

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СВЕТОЙ ФРАКЦИИ ЭКСТРАКТА ПИХТЫ СИБИРСКОЙ

Из водного экстракта пихты сибирской – Абисиб при низкотемпературной вакуумной перегонке выделены две фракции: светлая и темная. В эксперименте на крысах установлено, что светлая фракция обладает биологической активностью нативного препарата (гемостимулирующее действие и повышение защитных свойств кишечной слизи). Физико-химические свойства светлой фракции также соответствуют физико-химическим показателям Абисиб. Полученные данные свидетельствуют о том, что биологическая активность Абисиб определяется биологически активными веществами, содержащимися в светлой фракции экстракта.

Проведенными ранее исследованиями показано, что водный экстракт пихты сибирской – Абисиб (ФСП-0254-1049-01), обладает широким спектром биологического действия (гемостимулирующее [1, 2], радиопротекторное [1, 3], иммуностимулирующее [2], репаративное, антимикробное [4], противовоспалительное [5]). Он эффективен при профилактике и лечении бронхолегочных заболеваний, сердечно-сосудистых патологий, анемий различной этиологии [2], лучевой болезни [1, 2, 6], кишечных и вагинальных дисбактериозов, токсикозов беременных, при варикозе вен и хронических воспалительных процессах в малом тазу, при геморрое. У лиц, работающих с компьютерами, после месячного курса приема фитопрепарата повышался иммунитет, исчезала анемия, улучшалось зрение [5].

При дальнейшем исследовании Абисиб из него были выделены отдельные фракции. Смесь легких фракций, образующихся при низкотемпературной вакуумной перегонке Абисиб, получила условное название «светлая фракция» (или фитонцидная фракция). Задачей настоящего исследования явилось изучение физико-химических свойств светлой фракции и ее биологической активности, по сравнению с Абисибом, на интактных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование физико-химических характеристик фракции проводили с помощью УФ-спектроскопии на спектрофотометре «Spectord UV VIS» (ГДР), тонкослойной хроматографии (ТСХ) с использованием пластинок «Silufol UV-254» и системы растворителей: 1) бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2); 2) уксусная кислота – вода (1:4), а также общепринятых методик для определения содержания биологически активных веществ (БАВ), приведенных в Государственной фармакопее [7, 8].

Биологическую активность Абисиб и его фракций оценивали по показателям периферической крови и соотношению углеводных компонентов слизи тонкого кишечника [9], а также по содержанию нуклеиновых кислот [10] и пепсина [11] в сулпернатанте слизи.

Исследование проведено на самцах белых беспородных крыс массой 180–200 г в зимний период.

В течение 24 дней животным вводили перорально через зонд Абисиб или его фракцию в объеме 1мл. Контрольным животным таким же образом давали воду. После 24-дневного курса приема препаратов животных

декапитировали, провели общий анализ крови (содержание гемоглобина, количество лейкоцитов и эритроцитов) и оценили функциональное состояние тонкого кишечника по содержанию углеводных компонентов пристеночного надэпителиального слизистого слоя [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Физико-химическая характеристика светлой фракции Абисиб

Абисиб – водный экстракт пихты сибирской, представляющий собой прозрачную жидкость розового или светло-оранжевого цвета с характерным запахом хвои пихты. В составе экстракта обнаружены макро- и микроэлементы, витаминные комплексы (токоферол, рибофлавин, аскорбиновая кислота и др.), фенольные соединения, углеводы, органические кислоты. Основными действующими веществами, входящими в состав Абисиб, являются соединения фенольной природы. По своим свойствам эти соединения предположительно являются фенольными гликозидами, относящимися к группе флавонов [12]. УФ-спектр Абисиб имеет два характерных максимума поглощения – при 220 и 278 нм.

Светлая фракция представляет собой смесь легких фракций, образующихся при низкотемпературной вакуумной перегонке Абисиб. Это бесцветная или бледно-розовая жидкость с запахом пихты и кислотогорьким вкусом. Установлено, что как Абисиб, так и его светлая фракция содержат органические кислоты, аскорбиновую кислоту, углеводы, фенольные соединения. Следует отметить, что фракция характеризуется меньшим уровнем органических кислот и большим углеводов. Значения pH светлой фракции находятся в пределах 3,0–4,0; плотность – 0,995–1,000. Эти характеристики соответствуют физико-химическим показателям Абисиб (табл. 1).

Ультрафиолетовый спектр фракции имеет максимумы поглощения при 230 и 280 нм, что свидетельствует о присутствии в ней соединений фенольной природы [13]. Наличие максимума поглощения при 280 нм характерно для водных растворов дубильных веществ пихты [14]. Обнаружение этих веществ проводили методом ТСХ. В УФ-свете на хроматограмме обнаружены пятна фиолетовой окраски с $R_f \sim 0,39$ и $\sim 0,77$ (система 1), $R_f \sim 0,25$ и $\sim 0,92$ (система 2), что также подтверждает фенольную природу выделенных соединений [13].

Содержание основных соединений Абисиб и выделенной из него фракции

Соединения	Светлая фракция	Абисиб
Органические кислоты	0,005%	0,01%
Аскорбиновая кислота	0,0007%	0,0006%
Углеводы	0,036%	0,023%
Фенольные соединения	0,006%	0,008%
Сухой остаток	0,008%	0,015%
Плотность	0,995–1,000	0,995–1,000
pH	3,0–4,0	3,0–4,5

Исходя из того, что физико-химические параметры светлой фракции близки к характеристикам препарата Абисиб, который обладает широким спектром биологического действия [2], можно предположить наличие биологической активности у светлой фракции Абисиб.

Биологическая активность светлой фракции Абисиб

Влияние светлой фракции Абисиб на показатели крови интактных крыс

В предыдущих исследованиях было показано, что Абисиб оказывает гемостимулирующее действие на

организм животных и человека как в норме [2], так и при различных патологических состояниях [1, 2].

В настоящей работе установлено, что пероральное применение светлой фракции так же, как и Абисиб, оказывает на интактный организм крыс выраженное гемостимулирующее действие.

После 24-дневного применения фракции количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 27%, по сравнению с контролем, и на 30% – после применения Абисиб (табл. 2). Также курсовой прием пихтовых препаратов стабилизировал содержание лейкоцитов в периферической крови экспериментальных животных.

Таким образом, наблюдается стимуляция как красного, так и белого кровяного ростка.

Таблица 2

Показатели периферической крови интактных крыс, получавших воду, светлую фракцию и Абисиб

Вещество / Раствор	Содержание эритроцитов, $\times 10^{12}$	Содержание лейкоцитов, $\times 10^6$	Содержание гемоглобина, г/л
Вода (контроль)	5,97±0,49	3,97±0,61	161,0±7,7
Светлая фракция	7,61±1,05	7,45±1,10*	182,4±10,4
Абисиб	7,68±0,41*	9,46±0,82*	169,0±9,4

* Значения достоверно отличаются от контроля, $p < 0,05$.

Ранее было установлено, что гемостимулирующее действие Абисиб опосредованно стимулирующим действием препарата на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему животного организма [1]. Возможно, гемостимулирующее действие светлой фракции определяется тем же механизмом, так как по физико-химическим характеристикам светлая фракция сходна с Абисибом.

Влияние светлой фракции Абисиб на функциональное состояние слизистой тонкого кишечника экспериментальных животных

Известно, что Абисиб способствует более быстрой регенерации слизистой кишечника и нормализации морфофункционального состояния желудочно-кишечного тракта при лучевой патологии [6].

В данной работе пероральный прием светлой фракции и Абисиб не приводил к существенным измене-

ниям концентрации нуклеиновых кислот и активности протеолитических ферментов (табл. 3).

Наблюдали значительное увеличение содержания фукозы и нейраминаевой кислоты в слизи экспериментальных животных после применения препаратов (табл. 4).

Светлая фракция оказывала больший эффект по сравнению с Абисибом. Известно, что фукоза и нейраминаевая кислота являются концевыми компонентами углеводных цепочек гликопротеинов, которые придают гликопротеинам характерные свойства.

Увеличение содержания этих углеводных компонентов может отражать степень зрелости гликопротеиновой цепочки и, следовательно, защитные свойства надэпителиального слизистого слоя [9]. Кроме того, у опытных животных доля структурных гликопротеинов была выше, что свидетельствует об усилении у них защитной и барьерной функции пристеночного слоя слизистых наложений тонкого кишечника (табл. 4).

Таблица 3

Содержание углеводных компонентов, нуклеиновых кислот и пепсина в супернатанте кишечной слизи интактных крыс после перорального введения пихтовых препаратов

Вещество / Раствор	Фукоза, мкМ/мл	Галактоза, мкМ/мл	Гексозамины, мкМ/мл	Нейраминаевая кислота, мкМ/мл	Нуклеиновые к-ты, мг/мл	Пепсин, мкМ/мл
Вода (контроль)	8,58±1,75	46,63±8,64	11,86±2,53	1,16 ± 0,08	11,23±1,02	19,26±2,27
Светлая фракция	18,02±2,87*	17,68±2,81*	1,63±0,61*	2,92± 0,30	12,50±0,11	20,15±2,51
Абисиб	16,85±1,60*	12,95±5,57*	1,17±0,08*	2,76 ± 0,21	14,87±2,07	20,21±2,33

* Значения достоверно отличаются от контроля, $p < 0,05$.

Содержание углеводных компонентов в слизи интактных крыс, получавших пихтовые препараты

Вещество / Раствор	Фукоза мкМ/мл,	Галактоза мкМ/мл,	Гексозамины, мкМ/мл	Нейраминная кислота, мкМ/мл	Доля структурных гликопротеинов в их общем пуле, %
Вода (контроль)	1,47±0,20	25,08±4,20	2,28±0,51	0,81±0,19	30,29
Светлая фракция	7,32±1,06*	27,53±0,29	1,81±0,53	2,51±0,14*	49,31
Абисиб	4,53±0,23*	25,89±0,36	3,00±0,89	2,32±0,31*	51,45

* Значения достоверно отличаются от контроля, $p < 0,05$.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что биологическая активность Абисиба определяется биологически активными веществами, содержащимися в светлой фракции экстракта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вымятина З.К., Костеша Н.Я., Лопухова В.В., Борило Г.А. Влияние хвойного экстракта *Abies sibirica Ledeb.* на гемопоэз облученных крыс // Растительные ресурсы. 2000. Вып. 4. С. 83–89.
2. Костеша Н.Я., Стрелис А.К., Лукьяненко П.И., Матвеева Л.А. и др. Экстракт пихты сибирской АБИСИБ и его применение в медицине и ветеринарии. Томск: Scientific & Technical Translations, 2005. Т. 2. 140 с.
3. Боровикова Г.В., Лицкевич Л.А., Костеша Н.Я. Пострадиационные метаболические аспекты профилактического применения Абисиба // Матер. конф., посвященной 90-летию со дня рождения В.А. Пегеля, «Механизмы адаптации организма». Томск, 1996. С. 73–74.
4. Лепехин А.В., Тарасова Т.А., Надькова Т.Н., Енина Н.В. и др. Влияние аэрозоля экстракта пихты сибирской (АБИСИБ) на *Staphylococcus aureus* // Экспериментальная медицина и микробиология. 2002. № 2. С. 48–50.
5. Дрокина Т.И. Фитопрепараты «Виватон» и «Абисиб» в лечебной практике // Матер. научной конф. «Фитотерапия, лазеротерапия, биологически активные вещества естественного происхождения (БАВЕП) в XXI веке». Черноголовка, 2000. С. 33–34.
6. Вымятина З.К., Лопухова В.В., Борило Г.А., Костеша Н.Я. Влияние хвойного экстракта *Abies sibirica Ledeb.* на морфофункциональное состояние тонкого кишечника у облученных крыс // Растительные ресурсы. 2000. Вып. 3. С. 64–69.
7. Государственная фармакопея СССР. XI изд. Вып. 1. 1987.
8. Государственная фармакопея СССР. XI изд. Вып. 2. 1990.
9. Кривова Н.А., Дамбаев Г.Ц., Хитрихеев В.Е. Надэпителиальный слизистый слой желудочно-кишечного тракта и его функциональное значение. Томск: Раско, 2002. 316 с.
10. Критский Г.А., Александров С.В. Диагностика радиационного поражения по анализу нуклеиновых кислот крови // Биохимические методы. М.: Наука, 1980. С. 118–121.
11. Исследование пищеварительного аппарата у человека (обзор современных методов) / А.М. Уголев, Н.Н. Иезуитова, Ц.Г. Масевич и др. Л.: Наука, 1969. 250 с.
12. Костеша Н.Я. Некоторые пути повышения резистентности организма при действии ионизирующего излучения: Дис. ... д-ра биол. наук. Томск, 2000.
13. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений. М., 1971. С. 185–207.
14. Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. М.: Мир, 1977. 240 с.

Статья поступила в редакцию журнала 15 августа 2006 г., принята к печати 14 декабря 2006 г.