

ферментів, що свідчить про зниження стабільності мембран лізосом при бактеріальному кератиті в рогівці.

3. Встановлено значне збільшення співвідношення неседиментуючої активності кислоти фосфатази і катепсину Е в рогівці кроликів із бактеріальним кератитом до зв'язаної активності цих ферментів, що свідчить про дестабілізацію лізосомальних мембран, зумовлену запаленням.

4. Лікувальне застосування 20 % сульфацил-гумінату при бактеріальному кератиті у кроликів сприяло нормалізації біохімічних показників у плазмі крові та стабілізації лізосомальних мембран рогівки порівняно з 20 % сульфацилом натрію.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. *О природе действующего начала физиологически активных гуминовых кислот* / Г. А. Баталкин, А. М. Галушка, Л. Ю. Махно, Л. А. Христова // Труды Междунар. симп. IV и II комиссий МТО. — Минск, 1982. — С. 115-119.

2. *О мембранной активности некоторых фракций гумусовых веществ* / Г. А. Баталкин, М. М. Коганов, Л. Ю. Махно, В. А. Реутов // Гуминовые удобрения: Теория и практика их применения. — Днепропетровск: Изд-во Днепропетр. с.-х. ин-та, 1980. — Т. 7. — С. 67-73.

3. *Горова А. И., Орлов Д. С., Щербенко О. В.* Гуминовые вещества. — К.: Наук. думка, 1995. — 300 с.

4. *Дингл Дж.* Лизосомы. Методы исследования. — М.: Мир, 1980. — 342 с.

5. *Лотош Т. Д.* Гумат натрия из торфа как фактор повышения неспецифической резистентности организма: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Львов, 1985. — 19 с.

6. *Меньшиков В. В.* Лабораторные методы исследования в клетке. — М.: Медицина, 1987. — 366 с.

7. *Мусил Я.* Основы биохимии патологических процессов. — М.: Медицина, 1985. — 416 с.

8. *Покровский А. А., Тутельян В. Н.* Лизосомы. — М.: Наука, 1976. — 382 с.

9. *Посохова А. Н.* Экспериментальное медико-биологическое обоснование пищевого использования гумата натрия: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Владивосток, 2004. — 25 с.

10. *Саркисов Д. С., Пальцев М. А., Хитров Н. К.* Общая патология че-

ловека. — М.: Медицина, 1977. — 605 с.

11. *Декларацийний патент на винахід № 64624А.* Очні краплі (Україна) / О. П. Сотнікова, В. Й. Салдан, Т. Д. Лотош та ін. Заявл. Опубл. 16.02.04. — Бюл. № 2.

12. *Влияние сочетанного применения глазных капель сульфацила натрия и гумината на стабилизацию лизосомальных мембран роговицы и плазмы крови в эксперименте* / Е. П. Сотникова, Н. Ф. Леус, Т. Д. Лотош и др. // Тези X з'їзду офтальмологів України. — Одеса, 2002. — С. 57-58.

13. *Експериментальне обґрунтування лікувальної ефективності і нешкідливості нових очних крапель 20 % сульфацил-гумінату і 0,1% гумінату* / О. П. Сотнікова, В. Й. Салдан, В. Л. Осташевський та ін. // Одес. мед. журнал. — 2005. — № 5. — С. 44-48.

14. *Юрин В. М., Желяева Т. Г., Кособокова Р. В.* Модификация ионной проницаемости протоплазматической мембраны клеток *Nitella* под действием физиологически активных соединений торфа // Труды Междунар. симп. IV и II комиссий МТО. — Минск, 1982. — С. 83-87.

15. *Liske K.* Untersuchungen über die Verwendbarkeit von Kohler als Dungemittel // *Brennstoff-chemie.* — 1931. — Vol. 1, N 81. — S. 426.

УДК 612.386:664.3.033.1:615.322

О. В. Сторчило, О. А. Багірова

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕМУЛЬГАТОРІВ НА ВСМОКТУВАННЯ ГЛЮКОЗИ І ГЛІЦИНУ В ПРИСУТНОСТІ ДЕЯКИХ РОСЛИННИХ ЕКСТРАКТІВ ТА ЇХ ФРАКЦІЙ

Одеський державний медичний університет

### Вступ

Повноцінне всмоктування в тонкій кишці екстрактів рослин, що містять жири та жиророзчинні компоненти, суттєво залежить від емульгуючого впливу жовчі. Як поверхнево-активні речовини у тонкій киш-

ці використовуються солі жовчних кислот і продукти неповного гідролізу триацилгліцеролів та фосфоліпідів, але головна роль у цьому процесі належить жовчним кислотам. Вони надходять до тонкої кишки у вигляді кон'югатів із гліцином

або таурином [1]. Жовч виконує багато функцій в організмі: емульгує жири їжі, що переводить їх у водорозчинну форму, активує ліпазу, яка перетравлює ліпіди, полегшує транспорт ліпідів через стінку тонкої кишки в кров та ін.



Деякі компоненти їжі також можуть знижувати поверхневий натяг на межі розподілу ліпідної та водної фаз, діючи подібним до жовчі чином. Так, утворенню жирових міцел сприяють білки їжі, а також речовини рослинного походження, які належать до класу сапонінів [2].

Поверхнево-активні речовини (ПАР) натурального походження мають м'яку емульгуючу дію і не можуть виконувати функції детергентів. У біотехнологічному процесі та лабораторних процедурах широко використовуються неіонні детергенти синтетичного походження для солюбілізації ферментів глікокаліксу та мембранозв'язаних ферментів мембрани щіткової облямівки ентероцитів. Найбільш жорстку дію мають іонні детергенти, вони добре розчиняють забруднення і видаляють їх, але спричинюють деструкцію мембран епітелію. Таку ж дію на мембрани щіткової облямівки ентероцитів спричинюють синтетичні м'які речовини при поглинанні їх із забрудненою питною водою [3]. Поверхнево-активні речовини можуть модифікувати процеси травлення та всмоктування їжі, а також фармацевтичні ефекти ліків, які надходять до організму пероральним шляхом.

Останнім часом зростає інтерес до препаратів, отриманих на основі розторопші плямистої *Silybum marianum* (L.) Gaertner [4–5]. Так, на основі її флаволігнанів створено гепатопротекторні препарати «Карсил», «Легалон», «Силібор»; олію з плодів розторопші використовують як гіполіпідемічний засіб при гіпертонічній хворобі та ішемічній хворобі серця. Але, незважаючи на пероральне використання препаратів із розторопші плямистої, наразі не досліджено вплив комплексного препарату розторопші плямистої на функціональну активність тонкої кишки в нормі та за умов надходження до тонкої кишки ПАР — промислових емульгаторів.

**Метою** роботи стало порівняння в експерименті *in vitro* впливу натурального емульгатора (жовчі) і синтетичного неіонного детергента (твін-80) на ефекти екстрактів плодів розторопші плямистої (сумарного, жирової фракції та «Легалону», який являє собою її знежирений екстракт) і квіток календули, яку було використано як препарат порівняння.

#### **Матеріали та методи дослідження**

Досліди проведені на дво-місячних щурятах-самцях лінії Вістар, що утримувалися на стандартному раціоні віварію і були позбавлені їжі протягом 18–24 год перед експериментом. Акумуляційний препарат слизової оболонки (АПС) виготовляли за методом О. М. Уголева і співавторів [6]. Як субстрати використовували розчини 10 ммоль/л глюкози або 10 ммоль/л гліцину, які виготовляли на розчині Рінгера рН=7,4. Інкубували АПС протягом 1 год при 37 °С в оксигенованому середовищі. У контрольних групах АПС як інкубаційне середовище використовували 10 ммоль/л розчин глюкози або 10 ммоль/л розчин гліцину, в інших групах до нього додавали висушений водно-спиртовий екстракт плодів розторопші плямистої *Silybum marianum* (L.) Gaertner або квіток календули (*Calendula officinalis* L.), приготовлені за методом [7], або легалон (70 мг/120 мл розчину субстрату), або олію розторопші (300 мг) відповідно. В одній серії експериментів до всіх середовищ для емульгування додавали по 3 краплі кролячої жовчі, в другій серії замість жовчі додавали 3 краплі твіну-80. Концентрацію глюкози визначали антроновим методом [8] колориметрично на КФК-2МП,  $\lambda = 625$  нм, а концентрацію гліцину — за методом [9] колориметрично на КФК-2МП,  $\lambda = 540$  нм.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за програмою "Primer Biostatistics".

#### **Результати дослідження та їх обговорення**

У відсутності в інкубаційному середовищі емульгаторів вірогідний інгібіторний ефект на акумуляцію гліцину в АПС проявлявся тільки під впливом екстракту квіток календули (на 37 %,  $P=0,005$ ) [10], тимчасом як у присутності жовчі ефект календули було виражено вдвічі слабкіше (14,4 %); у присутності твіну-80 відзначалося проміжне за величиною вірогідне зниження акумуляції субстрату під дією цього екстракту (25,6 %,  $P=0,017$ ; табл. 1). Серед препаратів розторопші вірогідний інгібіторний ефект на акумуляцію гліцину в АПС (20 %,  $P=0,045$ ) проявив тільки легалон у присутності жовчі, тимчасом як у присутності твіну-80 вірогідного ефекту не було. Слід зауважити, що в цій групі кишкових препаратів відхилення від середньої величини майже втричі перевищували такі у контрольній групі АПС; ще більш суттєві відхилення від середньої відмічені у групі АПС, які інкубувались у розчині гліцину з олією розторопші, що було емульсовано у твіні-80.

Це можна трактувати на користь того, що кожний з указаних компонентів у присутності твіну-80 справляє розбалансуючий вплив на функціонування транспортної системи для гліцину, при цьому середні величини акумуляції не відрізнялися від контрольних. Слід зазначити, що сумарний екстракт розторопші не справляв суттєвого впливу на відхилення від середньої величини акумуляції субстрату, тобто дестабілізуючий ефект виявляли тільки окремі компоненти розторопші, але не сумарний екстракт.

Інгібіторні ефекти екстракту календули, а також легалону на акумуляцію глюкози в АПС, відзначені у присутності жовчі, збігаються за спрямованістю з



Таблиця 1

**Акумуляція гліцину з його 10 ммоль/л розчину препаратами слизової оболонки тонкої кишки щурів у присутності екстрактів плодів розторопші, квіток календули, олії розторопші та препарату легалону,  $M \pm m$ , ммоль/(л·мг) вологості маси препарату,  $n=5$**

Субстрат				
Гліцин	Гліцин+ розторопша	Гліцин+олія розторопші	Гліцин+ легалон	Гліцин+ календула
I				
56,78±4,84	47,33±2,69	—	46,74±4,02	36,01±2,53 $P_{1-5} = 0,005$
II				
51,84±3,62	56,50±2,70	49,16±3,27	41,46±2,46 $P_{1-4} = 0,045$	44,38±1,17
III				
63,44±3,45	62,75±5,43	58,32±11,35	54,87±8,98	47,19±3,94 $P_{1-5} = 0,017$

*Примітка.* I — без емульгатора, дані отримано раніше [10], використано з метою порівняння.

II — в усі інкубаційні середовища додали жовч.

III — в усі інкубаційні середовища додали твін-80.

величинами, що були отримані за її відсутності [11], але відрізняються за абсолютними величинами (табл. 2).

Якщо зниження акумуляції глюкози під впливом екстракту розторопші у присутності жовчі становить 26 % і знаходиться

нижче межі вірогідності ( $P=0,07$ ), то за її відсутності рівень акумуляції вірогідно знижувався (на 38 %,  $P<0,001$ ; див. табл. 2). Вочевидь, ця відмінність зумовлена меншим ступенем емульгування і, відповідно, більш виразним поверхневим

Таблиця 2

**Акумуляція глюкози з її 10 ммоль/л розчину препаратами слизової оболонки тонкої кишки щурів у присутності екстрактів плодів розторопші, квіток календули, олії розторопші та препарату легалону,  $M \pm m$ , ммоль/(л·мг) вологості маси препарату,  $n=5$**

Субстрат				
Глюкоза	Глюкоза+ розторопша	Глюкоза+олія розторопші	Глюкоза+ легалон	Глюкоза+ календула
I				
42,70±2,04	26,46±1,67 $P_{1-2} < 0,001$	—	28,59±3,73 $P_{1-3} = 0,016$	17,12±1,36 $P_{1-5} < 0,001$
II				
47,85±3,62	35,24±1,97	41,76±5,57	32,29±3,55 $P_{1-4} = 0,036$	19,67±0,48 $P_{1-5} = 0,009$
III				
54,11±4,72	46,25±4,09	39,92±4,16 $P_{1-3} < 0,05$	48,06±7,44	54,41±5,64

*Примітка.* I — без емульгатора, дані отримано раніше [11], використано з метою порівняння.

II — в усі інкубаційні середовища додали жовч.

III — в усі інкубаційні середовища додали твін-80.

натягом на межі розподілу фаз «олія/вода» у складі екстракту розторопші за умов відсутності жовчі. Той факт, що величини гальмівного впливу легалону на акумуляцію глюкози у присутності жовчі та за її відсутності практично збігаються (32,5 %,  $P=0,036$  і 33 %,  $P=0,001$ ), також свідчить на користь того, що відмінності, отримані для сумарних екстрактів розторопші та календули, зумовлені саме взаємодією жовчі з їх ліпідною фракцією. Гальмівний вплив екстракту календули, яка містить значно менше ліпідів, на акумуляцію глюкози в АПС у присутності та у відсутності жовчі також дуже мало відрізнявся (59 %,  $P=0,009$  та 54 %,  $P=0,001$  відповідно, див. табл. 2). Олія розторопші у присутності жовчі не справляла вірогідного впливу на акумуляцію глюкози у кишкових препаратах.

У присутності твіну-80 вірогідне зниження рівня акумуляції глюкози в АПС відбувалося тільки під впливом олії розторопші (на 26 %,  $P<0,05$ ), тимчасом як під впливом екстрактів розторопші та календули і легалону не відбувалося вірогідних змін рівня акумуляції глюкози в кишкових препаратах порівняно з її акумуляцією в контрольній групі АПС (див. табл. 2). Звертає на себе увагу суттєве збільшення відхилень від середньої величини під впливом легалону у присутності твіну-80 порівняно з таким у контрольній групі АПС, що є непрямим доказом дестабілізації регуляторних процесів транспортних систем ентероцитів. У присутності жовчі й екстрактів розторопші та календули відхилення від середніх величин у групах АПС зменшувалось у кілька разів (що свідчить на користь їх стабілізуючого впливу на транспортні системи ентероцитів), але цей ефект не проявлявся у присутності легалону й олії розторопші у сполученні з жовчю. Такий вплив





екстракту розторопші на акумуляцію глюкози в АПС свідчить на користь його переваги перед використанням окремих фракцій цього препарату для корекції порушень регуляції транспортних систем ентероцитів.

Слід також припустити можливість участі білкової фракції екстракту розторопші в процесі емульгації його ліпідної фракції (за аналогією з роллю мінорних компонентів у створенні емульсій). Така емульсія має бути більш стабільною, як і, звичайно, наданий за її участі вплив на транспортні системи тонкої кишки. І навпаки, виходячи з цього припущення, найбільшу нестабільність повинна продемонструвати в експерименті олійна фракція екстракту. Саме такі закономірності спостерігалися нами за умов жорстко детермінованої моделі транспорту субстратів *in vitro*. За цих умов був відсутнім вплив таких регуляторних факторів, як FGF 15 (так званий фактор росту фібробластів) [12], що відповідає за обмеження секреції жовчних кислот печінкою і виконує сигнальну роль у взаємодії кишечника та печінки. Жовчні кислоти діють у кишці насамперед як емульгатори жирових фракцій їжі, водночас збільшують ліпофільність апікальних мембран ентероцитів і, таким чином, сприяють переносу через них утворених міцел. Синтетичні ПАР, насамперед твін-80, можуть бути використані як детергенти, що суттєво порушують структуру ліпідного бішару мембран і залучених до неї ферментативних і транспортних систем, навіть до фрагментації їх [13]. Дійсно, внесення твіну-80 до інкубаційного середовища змінювало ефекти біологічно активних речовин екстракту розторопші та його фракцій порівняно з таким у присутності жовчі й спричинювало дестабілізацію функціонування транспортних систем ентероцитів.

Згідно з даними літератури, твін-80 є токсичним при пероральному введенні [14]. Відомо, що ефект ПАР на процеси, які відбуваються на мембранах, реалізується шляхом впливу на кінетику гетерогенних фізико-хімічних процесів, що протікають у живих організмах [15]. Наразі вони впливають на мембранні процеси у тонкій кишці, що підтверджується даними про стимулювальний вплив ПАР на активність мальтази курчат [16] — можливо, за рахунок конформаційних змін білка ферменту. Оскільки ферментативні та транспортні системи мають близькі якості з точки зору кінетичних параметрів [17], то дані про вплив ПАР на функціональний стан ферментативних систем можуть бути з високим рівнем вірогідності екстрапольовані на транспортні системи.

Щодо практичного використання отриманих даних слід відмітити перевагу використання комплексних рослинних препаратів порівняно з їх окремими фракціями. Можливо, виходячи з цього, за умов тотального забруднення питної води синтетичними ПАР використання в терапевтичній практиці сумарного екстракту розторопші більш виправдано, ніж застосування її окремих компонентів.

Окрім того, на рівні організму ефект полікомпонентного препарату не відповідає сумі ефектів, які були надані кожним із його компонентів. Вочевидь, взаємодія окремих компонентів натурального комплексного препарату може відбуватись як на постабсорбтивному, так і преабсорбтивному рівні. Очевидно також, що при кожному процесі фракціонування комплексного препарату відбувається часткова зміна хімічних властивостей його складових, що не може не позначатися на їх біологічній активності.

Оскільки основні компоненти наведених комплексних

рослинних екстрактів (токоферолі, каротиноїди, флаволігнани, поліненасичені жирні кислоти, білки, амінокислоти, водорозчинні вітаміни) мають антиоксидантну активність, то наведені дані можуть бути використані для корекції станів, пов'язаних із забрудненням організму ПАР, прооксидантами та радіонуклідами.

## Висновки

1. У присутності жовчі транспорт глюкози з його 10 ммоль/л розчину в акумулюючі препарати слизової оболонки тонкої кишки щурів вірогідно гальмувався лише за наявності в інкубаційному середовищі легалону (на 20 %,  $P=0,045$ ). Транспорт глюкози з її 10 ммоль/л розчину вірогідно гальмувався за присутності в інкубаційному середовищі легалону (на 32,5 %,  $P=0,036$ ) або екстракту квіток календули (на 59 %,  $P=0,009$ ). Таким чином, у присутності жовчі в інкубаційному розчині за наявності легалону відбувалося гальмування транспорту як вуглеводного субстрату (глюкози), так і субстрату білкового походження (гліцину).

2. У присутності твіну-80 транспорт гліцину з його 10 ммоль/л розчину в АПС вірогідно гальмувався тільки за наявності в інкубаційному розчині екстракту квітів календули (на 25,6 %,  $P=0,017$ ). Транспорт глюкози з її 10 ммоль/л розчину в АПС вірогідно гальмувався тільки за наявності в інкубаційному середовищі олії розторопші (на 26 %,  $P<0,05$ ).

3. Виявлено високі значення відхилень від середньої величини транспорту гліцину з його 10 ммоль/л розчину в групі АПС, які інкубувались у присутності твіну-80 з олією розторопші або легалоном, але не з сумарними екстрактами.

4. Відхилення від середньої величини транспорту глюкози з її 10 ммоль/л розчину були високими тільки в групі АПС,



які інкубувались у присутності твіну-80 з легалоном.

5. На підставі отриманих результатів зроблено висновок про небажаність використання твіну-80 як емульгатора внаслідок його дестабілізуючого впливу на мембрани ентероцитів, а також про переваги сумарного екстракту розтопші перед окремими його компонентами.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Климов А. Н., Никуличева Н. Г. Липиды, липопротеиды, атеросклероз. — СПб.: Питер, 1999. — С. 36-48.

2. Гурман Э. Г., Багірова Е. А., Сторчило О. В. Влияние экстрактов пищевых и лекарственных трав на гидролиз и транспорт сахаров в тонкой кишке при различных экспериментальных условиях // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 1992. — Т. 78, № 8. — С. 109-116.

3. Eelishalom Jechiel Detergents and Surfactants in Soaps, Shampoos and Other Cleaners // J. of Topical Formulations. — 2005. — Vol. 1, N 4. — April 25. — P. 215-218.

4. Биологически активная добавка из расторопши в решении проб-

лем оздоровления населения / Ф. Н. Гильмиярова, В. М. Радомская, И. Г. Кретова и др. // Вопросы питания. — 1998. — Т. 3. — С. 33-35.

5. Зубченко Т. М., Тихонов О. И., Скакун Н. М. Комплексна переробка плодів розтопші плямистої є розробкою нового способу очистки та виділення субстанції силібор // Вісник фармації. — 2006. — № 3 (47). — С. 10-14.

6. Уголев А. М., Жигуре Д. Р., Нуркс Е. Е. Аккумулирующий препарат слизистой — новый метод исследования начальных этапов переноса веществ через кишечную стенку // Физиол. журн. СССР. — 1970. — Т. 56, № 11. — С. 1638-1641.

7. Сторчило О. В., Напханюк В. К., Багірова О. А. Спосіб корекції функціонального стану транспортних систем тонкої кишки // Декларац. патент на корисну модель. — (11) 10460. — (51) 7 А61К35/78, А61Р1/00. — (46). 15.11.2005. Бюл. № 11.

8. Scott T. A., Melvin E. N. The determination of hexoses with antrone // Analyt. Chem. — 1953. — Vol. 25. — P. 1656-1658.

9. Уголев А. М., Тимофеева Н. М. Определение пептидазной активности // Исследование пищеварительного аппарата у человека. — Л.: Наука, 1969. — С. 178-181.

10. Сторчило О. В., Напханюк В. К., Багірова О. А. Фармакокорек-

ція порушень транспорту гліцину в тонкій кишці нащадків опромінених тварин. // Одес. мед. журнал. — 2006. — Т. 95, № 3. — С. 29-31.

11. Сторчило О. В., Напханюк В. К., Багірова О. А. Фармакологічна корекція транспорту глюкози в тонкій кишці нащадків опромінених тварин // Одес. мед. журнал. — 2006. — Т. 94, № 2. — С. 29-33.

12. Saunders D. R., Rubin C. E., Ostrow L. D. Normal Bile Salt Absorption // Division of Gastroenterology. The gut course. — V. Small Bowel. — November, 29. — 2006. — Univ. of Washington.

13. Пасешниченко И. А. Успехи в изучении физиологической активности терпеноидов и стероидов // Биохимия. — 1992. — Т. 57, вып. 7. — С. 987-1003.

14. Acros organics. — Fischer Scientific Worldwide Company. — Catalogue of fine chemicals. — 2001. — 2269 p.

15. Тепел А. Химия и физика молока. — М.: Пищевая пром-ть, 1979. — 663 с.

16. Озолс А. Я. Энтеральное усвоение углеводов. — Рига: Зинатне, 1984. — С. 48.

17. Eisenberg R. S. Channels as enzymes // J. Membrane Biol. — 1990. — Vol. 115, N 1. — P. 1-12.

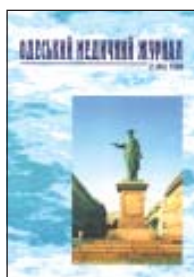
Передплачуйте  
і читайте

## ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Передплата приймається у будь-якому передплатному пункті

У випусках журналу:

- ◆ Теорія і експеримент
- ◆ Клінічна практика
- ◆ Профілактика, реабілітація, валеологія
- ◆ Нові технології
- ◆ Огляди, рецензії, дискусії



Ціна передплати на півріччя (три номери):

- для підприємств та організацій — 60 грн;
- для індивідуальних передплатників — 30 грн.

Передплатні індекси:

- для підприємств та організацій — 48717;
- для індивідуальних передплатників — 48405.

