

ДЕЙСТВИЯ ЭФИРНОГО МАСЛА АПЕЛЬСИНА И ЕГО ФРАКЦИЙ НА ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕМБРАНЫ И ЦИКЛОЗ В КЛЕТКАХ ВОДОРОСЛИ *NITELLA FLEXILIS*

Е. В. Рафальская, Ван Чун Ши

Эфирные масла, содержащиеся в пряно-ароматических растениях, представляют собой смесь целого ряда физиологически активных веществ (ФАВ), на основе которых могут быть разработаны новые лекарственные препараты. Применяемые в настоящее время процедуры оценки качества эфирных масел, основаны на определении физико-химических свойств (растворимости в различных растворителях, определении кислотного числа, числа моления и т.д.). Эти методы вполне приемлемы для эфирных масел, используемых, например, в парфюмерии. Однако для применения их в медицинских целях, необходимо знать биологическую активность не только исходного эфирного масла в целом, но и отдельных его фракций. Биологическую активность сложных смесей веществ целесообразно оценивать на основе биологического тестирования. Нами предлагается производить интегральную оценку биологической активности на основе исследования воздействия ФАВ на циклоз в клетках междоузлий харовой водоросли *Nitella flexilis*. Компоненты, содержащиеся в эфирном масле, вызывают модификацию свойств плазматической мембраны и изменения внутриклеточного метаболизма. Такого рода воздействия должны отразиться на величине различных показателей, характеризующих состояние тест-объекта. Таким образом, целью нашей работы стало исследование действия образцов эфирного масла апельсина и фракций из него на биоэлектрическую реакцию и скорость циклоза в клетках междоузлий *Nitella flexilis*.

В экспериментах использовались клетки междоузлий водоросли *Nitella flexilis*, выращенные в лаборатории. Клетки водоросли отличаются гигантскими размерами, что в значительной мере облегчает проведение экспериментов. Кроме того, водоросли легко культивируются в лабораторных условиях, поэтому возможно независимое от сезона обеспечение стандартным материалом.

Электрические характеристики мембраны определялись с помощью стеклянных микроэлектродов. Скорость движения цитоплазмы измерялась по наблюдению за перемещением отдельных ее компонентов в поле зрения микроскопа. Тестировалась биологическая активность эфирного

масла из сухих оболочек плодов апельсина, полученного в лаборатории методом гидродистилляции по методике предложенной Гинсбургом.

Показано, что изменения скорости движения цитоплазмы отмечается уже при концентрации эфирного масла в окружающем клетку растворе порядка 0,001% и ниже. В этом случае регистрировалось возрастание скорости циклоза почти на 20%. Увеличение содержания эфирного масла в среде до 0,002% приводило к еще большему росту скорости циклоза. Однако дальнейшее повышение концентрации эфирного масла в среде (до 0,001%) не вызывало значительного возрастания скорости движения цитоплазмы по сравнению с контролем (рис 1).

Наблюдаемая зависимость скорости циклоза от концентрации эфирного масла в среде обусловлена, вероятно, действием нескольких компонентов, обладающих различным влиянием на процессы, регулирующие движение цитоплазмы в клетке водоросли. По данным литературы эфирное масло цитрусовых содержит более десятка компонентов, каждый из которых может проявлять тот или иной вид биологической активности. В связи с этим необходимо исследовать биологическое действие отдельных фракций эфирного масла. Простая фракционная перегонка эфирного масла апельсина невозможна: температура его кипения превышает 130–140 °С (при такой температуре возможна термическая деструкция отдельных компонентов). Применение же хроматографии для препаративного разделения на фракции затруднительно. По этим причинам нами для выделения наиболее летучих компонентов использовалась перегонка с этанолом. Таким образом, удалось практически полностью выделить фракцию флюоресцирующую при возбуждении ультрафиолетовым светом с излучением света длиной волны 410 нм. При чем в спиртовой фракции («легкая фракция») отсутствовала флюоресценция других компонентов эфирного масла, а в кубовом остатке не обнаруживалось флюоресценции 410 нм.

Для «легкой фракции», выделенной из эфирного масла, был характерен иной тип развития цитокинетической реакции: снижение скорости циклоза при всех испытанных концентрациях. Образцы же «тяжелой фракции» воздействовали на циклоз иначе: при концентрации 0,001% под действием этой фракции отмечалось снижение скорости циклоза, однако дальнейший рост содержания этой фракции эфирного масла в анализируемой среде индуцировал увеличение скорости циклоза (см. рис. 1).

Эфирное масло апельсина и отдельные его фракции вызывают заметные изменения электрофизиологических характеристик плазмалеммы уже при содержании их в среде в концентрации 0,001%. При чем эти изменения наблюдаются сразу же после введения эфирного масла в среду, т. е., вероятно, отмечается непосредственное влияние компонентов масла на плазмалемму.

Электрофизиологическая реакция плазмалеммы зависела от концентрации эфирного масла в среде (рис. 2). При концентрации 0,001% отмечалась слабая гиперполяризация мембраны, сопровождающаяся увеличением ее сопротивления. Повышение содержания эфирного масла в среде приводило к деполяризации и падению сопротивления. Следует отметить, что электрофизиологическая реакция носила сложный характер: после резкого сдвига электрических параметров мембраны отмечалось их восстановление к исходному уровню, которое не всегда было полным.

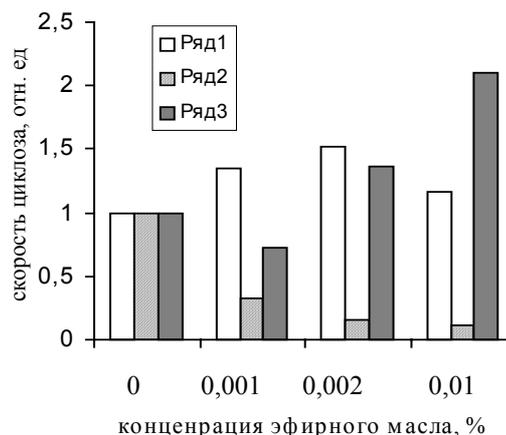


Рис. 1. Зависимость скорость циклоза в клетках *Nitella flexilis* от концентрации эфирного масла апельсина (1) и его фракций в среде: 2 – легкая фракция; 3 – тяжелая фракция

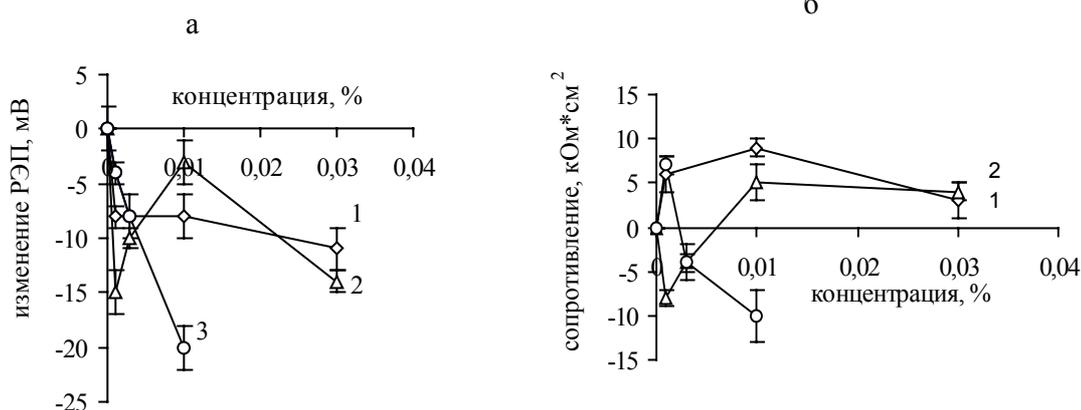


Рис. 2. Зависимость сдвигов РЭП (а) и сопротивления (б) плазмалеммы клеток *Nitella flexilis* от концентрации эфирного масла апельсина (1) и отдельных его фракций: 2 – легкая фракция; 3 – тяжелая фракция

Что касается отдельных фракция эфирного масла, то характер их действие отличался от исходного масла. Для легкой фракции после резкой деполяризации при концентрации 0,001 % отмечалось снижение величины сдвига потенциала при более высоких концентрациях (0,003 и 0,01 %). При дальнейшем росте содержания этой фракции(до 0,03 %) вновь нарастало деполяризующее действие. Столь сложная зависимость отмечалась и для сдвигов сопротивления (см. рис. 2).

«Тяжелая фракция» в концентрации 0,001% вызывала деполяризацию мембраны, сопровождающуюся ростом сопротивления. При более высоких концентрациях отмечалась дальнейшая деполяризация, и резкое снижение сопротивления. При чем при концентрации этой фракции, больше чем 0,01%, наблюдалась гибель отдельных клеток.

Проведенные нами исследования показали, что отдельные компоненты эфирного масла оказывают различное действие на электрофизиологические характеристики плазмалеммы и циклоз в клетках харовой водоросли. При чем электроальгологическое и цитокинетическое тестирование позволяет экспрессно дифференцировать биологическую активность отдельных фракций эфирного масла и провести первичную оценку качества образцов эфирного масла.

МОДЕЛИРОВАНИЕ IN VITRO МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

А. Ю. Россоловская

1. ВВЕДЕНИЕ

Заболевания печени занимают значимое место среди болезней человека. Они ухудшают качество жизни, нередко приводя к летальному исходу. Накопленная информация свидетельствует о существенной роли окислительного стресса в патогенезе заболеваний печени [3].

Окислительный стресс сопровождается интенсификацией процессов генерации активных форм кислорода (АФК) [2 – 5].

Согласно данным литературы, в реакциях генерации АФК одну из ключевых ролей играют переходные металлы (Fe^{3+} и Cu^{2+} в частности) [4]

При патологических состояниях, обусловленных различными заболеваниями, в печени нарушаются процессы образования и оттока желчи (холестаз) [1]. В результате этого происходит накопление меди (II) и билирубина, которые способны вступать в реакции комплексообразования,