylgenistein, and 3-O-gentobiosides of pterocarpans (6aR,11aR)-maakiain and (6aR,11aR)-medicarpin. The administration of extract facilitates the restoration of antioxidant protection enzymes activity and reduced glutathione level, decreases the formation of toxic peroxidation products, produces normalizing impact on liver phospholipid pattern, and improves the erythrocyte tolerance to hemolytic agents. The action of isoflavonoids from *Maackia amurensis* in restoration of metabolic pathways of the liver and removal of toxic stress was more effective as compared to that of the reference hepatoprotector legalon.

Keywords: carbon tetrachloride; antioxidant protection of liver; extract of *Maackia amurensis* roots; isoflavonoids; legalon