

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТА ИЗ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ *SACCHARINA JAPONICA*

© 2013 г. В. Г. Спрыгин¹, Н. Ф. Кушнерова¹, С. Е. Фоменко¹,
Л. А. Сизова¹, Т. В. Момот²

¹Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток 690059;

²Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690059

e-mail: vsprygin@poi.dvo.ru

Статья принята к печати 2.02.2012 г.

Изучено влияние экстракта из бурой водоросли *Saccharina japonica* на антирадикальную активность и биохимические показатели липидного и углеводного обмена печени крыс при интоксикации четыреххлористым углеродом (ЧХУ). Показано, что экстракт из *S. japonica* способствует снижению уровня свободно-радикальных процессов, эффективному снятию тканевой гипоксии и восстановлению соотношения фракций нейтральных липидов. Терапевтическая эффективность исследуемого препарата оказалась более выраженной, чем у эталонного гепатопротектора "Легалон"[®].

Ключевые слова: *Saccharina japonica*, четыреххлористый углерод, печень, флоротаннины, углеводный обмен, липидный обмен, антирадикальная активность.

Hepatoprotective properties of an extract from the brown alga *Saccharina japonica*. V. G. Sprygin¹, N. F. Kushnerova¹, S. E. Fomenko¹, L. A. Sizova¹, T. V. Momot² (¹V.I. Ilyichev Pacific Oceanological Institute, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690059; ²A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690059)

This study examines the influence of an extract from the brown alga *Saccharina japonica* on the antiradical activity and biochemical indices of lipid and carbohydrate metabolism in rat liver during carbon tetrachloride poisoning. The *Saccharina* extract contributed to a reduction of the level of free-radical processes, an effective removal of tissue hypoxia, and a restoration of neutral lipid fractions pattern. The therapeutic effectiveness of the studied preparation appeared to be greater than that of the widely adopted hepatoprotector Legalon. (Biologiya Morya, 2013, vol. 39, no. 1, pp. 50–54).

Keywords: *Saccharina japonica*, carbon tetrachloride, liver, phlorotannins, carbohydrate metabolism, lipid metabolism, antiradical activity.

Изучение и практическое применение природных соединений имеют большое значение для укрепления здоровья и увеличения продолжительности жизни людей. На протяжении многих лет и до настоящего времени новые природные соединения получали из наземных растений. Однако вследствие интенсивного сбора растительного сырья и истощения его запасов все большее внимание уделяется поиску альтернативных источников биологического материала. Так, рассматривается возможность использования морских водорослей – богатого источника биологически активных веществ (полисахаридов, полифенолов, каротиноидов, минеральных веществ и др.) – для создания новых субстанций лекарств и ценных пищевых компонентов (Cannell, 1993; Ngo et al., 2011). Наиболее интересны в этом отношении бурые водоросли, которые имеют большую биомассу, являются важным объектом марикультуры, а также представляют собой ценный пищевой биоресурс. Человек уже в течение длительного времени традиционно использует в пищу многие виды бурых водорослей, что дает возможность говорить об эволюционной биохимической адаптивности человеческого организма к комплексам веществ, содержащихся в них. Это предполагает низкую

токсичность и высокую биологическую активность препаратов из водорослей. Несмотря на то, что изучению свойств различных соединений, выделенных из водорослей, посвящено довольно большое количество работ, лишь незначительная их часть связана с исследованием биологической активности полифенольных комплексов. Известно, что растительные полифенолы характеризуются высокой антиоксидантной активностью и являются источником эффективных и малотоксичных гепатопротекторов, устраняющих основное звено патогенеза токсического гепатита – усиление перекисного окисления липидов, и улучшающих антиоксидантную и экскреторную функцию гепатоцитов. Однако изучению гепатопротекторных свойств полифенолов бурых водорослей посвящено лишь несколько работ (Kim et al., 2005, 2011). В связи с этим нами был получен и исследован экстракт из сахарины японской с повышенным содержанием полифенольных соединений, которые представляют собой одну из наиболее значимых групп биологически активных веществ, определяющих фармакологическую ценность водорослей.

Ранее нами было показано, что экстракт из ламинарии японской, обогащенный полифенольными соеди-

нениями, проявляет антиоксидантную и мембранопротекторную активность (Кушнерова и др., 2010a), а также обладает стресс-протекторным действием (Кушнерова и др., 2010b).

Целью настоящей работы является изучение гепатопротекторных свойств экстракта из сахарины японской при интоксикации белых крыс четыреххлористым углеродом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Бурую водоросль *Saccharina japonica* собирали в б. Западная у о-ва Попова зал. Петра Великого (Японское море) и сушили при температуре, не превышающей 50°C. Измельченное сырье экстрагировали 70% раствором водного ацетона при соотношении сырье : экстрагент (1 : 2). Полученный экстракт упаривали в вакууме до полного удаления ацетона и экстрагировали хлороформом для удаления липофильных веществ и пигментов. Водную фракцию упаривали в вакууме досуха и ресуспендировали в воде. Содержание общих полифенолов (ОПФ) определяли с помощью реактива Фолина-Чокальтеу (Parys et al., 2007). Полифенолы составляли 35% от сухого остатка экстракта.

В эксперименте использовали белых крыс-самцов линии Вистар (питомник Столбовая, Московская область) массой 180–200 г, содержащихся на стандартном рационе в условиях вивария. Применяли экспериментальную модель интоксикации четыреххлористым углеродом (ЧХУ) на животных, описанную в руководстве Венгеровского с соавторами (Венгеровский и др., 1999). Животным в дорсальную шейную складку вводили 50% раствор ЧХУ на оливковом масле в дозе 2 мл/кг в течение четырех дней. Экстракт из сахарины вводили внутрижелудочно через зонд в виде водного раствора в дозе 100 мг общих полифенолов/кг массы животного. В качестве препарата сравнения использовали коммерческий полифенольный препарат "Легалон", который вводили через зонд в той же дозе в виде взвеси в 1% крахмальном клейстере. Доза 100 мг/кг соответствует известной терапевтической дозе для полифенольных гепатопротекторов (Венгеровский и др., 1999). Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество физиологического раствора. Животные были разделены на 5 групп по 10 крыс в каждой: 1-я группа – контроль (физраствор, стандартный рацион); 2-я группа – ЧХУ; 3-я группа – отмена ЧХУ (прекращение введения токсиканта) в течение 7 дней; 4-я группа – отмена ЧХУ + экстракт из сахарины в течение 7 дней; 5-я группа – отмена ЧХУ + легалон в течение 7 дней. Крыс выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.).

Антиоксидантную защиту печени лабораторных животных определяли по уровню антирадикальной активности (Re et al., 1999) и восстановленного глутатиона (Mogon et al., 1979), перекисное окисление липидов – по концентрации малонового диальдегида (Buege, Aust, 1978). В гомогенате печени определяли содержание лактата (Noll, 1984), пирувата (Lamprecht, Heinz, 1984) и никотинамидного кофермента НАД⁺ (Klingenberg, 1984). Соотношение НАД⁺/НАДН рассчитывали по концентрациям лактата и пирувата (Ермолаева, 1987). Активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) определяли с помощью стандартных наборов "Лахема" (Чехия). Экстракты общих липидов

из ткани печени готовили с использованием системы растворителей хлороформ : метанол (2 : 1 по объему) (Folch et al., 1957). Пластины для микротонкослойной хроматографии размером 6 × 6 см готовили по методу Светашева и Васковского (Svetashev, Vaskovsky, 1972), в качестве сорбента использовали отечественный силикагель марки "КСК". Распределение нейтральных липидов и их количественное содержание определяли методом одномерной хроматографии на силикагеле в системе растворителей гексан – серный эфир – уксусная кислота в соотношении 90 : 10 : 1 (по объему) (Amenta, 1964). Пятна нейтральных липидов обнаруживали с помощью паров йода, а их идентификацию осуществляли с помощью специфических свидетелей, выпускаемых отечественной промышленностью. Количественное содержание отдельных фракций выражали в процентах от общей суммы нейтральных липидов. Результаты обрабатывали по параметрическому критерию Стьюдента (t) с предварительной оценкой на нормальность распределения в рядах, используя статистическую программу InStat (Graph Pad Software Inc. USA, 2005). Исследование одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Интоксикация ЧХУ сопровождалась увеличением относительной массы печени на 50% (4.72 ± 0.24 г/100 г массы тела против 3.14 ± 0.15 г/100 г массы тела в контроле; $p < 0.001$) и сплошной зернистостью жировых включений (проявлялась выраженная жировая инфильтрация). При внешнем осмотре животные были слабо подвижны, плохо ели корм, их шерсть была тусклой. Количество общих липидов в печени превышало контрольный уровень в 3.5 раза (142.09 ± 7.22 мг/г ткани против 42.17 ± 1.97 мг/г ткани в контроле; $p < 0.001$), что можно объяснить увеличением содержания триацилглицеринов (ТАГ), холестерина (ХС) и свободных жирных кислот (СЖК) в среднем на 15% ($p < 0.01$) (табл. 1). Одним из факторов повышения содержания ТАГ и СЖК является усиление периферического липолиза (стрессовая реакция на поступление ксенобиотика), в результате которого происходит выход жирных кислот и глицерина в печень из жировых депо с последующим их ресинтезом в ТАГ (Weber et al., 2003). Увеличение количества ХС обусловлено угнетением митохондриального окисления Ац-КоА в цикле Кребса. Одновременно снижалось количество эфиров жирных кислот (ЭЖК) на 16% ($p < 0.01$) и эфиров холестерина (ЭХС) на 25% ($p < 0.001$). Такое соотношение липидных фракций свидетельствует о нарушении этерифицирующей функции печени.

Известно, что под действием свободных радикалов, образующихся при восстановительной дегалогенации ЧХУ цитохромом P450 (Recknagel et al., 1989), формируется структурная дезорганизация мембран эндоплазматического ретикула. Образующийся трихлорметилрадикал ($\bullet\text{CCl}_3$) в результате взаимодействия с кислородом превращается в трихлорметилпероксилрадикал ($\bullet\text{OOCCL}_3$) с последующим образованием каскада свободных радикалов, которые активно включаются в жирнокислотные цепи фосфолипидов. При этом за-

Таблица 1. Содержание нейтральных липидов в печени крыс-самцов линии Вистар с токсическим ЧХУ-гепатитом после курсового лечения экстрактом бурой водоросли *Saccharina japonica* и "Легалон" ($M \pm m$)

Параметр	1-я группа, контроль (интактные)	2-я группа, ЧХУ	3-я группа, отмена ЧХУ	4-я группа, отмена ЧХУ + сахарина	5-я группа, отмена ЧХУ + "Легалон"
ТАГ	23.84±0.33	26.51±0.68**	29.18±0.96***	24.00±1.08 ²	25.80±0.79*. ³
СЖК	14.26±0.44	16.55±0.53**	17.90±0.54***	13.06±0.58 ³	15.15±0.71 ³
ЭЖК	16.16±0.51	13.55±0.52**	13.19±0.62**	16.12±0.90 ¹	14.69±0.41*. ¹
ХС	17.55±0.48	20.16±0.40***	19.54±0.55**	17.68±0.74	18.68±0.42 ¹
ЭХС	17.24±0.33	12.89±0.59***	13.14±0.68***	17.15±0.75 ²	15.09±0.77*. ³
Остаточная фракция	10.95±0.23	10.34±0.51	7.05±0.89	11.99±0.54	10.59±0.82

Примечание. ТАГ – триацилглицерины, СЖК – свободные жирные кислоты, ЭЖК – эфиры жирных кислот, ХС – холестерин, ЭХС – эфиры холестерина. Здесь и в табл. 2 различия статистически достоверны при: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ по сравнению с контролем; ¹ $p < 0.05$, ² $p < 0.01$, ³ $p < 0.001$ по сравнению с 3-й группой.

пускается механизм перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует почти трехкратное увеличение содержания малонового диальдегида (МДА) ($p < 0.001$) (табл. 2). Повышение проницаемости мембран гепатоцитов подтверждается увеличением в 7 раз активности в крови АлАТ – маркерного фермента печени (307.71 ± 65.30 Ед/л против 43.80 ± 4.25 Ед/л в контроле; $p < 0.001$). В результате избыточного образования свободных радикалов происходит перенапряжение системы антиоксидантной защиты. Формируется дисбаланс про-оксидантных и антиоксидантных параметров, что выражается в снижении пула восстановленного глутатиона (Г-SH) на 23% ($p < 0.05$) и антирадикальной активности (АРА) на 47% ($p < 0.01$).

При исследовании показателей углеводного обмена после интоксикации ЧХУ отмечалось значительное снижение уровня глюкозы крови до 2.95 ± 0.14 ммоль/л, что на 36% ($p < 0.001$) ниже контрольных значений (4.61 ± 0.25 ммоль/л). Это обусловлено истощением пула гликогена из-за активации гликогенолиза для восполнения субстратов 2-й фазы системы детоксикации ксенобиотиков (глюкуроновая кислота). Снижение содержания окисленной формы НАД⁺ в печени на 30% ($p < 0.001$) по сравнению с контролем свидетельствует о нарушении протекания аэробных процессов, в частности, реакций цикла Кребса. Наблюдаемое двукратное увеличение содержания лактата при одновременном снижении содержания пирувата на 28% ($p < 0.01$) является результатом высокой интенсивности анаэробного гликолиза. В данном случае происходит активация пируват-лактатного челночного механизма для восстановления пула окисленной формы НАД⁺ из НАДН. Уменьшение соотношения НАД⁺/НАДН до 244 (645 в контроле) указывает на сдвиг баланса окислительно-восстановительной системы в сторону образования восстановленных эквивалентов, что приводит к снижению активности НАД⁺-зависимых дегидрогеназ, блокированию аэробных процессов гликолиза, ингибированию глюконеогенеза и развитию в организме тканевой гипоксии (Спрыгин и др., 2003).

Через 7 дней после отмены ЧХУ в печени опытных животных (3-я группа) большинство исследуемых биохимических параметров не восстановилось до контроль-

ных значений, что свидетельствует о продолжающемся токсическом стрессе и недостаточности собственных защитных сил организма противостоять развитию токсической патологии. Относительная масса печени животных достоверно превышала контрольный уровень (4.10 ± 0.13 г/100 г массы тела; $p < 0.05$), при вскрытии имелись зернистые включения липидов. Количество общих липидов в печени превышало контрольный уровень в 3 раза (120.46 ± 12.33 мг/г ткани; $p < 0.001$), а содержание МДА – более чем в 2 раза ($p < 0.001$), что говорит о высокой активности перекисного окисления липидов. В спектре нейтральных липидов увеличивалось содержание ТАГ и СЖК, а также наблюдалось высокое содержание ХС при одновременно низком уровне ЭХС и ЭЖК. Следовательно, в период отмены ЧХУ сохранялась низкая этерифицирующая функция печени и происходило дальнейшее развитие жировой инфильтрации. Отмечено еще большее снижение пула восстановленного глутатиона (на 53%; $p < 0.001$) и низкое значение АРА (на 42% ниже контроля; $p < 0.05$), что указывает на углубление развития свободно-радикальных процессов. Сохранялась высокая проницаемость мембран гепатоцитов, в пользу чего свидетельствовала повышенная на 34% ($p < 0.001$) активность АлАТ (58.03 ± 1.75 Ед/л). Исследование параметров углеводного обмена в период отмены ЧХУ показало, что уровень лактата повышен относительно контроля на 41% ($p < 0.05$), а уровень НАД⁺ снижен на 31% ($p < 0.001$). В связи с этим коэффициент соотношения НАД⁺/НАДН составлял 422, что указывало на сохраняющееся состояние тканевой гипоксии и угнетение аэробных процессов.

При введении животным экстракта из сахарины в период отмены ЧХУ (4-я группа) наблюдалось восстановление исследуемых параметров до контрольных значений. Относительная масса печени снизилась до 3.26 ± 0.18 г/100 г массы тела, а количество общих липидов – до 42.65 ± 2.26 мг/г печени, т.е. препарат обладал выраженным гепатопротекторным эффектом, проявляющимся в снятии жирового перерождения печени. В то же время при сравнении исследованных биохимических показателей в печени крыс 4-й и 3-й групп (отмена ЧХУ) выявлены статистически достоверные от-

Таблица 2. Биохимические показатели печени крыс-самцов линии Вистар с токсическим ЧХУ-гепатитом после курсового лечения экстрактом бурой водоросли *Saccharina japonica* и "Легалон" ($M \pm m$)

Параметр	1-я группа, контроль (интактные)	2-я группа, ЧХУ	3-я группа, отмена ЧХУ	4-я группа, отмена ЧХУ + сахарина	5-я группа, отмена ЧХУ + "Легалон"
Пируват, мкмоль/г	0.176±0.009	0.127±0.013**	0.162±0.008	0.184±0.006 ¹	0.180±0.008
Лактат, мкмоль/г	2.46±0.27	4.69±0.22***	3.46±0.29*	2.60±0.17 ¹	2.60±0.21 ¹
НАД ⁺ мкмоль/г	0.348±0.013	0.244±0.018***	0.241±0.017***	0.334±0.019 ²	0.353±0.008 ³
НАД ⁺ /НАДН	645	244	422	613	624
МДА, нмоль/г	30.7±1.9	81.3±3.0***	68.3±2.9***	35.5±2.8 ³	44.8±3.0*** ³
Г-SH, мкмоль/г	3.41±0.15	2.65±0.14**	1.59±0.12***	3.29±0.20 ³	3.00±0.12* ³
АРА, мкмоль тролокса/г	5.65±0.30	2.98±0.15***	3.26±0.19***	5.18±0.29 ³	4.63±0.32* ²

Примечание. МДА – малоновый диальдегид, Г-SH – восстановленный глутатион, АРА – антирадикальная активность.

личия. Так, в составе фракций нейтральных липидов количество ТАГ снизилось на 18% ($p < 0.01$), СЖК – на 25% ($p < 0.001$), а содержание ЭЖК и ЭХС увеличилось соответственно на 22 ($p < 0.05$) и 30% ($p < 0.01$), что указывает на восстановление этерифицирующей функции печени. Величина АРА была выше на 59% ($p < 0.001$), а показатель восстановленного глутатиона – более чем в 2 раза при одновременном снижении содержания МДА на 48% ($p < 0.001$). Высказано предположение (Skottova et al., 2004), что антиоксидантную и антирадикальную функцию берут на себя полифенольные соединения, входящие в состав растительных препаратов, как "ловушки" свободных радикалов. Активность АЛАТ в крови составляла 43.79 ± 2.54 Ед/л, что свидетельствует о мембраностабилизирующих свойствах исследуемого экстракта. Данное явление обусловлено локализацией мономеров и низкомолекулярных олигомеров флоротаннинов в пределах липидного бислоя плазматических мембран (Афанасьева и др., 2007), вследствие чего снижается их проницаемость. Уменьшение уровня лактата, увеличение содержания пирувата и НАД⁺ способствовало росту коэффициента НАД⁺/НАДН до 637, что предполагает нормализацию реакций аэробного гликолиза и снятие тканевой гипоксии.

При применении препарата сравнения "Легалон" (5-я группа) отмечена однонаправленность изменений изученных биохимических показателей (как и в 4-й группе), однако степень их выраженности была различной, что проявлялось в сохранении достоверных отличий от контроля. Масса печени животных составляла 3.64 ± 0.16 г/100 г массы тела, а содержание общих липидов составляло 47.31 ± 1.44 мг/г печени, что соответственно на 16 и 12% ($p < 0.05$) превышало контрольные значения. Это согласуется с достоверно более высоким содержанием ТАГ (на 8%; $p < 0.05$) и с пониженным уровнем ЭЖК (на 9%; $p < 0.05$) и ЭХС (на 13%; $p < 0.05$). Кроме того, были зарегистрированы более низкие значения АРА (на 18%; $p < 0.05$) и восстановленного глутатиона (на 13%; $p < 0.05$), а также более высокое содержание МДА (на 46%; $p < 0.01$). Таким образом, при введении "Легалона" нарушенные токсикантом метаболические реакции полностью не восстановились и сохранились остаточные явления жировой инфильтрации печени.

Однако при сравнении изученных параметров с таковыми в печени животных 3-й группы прослеживается выраженная тенденция к их нормализации под действием препарата. Отмечено снижение содержания лактата на 25% ($p < 0.05$) при одновременном увеличении окисленной формы НАД⁺ на 46% ($p < 0.001$) и коэффициента НАД⁺/НАДН до 624. Содержание ТАГ снизилось на 12% ($p < 0.001$), а количество ЭЖК и ЭХС возросло на 11 и 15% ($p < 0.05$) соответственно.

Биохимический механизм данного феномена обусловлен тем, что комплекс олигомерных флоротаннинов, который присутствует в экстракте ламинарии (Shibata et al., 2008), характеризуется наличием разветвленной структуры сопряженных двойных связей. Данная структура обладает высокой подвижностью электронной плотности, поэтому может выступать в качестве универсальной донорно-акцепторной системы, способной и поглощать, и отдавать электроны, нормализуя таким образом биохимические процессы, проходящие с участием переноса заряженных частиц. Благодаря этой особенности основными факторами биологической активности флоротаннинов является антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие, которое обусловлено прямым участием флоротаннинов в восстановительных процессах, протекающих более эффективно, чем в условиях отмены ЧХУ. Антиоксидантное действие полимерных таннинов определяется их способностью напрямую улавливать активные формы кислорода (Shibata et al., 2008) и опосредованно влиять на восстановление пула низкомолекулярных антиоксидантов (Maffei Facino et al., 1998). Мембраностабилизирующий эффект можно объяснить прямым ингибирующим действием флоротаннинов на активность фосфолипаз и липоксигеназ (Shibata et al., 2003) и их способностью образовывать флоротаннин-протеиновые комплексы на поверхности мембран (Stern et al., 1996), защищая мембраны от действия свободных радикалов. Преимущество восстанавливающего эффекта действия экстракта из сахарины, по нашему мнению, определяется полимерным строением флоротаннинов, что обеспечивает более высокую антиоксидантную активность по сравнению с таковой мономерных флавоноидов препарата сравнения "Легалон". Последние обладают более жесткой электронной струк-

турой и способны образовывать феноксильные радикалы, являющиеся прооксидантами (Metodiewa et al., 1999).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что экстракт из сахарины японской, содержащий комплекс флоротаннинов, проявляет выраженный защитный эффект в условиях воздействия гепатотоксического агента ЧХУ. Он способствует ускоренному восстановлению каскадов метаболических реакций углеводного и липидного обмена, антиоксидантного статуса печени экспериментальных животных. Таким образом, морская бурая водоросль *Saccharina japonica* является перспективным сырьевым источником для получения эффективных гепатопротекторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Афанасьева Ю.Г., Фахретдинова Е.Р., Спирихин Л.В. и др. О механизме взаимодействия некоторых флавоноидов с фосфатидилхолином клеточных мембран // Хим.-фарм. журн. 2007. № 7. С. 12–14.
- Венгеровский А.И., Марков И.В., Саратиков А.С. Доклиническое изучение гепатозащитных средств // Ведомости фарм. комитета. 1999. № 2. С. 9–12.
- Ермолаева Л.П. Регуляция глюконеогенеза в онтогенезе. М.: Наука. 1987. 99 с.
- Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г. и др. Экстракт из бурой водоросли *Laminaria japonica* – перспективный стресс-протекторный препарат // Биол. моря. 2010а. Т. 36, № 3. С. 215–220.
- Кушнерова Т.В., Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф. и др. Антиоксидантные и мембранопротекторные свойства экстракта из бурой водоросли *Laminaria japonica* // Биол. моря. 2010б. Т. 36, № 5. С. 384–389.
- Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Рахманин Ю.А. Антиоксидантное действие олигомерных проантоцианидинов, выделенных из калины, при поражении печени четыреххлористым углеродом и профилактике его токсического эффекта // Гиг. и сан. 2003. № 3. С. 57–60.
- Amenta J.S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography // J. Lipid Res. 1964. Vol. 5, no. 2. P. 270–272.
- Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation // Biomembranes. Part C: Biological oxidations. New York: Academic Press. 1978. P. 302–310. (Methods in Enzymology; Vol. 52).
- Cannell R. Algae as a source of biologically-active products // Pestic. Sci. 1993. Vol. 39, no. 2. P. 147–153.
- Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226, no. 1. P. 497–509.
- Kim S.M., Kang K., Jeon J.-S. et al. Isolation of phlorotannins from *Eisenia bicyclis* and their hepatoprotective effect against oxidative stress induced by tert-butyl hydroperoxide // Appl. Biochem. Biotech. 2011. Vol. 165, no. 5–6. P. 1296–1307.
- Kim Y.C., An R.B., Yoon N.Y. et al. Hepatoprotective constituents of the edible brown alga *Ecklonia stolonifera* on tacrine-induced cytotoxicity in Hep G2 cells // Arch. Pharm. Res. 2005. Vol. 28, no. 12. P. 1376–1380.
- Klingenberg M. Nicotinamide-adenin dinucleotides and dinucleotide phosphates (NAD⁺, NADP⁺, NADH, NADPH) // Metabolites 2: Tri- and dicarboxylic acids, purines, pyrimidines and derivatives, coenzymes, inorganic compounds. Basel: Verlag Chemie. 1984. P. 251–284. (Methods of Enzymatic Analysis; Vol. 7).
- Lamprecht W., Heinz F. Pyruvates // Metabolites 1: Carbohydrates. Basel: Verlag Chemie. 1984. P. 570–577. (Methods of Enzymatic Analysis; Vol. 6).
- Maffei Facino R., Carini M., Aldini G. et al. Sparing effect of procyanidins from *Vitis vinifera* on vitamin E: in vitro studies // Planta Med. 1998. Vol. 64, no. 4. P. 343–347.
- Metodiewa D., Jaiswal A.K., Cenas N. et al. Quercetin may act as a cytotoxic prooxidant after its metabolic activation to semiquinone and quinoidal product // Free Radic. Biol. Med. 1999. Vol. 26, no. 1–2. P. 107–116.
- Moron M.S., Depierre J.W., Mannervik B. Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver // Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj. 1979. Vol. 582, no. 1. P. 67–78.
- Ngo D.-H., Wijesekara I., Vo T.-S. et al. Marine food-derived functional ingredients as potential antioxidants in the food industry: an overview // Food Res. Int. 2011. Vol. 44, no. 2. P. 523–529.
- Noll F. L-(+)-Lactate // Metabolites 1: Carbohydrates. Basel: Verlag Chemie. 1984. P. 582–588. (Methods of Enzymatic Analysis; Vol. 6).
- Parys S., Rosenbaum A., Kehraus S. et al. Evaluation of quantitative methods for the determination of polyphenols in algal extracts // J. Nat. Prod. 2007. Vol. 70, no. 12. P. 1865–1870.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay // Free Radic. Biol. Med. 1999. Vol. 26, no. 9–10. P. 1231–1237.
- Recknagel R.O., Glende E.A. Jr., Dolak J.A. et al. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity // Pharmacol. Ther. 1989. Vol. 43, no. 1. P. 139–154.
- Shibata T., Ishimaru K., Kawaguchi S. et al. Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae // J. Appl. Phycol. 2008. Vol. 20, no. 5. P. 705–711.
- Shibata T., Nagayama K., Tanaka R. et al. Inhibitory effects of brown algal phlorotannins on secretory phospholipase A(2)s, lipoxygenases and cyclooxygenases // J. Appl. Phycol. 2003. Vol. 15, no. 1. P. 61–66.
- Skottova N., Kazdova L., Oliyarnyk O. et al. Phenolics-rich extracts from *Silybum marianum* and *Prunella vulgaris* reduce a high-sucrose diet induced oxidative stress in hereditary hypertriglyceridemic rats // Pharmacol. Res. 2004. Vol. 50, no. 2. P. 123–130.
- Stern J.L., Hagerman A.E., Steinberg P.D. et al. Phlorotannin-protein interactions // J. Chem. Ecol. 1996. Vol. 22, no. 10. P. 1877–1899.
- Svetashev V.I., Vaskovsky V.E. A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids // J. Chromatogr. 1972. Vol. 67, no. 2. P. 376–378.
- Weber L.W.D., Boll M., Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model // Crit. Rev. Toxicol. 2003. Vol. 33, no. 2. P. 105–136.