

РАЗДЕЛ I

ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ В КЛИНИКЕ ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ

РЕСВЕРАТРОЛ КАК ФАКТОР КОРРЕКЦИИ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ В МЕСТНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ИСТОЧНИКАХ

*Железняк Н.В., Генералова А.Г., Моисеева А.М., Генералов И.И.
Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
г. Витебск*

Введение. Фитоалексин ресвератрол (*trans*-3,4',-5-тригидроксис-тильбен) относится к группе растительных полифенолов. Он обладает широким спектром биологической активности, оказывает ряд эффектов препятствующих развитию дисфункции эндотелия.

На молекулярном уровне эндотелиопротективное действие ресвератрола обусловлено его способностью стимулировать синтез оксида азота (NO) посредством индукции фермента NO-синтазы [1]. Благоприятное действие ресвератрола на эндотелий связано и с его противовоспалительными свойствами. Ресвератрол снижает экспрессию провоспалительных цитокинов в эндотелии сосудов, ингибирует активность фактора некроза опухоли (ФНО- α) и С-реактивного белка в плазме крови [3], регулирует фактор транскрипции NF- κ B. Ингибируя активность липооксигеназы и циклооксигеназы, ресвератрол снижает синтез метаболитов арахидоновой кислоты [2]. Угнетает перекисное окисление липидов, подавляет агрегацию тромбоцитов. При экспериментальной гиперхолестеринемии у кроликов вводимый ресвератрол блокировал АДФ-индуцированное бляшкообразование в сосудах.

Ресвератрол оказывает модулирующий эффект на ангиогенез, угнетает образование новых сосудов в опухолевой ткани, однако усиливает их образование при хронической ишемии в миокарде [5].

Ресвератрол может быть использован с целью профилактики микро и макроангиопатий при сахарном диабете и метаболическом синдроме, так как стимулирует экспрессию гена SIRT1, который играет ключевую роль в регуляции обмена липидов и глюкозы, контролирует секрецию инсулина, воспаление, оксидативный стресс и эндотелиальные функции [4].

Несмотря на потенциально высокую терапевтическую ценность ресвератрола, до сих пор не изучалось его содержание в местных растениях и нутриентах, доступных в Республике Беларусь. На сегодняшний день основным растительным источником ресвератрола является горец гребенчатый (*Polygonum cuspidatum*), на территории Беларуси не произрастающий.

Таким образом, целью настоящей работы явилось определение содержания ресвератрола в местных растительных источниках и разработка методов получения растительных извлечений, обогащенных по ресвератролу.

Материалы и методы исследований. В качестве стандарта для экспериментов использовали субстанцию транс-ресвератрола производства Sigma, США. Качественный и количественный анализ ресвератрола проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на хроматографе Agilent с использованием колонок Zorbax StableBond 5 мкм 250x4,6 мм с диодно-матричным детектированием. Концентрацию ресвератрола в спиртовых и водных растворах определяли спектрофотометрией на 307 нм (максимум поглощения ресвератрола).

В качестве сырья для экстракции ресвератрола использован ряд растительных биоматериалов. К ним относились: (1) разные сорта красного винограда, выращенного в Республике Беларусь и Республике Молдова (свежие ягоды, высушенная измельченная кожура, измельченные высушенные косточки), виноградные соки, красные виноградные вина, полученные из разных сортов винограда; (2) различные виды дикорастущих и культивируемых ягод, собранных в Республике Беларусь (черника, ежевика, клюква, желтый и красный крыжовник, черная и красная смородина, шелковица, земляника, облепиха и др.); (3) другое пищевое сырье – ревень, фасоль, горох, лук репчатый красный, соевые бобы (производство Российской Федерации); (4) лекарственное растительное сырье – высушенная и измельченная трава и корни некоторых видов семейства *Polygonaceae* рода *Polygonum* – горца перечного, горца почечуйного, горца змеиного, горца татарского, горца птичьего.

Были изучены различные варианты предварительной экстракции ресвератрола из образцов сырья. После проведенных экспериментов было выявлено, что оптимальным способом является использование 70% водного раствора этанола в течение 1 ч при $t = 95^{\circ}\text{C}$.

Дальнейшее фракционирование первичных этанольных экстрактов проводили, используя микроколоночный вариант обращенно-фазовой хроматографии на агарозной С8-матрице (октил-агароза пр-ва “Sigma”, США) или силикагелевой матрице Диасорб С8 и С16 («Биохиммак», Москва).

Результаты и их обсуждение. Удалось установить, что ресвератрол содержится лишь в сравнительно небольшом количестве растительных источников, доступных в Республике Беларусь. Среди пищевого сырья к ним относится кожура ягод винограда красных сортов и, в меньшей степени, ягоды черники. Нами не был обнаружен ресвератрол в экстрактах из клюквы, малины, брусники, других ягод, соевых бобах, другом пищевом сырье, хотя на это указывают некоторые литературные источники. В исследованных образцах винограда белорусского происхождения (промышленный сорт Альфа) содержание ресвератрола в целом невелико (~0,5 мкг/мл экстракта). Среди различных видов горцев, встречающихся на территории

Республики Беларусь, к лекарственным растениям отнесены горец птичий и горец перечный. Однако в извлечениях из этих видов растений, равно как из горца почечуйного и змеиноного, ресвератрол не обнаруживался.

Повышенное содержание ресвератрола было выявлено в этанольных экстрактах из корня горца татарского. В отдельных образцах доля гликозилированного соединения составляла 10% и более. Обычное содержание ресвератрола в спиртовых извлечениях из корня горца татарского находилось в пределах 2-5%.

Дальнейшее обогащение экстрактов по ресвератролу при помощи обращенно-фазовой ВЭЖХ на октил-агарозе (С8-агарозе) привело к увеличению содержания ресвератрола в 10 раз по сравнению с исходным количеством. Меньший уровень обогащения достигался при использовании обращенно-фазовых матриц на основе силикагеля – Диасорба С16 и С8. В последнем случае наблюдалось увеличение концентрации соединения ~ в 3 раза.

Разработанные методики позволили получить растительные извлечения, обогащенные по ресвератролу. Определены оптимальные условия для хроматографического разделения ресвератрол-содержащих растительных фракций (обращенно-фазовая хроматография на С8- или С16-матрицах со ступенчатой элюцией этанолом).

Повышенное содержание ресвератрола установлено в кожуре различных сортов красного винограда и корнях горца татарского, что делает данные виды растений перспективными в качестве сырья для последующего его извлечения. В дальнейшем нами планируется оценка биологической и медицинской активности полученных ресвератрол-содержащих компонентов, что может служить основой для создания препаратов на основе ресвератрола с целью коррекции дисфункции эндотелия.

Литература

1. Frombaum, M. Antioxidant effects of resveratrol and other stilbene derivatives on oxidative stress and NO bioavailability: Potential benefits to cardiovascular diseases / M. Frombaum // *Biochimie.* – 2011. – Nov 22.
2. Pace-Asciak, C.R. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: Implications for protection against coronary heart disease / C.R. Pace-Asciak // *Clin. Chim. Acta.* – 1995. – № 235. – P. 207–219.
3. Pendurthi, U.R. Resveratrol, a polyphenolic compound found in wine, inhibits tissue factor expression in vascular cells: A possible mechanism for the cardiovascular benefits associated with moderate consumption of wine / U.R. Pendurthi, J.T. Williams, L.V. Rao // *Arterioscler. Throm. Vasc. Biol.* – 1999. – № 19. – P. 419–426.
4. Vetterli, L. Resveratrol-activated SIRT1 in liver and pancreatic β -cells: a Janus head looking to the same direction of metabolic homeostasis / L. Vetterli, P. Maechler // *Aging (Albany NY).* – 2011. – Vol. 3. – № 4. – P. 444–449.
5. Usta, E. Resveratrol suppresses apoptosis in intact human cardiac tissue – in vitro model simulating extracorporeal circulation / E Usta // *J. Cardiovasc. Surg.* – 2011. – Vol. 52. – № 3. – P. 399–409.