

Оценка качества и биологической активности Биодигидроокверцетина

О.Н. Усольцева¹, Д.Н. Оленников², Т.В. Потупчик³

¹ООО «СибПрибор»,

Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, д. 87;

²ФГБУН Бурятский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук,

Российская Федерация, 670047, Улан-Удэ, ул. Сасьяновой, 8;

³ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский

университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого,

Российская Федерация, 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Усольцева Ольга Николаевна – координатор научных исследований, общество с ограниченной ответственностью «СибПрибор» торговая марка «Байкальская Легенда», кандидат медицинских наук. Тел.: +7 (902) 511-61-56. E-mail: usolceva@baikal-legend.ru. ORCID: 0000-0002-6947-0057

Оленников Даниил Николаевич – ведущий научный сотрудник, ФГБУН, Бурятский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, Институт общей и экспериментальной биологии, доктор фармацевтических наук. Тел.: +7 (902) 160-06-27. E-mail: olennikovdn@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8194-1061

Потупчик Татьяна Витальевна – доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии с курсом ПО, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, кандидат медицинских наук. Тел.: +7 (923) 294-72-04. E-mail: potupchik_tatyana@mail.ru. ORCID: 0000-0003-1133-4447

РЕЗЮМЕ

Введение. Биодигидроокверцетин – это природная биологически активная добавка из древесины лиственницы, производимая ООО «СибПрибор» по разработанной авторской технологии под торговой маркой «Байкальская Легенда». Порошок Биодигидроокверцетин обладает низкой плотностью, высокими показателями биологической активности и биодоступности. Сублингвальный прием обеспечивает быстрое и полное проникновение биологически активного вещества в кровь.

Цель исследования: комплексное изучение состава и биологической активности БАД к пище Биодигидроокверцетина.

Материал и методы. Содержание дигидроокверцетина (%) определяли по ГОСТ 33504-2015 и фармакопейной статье предприятия «Таксифолия», качественный состав изучали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для определения биологической активности Биодигидроокверцетина изучали антирадикальную активность порошка к органическим и неорганическим радикалам естественного и искусственного происхождения методом спектрометрии и кулонометрии. Антиоксидантный потенциал оценивался с помощью спектрофотометрии и флуориметрии с определением общего антиоксидантного потенциала и способность поглощения кислородных радикалов. Железовосстановительный и железохелатирующий потенциал Биодигидроокверцетина определяли методом спектрофотометрии. Изучение биодоступности было осуществлено с использованием модели ЖКТ. Кроме того, изучалась защита органического субстрата от окислительного стресса, вызванного липопероксидами, а также противовоспалительный и мембраностабилизирующий потенциал методом спектрофотометрии.

Результаты исследования. Содержание дигидроокверцетина в образцах составило 99,2–104%. Содержание дигидроокверцетина по методике ВЭЖХ – 96,84±2,03%. Продукт высокой чистоты, на 100% состоит из активной действующей субстанции, естественным спутником дигидроокверцетина является дигидрокемпферол, содержание которого не превышает 1%. Показано, что Биодигидроокверцетин обладает антиоксидантной, антирадикальной и железовосстановительной активностью. Проведенные исследования показали, что средство Биодигидроокверцетин эффективно для защиты биологического субстрата. Кроме того, Биодигидроокверцетин показал себя инактиватором молекул оксида азота и оказывает выраженное ингибирующее действие в отношении процесса коагуляции альбумина, что указывает на его высокую противовоспалительную активность. Биодигидроокверцетин обладает выраженным мембраностабилизирующим потенциалом, высокой биодоступностью.

Заключение. Биодигидроокверцетин является высокоактивным природным средством, характеризующимся как эффективный антиоксидант, созданный по авторской технологии. Его высокая биологическая активность и чистота указывает на его эффективность и безопасность, что позволяет рекомендовать его широкому кругу населения как антиоксидантное, противовоспалительное, мембраностабилизирующее и мембранопротекторное средство высокой степени защиты. Биодигидроокверцетин

может быть рекомендован здоровым людям, проживающим в крупных городах как средство профилактики «болезней цивилизации», а также всем людям для продления активного долголетия. Кроме того, Биодигидрокверцетин может применяться как вспомогательное средство в комплексной терапии сердечно-сосудистых, онкологических, неврологических заболеваний, а также сахарного диабета типа 2.

Ключевые слова: Биодигидрокверцетин, дигидрокверцетин, авторская технология производства, биологически активная добавка, природный антиоксидант, противовоспалительное действие, мембранопротектор, мембраностабилизатор.

Для цитирования: Усольцева О.Н., Оленников Д.Н., Потупчик Т.В. Оценка качества и биологической активности Биодигидрокверцетина. Фармация, 2022; 71 (8): 5–14. <https://doi.org/10.29296/25419218-2022-08-01>

EVALUATION OF THE QUALITY AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF BIODIHYDROQUERCETIN

O.N. Usoltseva¹, D.N. Olennikov², T.V. Potupchik³

¹LLC "Sibpribor" the Russian Federation, St. Trilissera, 87, Irkutsk, 664047, Russian Federation;

²Buryat scientific center, Siberian branch of the Russian Academy of Sciences, street Casanovas, 8, Ulan-Ude, 670047, Russian Federation;

³Krasnoyarsk state medical University named after Professor V.F. Voyno-Yasenetsky, Partizan Zheleznyak str., 1, Krasnoyarsk, 660022 Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Olga Nikolaevna Usoltseva – Coordinator of Scientific research, SibPribor Limited Liability Company, Baikal Legend trademark, Candidate of Medical Sciences. Tel.: +7 (902) 511-61-56. E-mail: usolceva@baikal-legend.ru. *ORCID: 0000-0002-6947-0057*

Olennikov Daniil Nikolaevich – Leading Researcher, Federal State Budgetary Institution of Science, Buryat Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Institute of General and Experimental Biology, Doctor of Pharmaceutical Sciences. Tel.: +7 (902) 160-06-27. E-mail: olennikovdn@mail.ru. *ORCID: 0000-0001-8194-1061*

Potupchik Tatiana Vitalievna – Associate Professor of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology with a course in, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voyno-Yasenetsky" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Candidate of Medical Sciences. Tel.: +7 (923) 294-72-04. E-mail: potupchik_tatyana@mail.ru. *ORCID: 0000-0003-1133-4447*

SUMMARY

Introduction. BioDihydroquercetin is a natural dietary supplement made from larch wood, produced by "SibPribor" LLC using a proprietary technology under the trade mark "Baikal Legend". BioDihydroquercetin powder is obtained with a low density and high rates of biological activity and bioavailability, accessibility. Sublingual administration ensures rapid and complete penetration of the biologically active substance into the blood.

Objectives: a comprehensive study of the composition and the biological activity of BioDihydroquercetin in connection with the peculiarities of its production technology.

Material and methods. The content of dihydroquercetin (%) was determined according to GOST 33504-2015 and pharmacopoeial monograph of the company "Taxifolia", the qualitative composition was studied using high-performance liquid chromatography. The antiradical activity of the powder to organic and inorganic radicals of natural and artificial origin was studied by spectrometry and coulometry to determine the biological activity of BioDihydroquercetin. Antioxidant potential was assessed using spectrophotometry and fluorimetry with the determination of the total antioxidant potential and the ability to absorb oxygen radicals. The iron-reducing and iron-chelating potential of BioDihydroquercetin was determined by spectrophotometry. The study of bioavailability was carried out using GIT model. In addition, the protection of the organic substrate from oxidative stress caused by lipid peroxides, as well as the anti-inflammatory and membrane-stabilizing potential, were studied by spectrophotometry.

Results and discussion. The content of dihydroquercetin in the samples was 99.2–104%. The content of dihydroquercetin according to the HPLC method is 96.84±2.03. The product of high purity, 100% consists of an active substance, an accompanying satellite of dihydroquercetin is a natural accompanying satellite of dihydroquercetin – dihydrokaempferol, the content of which does not exceed 1%. Biodihydroquercetin was shown to have antioxidant, antiradical and iron-reducing activity. The conducted studies have shown that Biodihydroquercetin is effective for protecting the biological substrate. In addition, BioDihydroquercetin has shown to be a good inactivator of nitric oxide molecules and has a pronounced inhibitory effect on the albumin coagulation process, which indicates its high anti-inflammatory activity. BioDihydroquercetin also has a pronounced membrane stabilizing potential. The special form of the powder, produced according to the author's technology, ensures high bioavailability.

Conclusion. BioDihydroquercetin is a highly active natural product, characterized as an effective antioxidant, created using an author's technology. Its high biological activity and purity indicate its effectiveness and safety, which allows it to be recommended to a wide range of the population as an antioxidant, anti-inflammatory, membrane-stabilizing and membrane-protective agent of a high degree of protection. Biodihydroquercetin can be recommended to healthy people, living in big cities as a means of preventing "diseases of civilization", also to all people for active longevity. Besides, Biodihydroquercetin can be used as an adjuvant in complex therapy of cardio-vascular, oncological, neurological diseases as well as diabetes mellitus type 2.

Key words: BioDihydroquercetin, dihydroquercetin, author's production technology, biologically active additive, natural antioxidant, anti-inflammatory effect, membrane protector, membrane stabilizer.

For reference: Usoltseva O.N., Olennikov D.N., Potupchik T.V. Evaluation of the quality and biological activity of BioDihydroquercetin. Farmatsiya, 2022; 71 (8): 5–14. <https://doi.org/10.29296/25419218-2022-08-01>

Введение

В последние годы повышенное внимание уделяется растительным полифенолам – биофлавоноидам. Флавоноиды (биофлавоноиды) представляют собой фенольные соединения, которые синтезируются в растениях из фенилаланина и накапливаются в листьях, древесине, корнях, плодах, семенах, цветках.

Дигидрокверцетин – активный антиоксидант, природный акцептор свободных радикалов кислорода. В конце 1960-х годов профессором Н.А. Тюкавкиной, заведующей кафедрой органической химии МГМУ им. Сеченова, с группой ученых из Иркутска, был проведен комплекс исследований дигидрокверцетина из древесины лиственницы, которые на данный момент продолжаются и не теряют своей актуальности [1].

Сегодня существует множество методик получения дигидрокверцетина. БиоДигидрокверцетин (БДК) – это природная биологически активная добавка (БАД), производимая под торговой маркой «Байкальская Легенда», которая отличается особой технологией переработки дигидрокверцетина, полученного методом экстракции. Особенности БДК являются высокая чистота продукта (>99%), состоящего только из активной действующей субстанции, и низкая насыпная плотность. Порошок принимается под язык, что обеспечивает его высокую биодоступность. Эффективность и безопасность БДК подтверждена рядом лабораторных и клинических исследований [2–4].

БДК проявляет биологическую активность в ряде процессов в организме. БДК ингибирует процессы перекисного окисления липидов клеточных мембран, препятствует повреждающему действию свободных радикалов, обладая выраженным антиоксидантным действием. В клинической практике в схемах лечения используются разные препараты антиоксидантного действия. Дигидрокверцетин является одним из наиболее эффективных в данной группе препаратов. Антиоксидантная активность его проявляется уже при его концентрациях 0,0001–0,00001%. Это минимальная концентрация вещества с антиоксидантной активностью по сравнению со всеми известными экзогенными антиоксидантами, в том числе витаминами Е, А, В, С, бета-каротином [2].

Известно, что такие антиоксиданты, как витамин С и Е способствуют уменьшению бета-амилоидных отложений при болезни Альцгеймера. В исследованиях (методом ORAC) было показано, что антиоксидантная активность БДК в разы превос-

ходит антиоксидантную активность этих средств и составляет 27578 ± 717 мкМ ТЕ/г, тогда как антиоксидантная активность у аскорбиновой кислоты и витамина Е (2185 ± 056 и 1247 ± 717 мкМ ТЕ/г соответственно). Данный факт подтверждает целесообразность применения БДК в профилактике деменции. БДК можно рассматривать также как эффективный геропротектор [5].

БДК способствует поддержанию нормального функционального состояния сердечно-сосудистой системы и способствует сохранению эластичности сосудов и капилляров, предотвращает воспаление сосудистой стенки и замедляет процесс атерогенеза. БДК обладает антиагрегантным действием, препятствуя склеиванию эритроцитов и профилактируя риск тромбообразования. Антитромбоцитарные свойства дигидрокверцетина показаны в исследовании, где подтверждено, что он может дозозависимо подавлять агрегацию тромбоцитов, активированных различными индукторами. БДК препятствует разрушению клеточных мембран, оказывает капилляропротективное действие, улучшает микроциркуляцию. Все эти свойства БДК являются основой профилактического действия в развитии и прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний: стенокардия, инсульт, инфаркт, гипертоническая болезнь и др. [2, 5, 6].

В Иркутском государственном медицинском университете было проведено исследование применения БДК для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний у лиц пожилого возраста, занимающихся в группах здоровья, которое показало, что на фоне приема БДК в течение 2 мес отмечалось достоверное снижение массы тела на 1 кг ($p=0,0004$); индекса массы тела – на 2,6 кг/м² ($p=0,0005$); систолическое АД – на 3 мм рт. ст. ($p=0,0092$); диастолическое АД – на 10 мм рт. ст. ($p=0,0262$); жировая масса – на 1,1% ($p=0,0262$).

Наблюдался статистически значимый рост интегральных показателей здоровья: индекса функциональных изменений – на 2% ($p=0,0147$); психических резервов – на 10% ($p=0,0278$) и общих резервов – на 2,1% ($p=0,0279$). Из исследования делается вывод, что коррекция образа жизни и прием БДК позволяют в ограниченные сроки снизить влияние сердечно-сосудистых факторов риска (артериальная гипертония и избыточная масса тела) и увеличить резервы здоровья у физически активных лиц пожилого возраста [2].

Показано, что дигидрокверцетин подавляет процесс окислительной модификации холесте-

рина [7, 8], что может снижать атерогенный потенциал липопротеидов крови. Возможности дигидрохверцетина в качестве ингибитора синтеза и стимулятора обратного транспорта холестерина показаны только в экспериментах *in vitro* [9, 10].

Н.П. Судаков с соавт. провели исследование на животных, которое показало, что при применении дигидрохверцетина холестерин антиатерогенной фракции липопротеинов высокой плотности статистически значимо возрастал на 20%, что послужило причиной значимого снижения коэффициента атерогенности на 21,7% [11]. Таким образом, БДК может быть рекомендован в комплексной терапии атеросклероза.

БДК оказывает гепатопротективное действие, а также уменьшает неблагоприятное воздействие на организм химио- и радиотерапии. БДК обладает также гастропротективной активностью: стимулирует процессы регенерации слизистой оболочки желудка, что позволяет его использовать при лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, эрозивном и атрофическом гастритах, хронических заболеваниях печени, синдроме раздраженного кишечника [12].

БДК повышает активацию Т-лимфоцитов путем индукции выработки интерферонов, таким образом, является иммуномодулятором. При длительном приеме предупреждает обострение хронических заболеваний органов дыхания и снижает риск возникновения острого респираторного вирусного заболевания [6, 13].

БДК повышает чувствительность тканей к инсулину, улучшая утилизацию глюкозы крови, и затормаживает развитие сосудистых осложнений сахарного диабета как микроангиопатий, так и форсированных атеросклеротических повреждений. Экспериментальные исследования С.С. Целуйко с соавт. показали, что применение дигидрохверцетина на фоне 8-недельной гипергликемии у беспородных белых крыс, приводит к снижению уровня глюкозы, снижению содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ и снижению дистрофических изменений в бета-инсулоцах. Снижался также уровень структурных изменений в соединительной ткани и стенке кровеносных сосудов [14].

БДК оказывает эффективное антигенотоксическое действие, что показано в исследовании сербскими учеными. Они впервые протестировали генотоксическое и антигенотоксическое действие биочаги в комбинации с дигидрохверцетином. Никакого генотоксического эффекта на клетки цельной крови не наблюдалось ни

при индивидуальном лечении биочагой (250, 500 и 1000 мкг/мл) и дигидрохверцетином (100, 250 и 500 мкг/мл), ни в комбинации. Их исследование показало, что дигидрохверцетин способен защищать геномный материал от окислительного повреждения, вызванного перекисью водорода *in vitro* [15], что может быть одним из аргументов к использованию БДК для профилактики онкологических процессов.

Целью исследования было комплексное изучение состава и содержания БАВ и биологической активности БАД к пище БДК.

Материал и методы

Для изучения физико-химических свойств и биологической активности порошка БДК на базе Бурятского научного центра сибирского отделения Российской академии наук (БНЦ СО РАН) института общей и экспериментальной биологии, был проведен комплекс лабораторных исследований, в результате которых были изучены физико-химические показатели порошка и его биологическая активность.

Количественное и качественное определение дигидрохверцетина в порошке БДК проводили с помощью ИК-Фурье спектроскопии, таблетка с КВг, на приборе ИК-Фурье спектрометр ФТ-801 (Сигма, Новосибирск; свидетельство о поверке №0427/11, от 20.02.2016 до 20.02.2017) и ВЭЖХ на приборе: микроколоночный высокоэффективный жидкостной хроматограф Милихром А-02 (Эконова, Новосибирск; свидетельство о поверке №312/37, от 25.01.2016 до 25.01.2017).

Количественное определение дигидрохверцетина в порошке БДК проводили согласно методике ГОСТ 33504-2015 [17] и фармакопейной статье предприятия ООО «Таксифолия».

Для определения биологической активности исследуемых образцов использовали набор основных методик (10 показателей), позволяющих оценить различные аспекты антиоксидантной защиты. Антиоксидантный потенциал БДК был исследован двумя способами: определение общего антиоксидантного потенциала (ОАП) и определение Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) – способность поглощения кислородных радикалов.

Общий антиоксидантный потенциал (ТАС) определялся методом спектрофотометрии, на приборе: Спектрофотометр ПЭ-5400УФ (ЭКРОС, СПб; свидетельство о поверке №0256/18, от 20.02.2016 до 20.02.2017). Показатель ОАП представляет собой аддитивный потенциал к прояв-

лению антиоксидантных свойств и выражается, в эквивалентах какого-либо антиоксиданта, в данном случае – галловой кислоты (мг-эквивалент галловой кислоты/г).

Определение показателя ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), определяли методом флуориметрии, на приборе: Флуориметр КВАНТ-9 (ОАО Барнаульское ОКБА, Барнаул (Россия); свидетельство о поверке №0152/36, от 15.03.2016 до 15.03.2017).

Антирадикальная активность к органическим радикалам искусственного и естественного происхождения измерялась методом спектрофотометрии на спектрофотометре ПЭ-5400УФ. ЭКРОС, СП) [19].

Антирадикальная активность против неорганических радикалов (радикал Вг•) проводили методом кулонометрии на приборе Кулонометр Эксперт 006 (Эконикс Эксперт, Россия) [20].

Железовосстановительная и железохелатирующая способность БДК определяли методом спектрофотометрии на спектрофотометре ПЭ-5400УФ (ЭКРОС, СПб) [20, 21].

Определение связывания БДК оксида азота (NO), определяли методом спектрофотометрии на приборе спектрофотометр ПЭ-5400УФ, что позволяло изучить его противовоспалительный и антиоксидантный потенциал [22].

Исследование защиты органического субстрата от окислительного стресса вызванного липопероксидами, проводилось методом спектрометрии, на приборе спектрофотометр ПЭ-5400УФ [21].

Изучение мембраностабилизирующих свойств. Ингибирование осмотического гемолиза эритроцитов определяли методом спектрофотометрии на спектрофотометре ПЭ-5400УФ (ЭКРОС, СПб; свидетельство о поверке №0256/18, от 20.02.2016 до 20.02.2017) [23].

Изучение противовоспалительных свойств. Ингибирование термокоагуляции альбумина определяли методом спектрофотометрия с помощью прибора спектрофотометр ПЭ-5400УФ (ЭКРОС, СПб; свидетельство о поверке от 20.02.2016 №0256/18 до 20.02.2017) [23].

Изучение биодоступности дигидрофлавонола осуществлялось с использованием модели симулированного желудочно-кишечного пищеварения на модели, разработанной ранее Olennikov et al. (2015). Средство БДК применяли в дозе 70 мг на 1 прием (рекомендованный уровень потребления). В качестве пищеварительных сред применяли желудочный сок и среду тонкого кишечника,

включая основной набор ферментов, солей и кислот. Объем отделяемого желудка и кишечника составил около 25–30 мл. Пробы термостатировали в стерильных условиях в камерах с пониженным содержанием кислорода [24].

Определение химической стабильности БДК в процессе хранения. Метод: ускоренное хранение; срок – 2 года (720 сут). Фармакопея, XIII изд., ОФС 42-0075-07. т. 1. 3.2 «Содержание дигидрофлавонола» [25].

Результаты и обсуждение

Согласно данным ИК-Фурье спектроскопии, можно утверждать, что средство БДК содержит набор полос, характерный для дигидрофлавонола. Содержание дигидрофлавонола в образцах составило 99,2–104%. Содержание дигидрофлавонола по методике ВЭЖХ – 96,84±2,03. Содержание дигидрокемпферола (аромадендрин – естественного спутника БДК) – не более 1% (табл. 1).

Для подтверждения биологической активности БДК, были проведены исследования, показывающие его антиоксидантное, антирадикальное, железовосстановительное и железохелатирующее действие.

Проведенные исследования антиоксидантного потенциала: общий антиоксидантный потенциал (ТАС) составил 964,30±38,57 мг-экв. галл. к-ты/г и был близок показателю галловой кислоты – стандарта, используемого в данной методике.

Таблица 1

Физико-химические показатели Биодигидрофлавонола

Table 1

Physico-chemical parameters of BioDihydroquercetin

Название показателя	Метод	X±SD, %
	ИК-Фурье спектроскопия, таблетка с КВг	Согласно данным ИК-Фурье спектроскопии, можно утверждать, что спектр БДК идентичен спектру дигидрофлавонола
Содержание дигидрофлавонола, %	по ГОСТ 33504-2015	99,2–104
Содержание дигидрофлавонола	ВЭЖХ	96,84±2,03
Дигидрокемпферол (аромадендрин) – естественный спутник биодигидрофлавонола, %		≤1

Показатель ORAC был отмечен для БДК (27578 мкМ ТЕ/г), близкий к таковому препарата сравнения – катехина (27042 мкМ-33-ТЕ/г) и превышающий значения ORAC для таких антиоксидантов как аскорбиновая кислота и витамин Е (2185±056 мкМ ТЕ/г, 1247±031 мкМ ТЕ/г соответственно) (табл. 2, 3).

Антирадикальное действие БДК показано в отношении органических и неорганических искусственных и естественных свободных радикалов. Исследование антирадикальной активности против нейтрального радикала DPPH (искусственный радикал) показало, что БДК является активным с показателем 50% связывания радикалов 8,87 мкг/мл, против катион радикала ABTS (искусственный радикал) показана активность с показателем 50% связывания радикалов 5,34 мкг/мл. Кроме того, БДК показал хорошие значения в отношении N-центрированного радикала DMPD (искусственный радикал) с показателем 50% связывания радикалов 82,1 мкг/мл. Исследование антирадикальной активности против естественных радикалов,

супероксидного и гидроксильного радикалов, показало, что БДК является активным средством с хорошим показателем 50% связывания радикалов 25,69 и 34,19 мкг/мл соответственно (табл. 4).

Исследование антирадикальной активности против радикала брома (неорганический искусственный радикал) показало, что БДК обладает хорошей способностью связывать данные радикалы с показателями 857,69±7,14 мг-экв./г соответственно. Антирадикальные свойства БДК могут быть оценены как перспективные средства в борьбе с органическими и неорганическими оксидантами эндогенного и экзогенного характера для детоксикации организма (табл. 5).

Железовосстановительная способность – показатель, характеризующий потенциальную способность средства к восстановлению свободных радикалов. Показатели в диапазоне 2–5 мМ Fe²⁺/г свидетельствует об очень высокой активности средства. Ионы Fe²⁺ являются активными участниками процесса дестабилизации антиоксидантного равновесия в живом организме, образуя в

Таблица 2

Показатели антиоксидантной активности Биодигидрокверцетина

Table 2

Indicators of antioxidant activity of BioDihydroquercetin

Свойство	Метод	Показатель
Анти-оксидантное	ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), флуориметрия, мкМТЕ/г	27578±717
	ОАП (Общий антиоксидантный потенциал), спектрометрия, мг – экв.галл.кислоты/г	964,30±38,57

Таблица 3

Сравнительные значения ORAC Биодигидрокверцетина и других антиоксидантов

Table 3

Comparative values of ORAC of BioDihydroquercetin and other antioxidants

Биологически активное соединение	ORAC, мкМ ТЕ/г
Биодигидрокверцетин	27 578±717
Катехин	27 042±703
Аскорбиновая кислота	2185±056
Витамин Е	1247±031

Примечание. ТЕ – эквиваленты тролокса (ORAC тролокса = 4000 мкМ ТЕ/г).
Note. TE = trolox equivalents (trolox ORAC = 4000 μm TE/g).

Таблица 4

Показатели антирадикальной активности Биодигидрокверцетина к органическим радикалам искусственной и естественной природы

Table 4

Indicators of antiradical activity of BioDihydroquercetin to organic radicals of artificial and natural nature

Показатель	Показатель IC мкг/мл
DPPH* нейтральный искусственный радикал	8,87±0,22
ABTS Катион-радикал искусственной природы	5,34±0,14
DMPD – N-центрированный радикал	82,1±3,2
O ₂ * супероксид радикал	25,69±0,61
ОН* гидроксильный радикал	34,19±1,36

Таблица 5

Показатели антирадикальной активности Биодигидрокверцетина против радикалов неорганической природы

Table 5

Indicators of the antiradical activity of BioDihydroquercetin against inorganic radicals

Показатель	Эквиваленты галловой кислоты, мг-экв./г
Радикал Вг- искусственный радикал	857,92±25,73

присутствии пероксида водорода так называемый реактив Фентона – естественный катализатор процессов пероксидации. БДК обладает хорошей способностью к связыванию ионов Fe^{2+} (6,07 мг Fe^{2+} /г) и характеризуется как сильный восстановитель (табл. 6).

Оксид азота (NO) является плейотропным медиатором ряда патологических процессов в живом организме, включая воспаление, окислительный стресс и другие. Способность средства к инаktivации NO демонстрирует его потенциальные антиоксидантные и противовоспалительные свойства. Показатель активности <500 мкг/мл, указывает на активность продукта в отношении связывания NO. У БДК этот показатель составил (IC50, мкг/мл ~300), что демонстрирует его противовоспалительный потенциал.

Еще одним исследованием было изучение протективных свойств БДК в экспериментальной модели повреждения органического субстрата (имитация клеточной стенки) от окислительных повреждений, вызванных липопероксидными соединениями. В данной модели в качестве источника повреждений служит целый каскад перекисных компонентов, образующихся в результате реакции пероксида водорода, диметилсульфоксида и арахидоновой кислоты. Если показатель IC50 мкг/мл <50 мкг/мл, то средство можно считать потенциально протекторным для защиты клеточной мембраны (мембранопротектор). Проведенные исследования показали, что средство БДК эффективно для защиты биологического субстрата (IC50 – 9,63 мкг/мл).

Изучение мембраностабилизирующих свойств лекарственных средств, используемых в качестве противовоспалительных агентов, основано на способности лизосомальных ферментов в процессе воспаления входить внутрь клетки, вызывая при этом целый каскад патологических изменений. Стабилизация мембран клеточных органелл при данном процессе позволяет уменьшить проявление данного негативного явления, способствуя тем самым сохранности клеточного содержимого. Проведенные исследования показали, что БДК является активным мембраностабилизирующим агентом, который в дозе 200 мкг/мл сохраняет до 68,1% эритроцитов. Применение преднизолона в аналогичной дозе позволяет сохранить 82,7% клеток (табл. 7).

Для изучения противовоспалительных свойств изучали ингибиторные свойства БДК в отношении процесса коагуляции альбумина, основного химического процесса, происхо-

дящего при воспалительном повышении температуры тела. В качестве вещества сравнения применяли коммерческий образец диклофенака натрия – известного нестероидного противовоспалительного средства. Проведенные исследования показали, что БДК обладает дозозависимым противовоспалительным действием. Для БДК определена активность подавлять коагуляцию альбумина на 83,9% в сравнении с контролем в дозе 800 мкг/мл. Эффективность диклофенака натрия была значительно ниже – 64,3% в аналогичной дозе (табл. 8).

Таблица 6

Железо-восстановительная и железо-хелатирующая способность БиоДигидрокверцетина

Table 6

Iron-reducing and iron-chelating ability of BioDihydroquercetin

Показатель	Значение
Железозависимая способность, показатель восстановления, мМ Fe^{2+} /г	6,07±0,14
Железохелатирующая активность, показатель хелатирования, мг Fe^{2+} /г	4,37±0,17

Таблица 7

Показатели стабилизации мембран эритроцитов, % защиты от гемолиза в сравнении с контролем

Table 7

Indicators of stabilization of erythrocyte membranes, % of protection against hemolysis in comparison with control

Концентрация, мкг/мл	БДК	Преднизолон
10	36,9	41,2
50	43,7	48,4
100	52,8	63,9
200	68,1	82,7

Таблица 8

Показатели ингибирования термокоагуляции альбумина, % ингибирования в сравнении с контролем

Table 8

Indicators of inhibition of albumin thermocoagulation, % of inhibition in comparison with control

Концентрация, мкг/мл	БДК	Диклофенак натрия
50	12,9	5,2
200	27,8	10,4
800	83,9	64,3

Определение биодоступности. Исследование желудочной фазы пищеварения показало, что дигидрокверцетин является кислотоустойчивым соединением. Степень деструкции в течение 60 минут составила для дигидрокверцетина – 3,6%. Наблюдаемая степень деструкции дигидрокверцетина была невысокой, что свидетельствовало о кислотной стабильности дигидрофлавонов, к группе которых относится данный флавоноид. Общая потеря целевых соединений

в период желудочной фазы пищеварения не превысил 6% для дигидрокверцетина. Кишечная фаза пищеварения характеризуется большим значением pH (щелочной уровень), а также сопутствующим процессом диализа через полупроницаемую стенку для некоторых молекул, попадающих в кровяной ток. Численный уровень проникающих через стенку компонентов характеризует показатель, именуемый биодоступностью соединения. Концентрации дигидрокверцетина в диализате увеличивалась очень быстро и составила от 74,7 до 76,9% от исходного уровня, что указывает на его очень высокую биодоступность (табл. 9).

Таблица 9

**Показатели определения биодоступности
Биодигидрокверцетина**

Table 9

**Indicators for determining bioavailability
of BioDihydroquercetin**

Время инкубации, мин	% от исходного содержания мг/мл желудочного сока
0	2,78 (100)
10	2,78 (100)
20	2,77 (99,6)
30	2,75 (98,9)
40	2,73 (98,2)
50	2,7 (97,1)
60	2,68 (96,4)

Таблица 10

**Содержание дигидрокверцетина,
% от массы средства (% от исходного содержания)**

Table 10

**The content of dihydroquercetin,
% by weight of the product (% of the initial content)**

Срок, сут	% от исходного содержания
0	96,84 (100)
30	96,83 (99,9)
60	96,8 (99,9)
90	96,76 (99,9)
120	96,77 (99,9)
180	96,72 (99,8)
240	96,7 (99,8)
300	96,68 (99,8)
360	96,66 (99,8)
420	96,62 (99,7)
480	96,58 (99,7)
540	96,52 (99,6)

Для определения характера количественных изменений, происходящих с готовым лекарственным средством в процессе хранения применяется схема ускоренного старения. Температура хранения составляла 60°C. Полученные данные приведены в табл. 10.

В настоящем исследовании были изучены физико-химические особенности БДК, применен широкий спектр методик, определяющих его биологическую активность.

БДК обладает высоким антиоксидантным действием в экспериментах. БДК имеет высокий потенциал как противовоспалительное средство и средство защиты клеточной мембраны от липопероксидами. В связи с этим БДК может быть использован как противовоспалительное, мембраностабилизирующее и мембранопротекторное средство.

Таким образом, данное исследование определяет клинический потенциал БДК и показывает основные направления его использования. Основываясь на этих данных, БДК можно рекомендовать как профилактическое средство защиты клеток организма от избыточного воздействия оксидантов с целью снижения риска ряда хронических заболеваний, включая рак, сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет и нейродегенеративные расстройства, что также подтверждено в ряде исследований [2, 3, 11, 14].

Заключение

Новая биологически активная добавка БДК является высокоактивным средством, природного происхождения, характеризующимся выраженной антиоксидантной активностью, что обусловлено технологией производства. Результаты полученных исследований позволяют рекомендовать БАД как средство профилактики и защиты от оксидативного стресса, который

является ведущим компонентом в патогенезе сердечно-сосудистых, онкологических, неврологических заболеваний, сахарного диабета и является ведущим звеном ускоренного старения организма.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература/References

- Северьянова А.В., Мачнева И.В., Газизова А.И. Дигидрокверцетин: история создания и перспективы применения. Материалы X Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум» URL: <https://scienceforum.ru/2018/article/2018000636> (дата обращения: 30.10.2022). [Severyanova A.V., Machneva I.V., Gazizova A.I. Dihydroquercetin: history of creation and prospects of application. Materials of the X International Student Scientific Conference "Student Scientific Forum" URL: <https://scienceforum.ru/2018/article/2018000636> (accessed: 10/30/2022). (in Russian)].
- Максикова Т.М., Калягин А.Н., Усольцева О.Н., Бабанская Е.Б. Возможности использования Биодигидрохверцетина для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний у лиц пожилого возраста, занимающихся в группах здоровья, Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2016; 141 (2): 34–9. [Maksikova T.M., Kalyagin A.N., Usoltseva O.N., Babanskaya E.B. The possibilities of using Bio-Dihydroquercetin for the prevention of cardiovascular diseases in elderly people engaged in health groups, Siberian Medical Journal (Irkutsk). 2016; 141 (2): 34–9 (in Russian)].
- Ганов Д.И. Использование качественных природных БАДов в качестве сопроводительной терапии при радикальном лучевом лечении и химиотерапии онкоурологических пациентов. Врач. 2021; 32 (11): 76–9. [Ganov D.I. The use of high-quality natural dietary supplements as an accompanying therapy for radical radiation treatment and chemotherapy of oncurological patients. Doctor. 2021; 32 (11): 76–9. DOI: <https://doi.org/10.29296/25877305-2021-11-16> (in Russian)].
- Синкина Т.В. Биодигидрохверцетин (БДК) и Биочага (БЧ) как сопроводительная терапия при химиотерапевтическом и послеоперационном курсе дистанционной лучевой терапии рака молочной железы. Медицина: целевые проекты. 2020; 36: 28–30. [Sinkina T.V. Bio dihydroquercetin (BDK) and Biochaga (BCH) as an accompanying therapy in the chemotherapeutic and postoperative course of remote radiation therapy for breast cancer. Medicine: target projects. 2020; 36: 28–30 (in Russian)].
- Васенина Е.Е., Левин О.С. Окислительный стресс в патогенезе нейродегенеративных заболеваний: возможности терапии. Современная терапия в психиатрии и неврологии. 2013; 3–4: 39–46. [Vasenina E.E., Levin O.S. Oxidative stress in the pathogenesis of neurodegenerative diseases: therapeutic possibilities. Modern therapy in psychiatry and neurology. 2013; 3–4: 39–46 (in Russian)].

- Усольцева О.Н. Профилактика ускоренного старения и "болезней цивилизации" с помощью природных геропротекторов Биочага и Биодигидрохверцетин. Медицинская сестра. 2022; 3: 35–9. [Usoltseva O.N. Prevention of accelerated aging and "diseases of civilization" with the help of natural geroprotectors Biochaga and BioDihydroquercetin. A nurse. 2022; 3: 35–9. DOI:10.29296/25879979-2022-03-07 (in Russian)].
- Kim A., Nam Y.J., Lee C.S. Taxifolin reduces the cholesterol oxidation product-induced neuronal apoptosis by suppressing the Akt and NF- κ B activation-mediated cell death. Brain Res Bull. 2017; 134: 63–71. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2017.07.008.
- Joo S.-J., Park H.-J., Park J.-H., Cho J.-G., Kang J.-H., Jeong T.-S., Kang H.C., Lee D.-Y., Kim H.-S., Byun S.-Y., Baek N.-I. Flavonoids from Machilus japonica stems and their inhibitory effects on LDL oxidation. Int J. Mol. Sci. 2014; 15 (9): 16418–29. DOI: 10.3390/ijms150916418.
- Therault A., Wang Q., Van Iderstine S.C., Chen B., Franke A.A., Adeli K. Modulation of hepatic lipoprotein synthesis and secretion by taxifolin, a plant flavonoid. J. Lipid Res. 2000; 41: 1969–79.
- Haque Md.W., Bose P., Siddique M.U.M., Sunita P., Lapenna A., Pattanayak S.P. Taxifolin binds with LXR (a & P) to attenuate DMBA-induced mammary carcinogenesis through mTOR/Maf-1/PTEN pathway. Biomed Pharmacother. 2018; 105: 27–36. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.05.114.
- Судаков Н.П., Попкова Т.П., Лозовская Е.А., Никифоров С.Б., Клименков И.В., Ежикеева С.Д., Тен М.Н., Левчук А.А., Бабкин В.А. Влияние Дигидрохверцетина на гиперхолестеринемии. Химия растительного сырья. 2020; 4: 281–8. DOI: 10.14258/jcprm.2020047767 [Sudakov N.P., Popkova T.P., Lozovskaya E.A., Nikiforov S.B., Klimenkov I.V., Enikeeva S.D., Ten M.N., Levchuk A.A., Babkin V.A. The effect of Dihydroquercetin on hypercholesterolemia. Chemistry of plant raw materials. 2020; 4: 281–8. DOI: 10.14258/jcprm.2020047767 (in Russian)].
- Дигидрохверцетин. Регистр лекарственных средств России. [Dihydroquercetin. Register of Medicines of Russia URL: <https://www.rlsnet.ru/active-substance/digidrokvercetin-1990> [Dihydroquercetin. Register of Medicines of Russia. URL: <https://www.rlsnet.ru/active-substance/digidrokvercetin-1990> (in Russian)].
- Шелковская О.В., Иванов В.Е., Карп О.Э., Шелковская О.В. Дигидрохверцетин уменьшает концентрацию перекиси водорода и гидроксильных радикалов, индуцированных рентгеновским излучением. Современные проблемы науки и образования. 2015; 3: URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=18969> (дата обращения: 30.10.2022). [Shalkovskaya O.V., Ivanov V.E., Karp O.E., Shchelkovskaya O.V. Dihydroquercetin reduces the concentration of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals induced by X-ray radiation. Modern problems of science and education. 2015; 3: URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=18969> (accessed: 10/30/2022) (in Russian)].
- Целуйко С.С., Красавина Н.П., Корнеева Л.С. Дигидрохверцетин и его эффективность при длительной экспериментальной гипергликемии. Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2011; 1: 92–5. [Tseluiko S.S., Krasavina N.P., Korneeva L.S. Dihydroquercetin and its effectiveness in long-term experimental hyperglycemia. Health. Medical ecology. The science. 2011; 1: 92–5 (in Russian)].

15. Zivkovic L., Bajic V., Topalovic D. Bruić M, Spremo-Potparević B. Antigenotoxic Effects of Biochaga and Dihydroquercetin (Taxifolin) on H₂O₂-Induced DNA Damage in Human Whole Blood Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 5039372. DOI: 10.1155/2019/5039372.
16. Olennikov D.N., Agafonova S.V., Stolbikova A.V., Rokhin A.V. Melanin of *laetiporus sulphureus* (BULL.: FR.) Murr sterile form. *Appl. Biochem Microbiol*. 2011; 47 (3): 298–303. DOI:10.1134/S0003683811030094
17. Межгосударственный стандарт. Добавки пищевые. Дигидрокверцетин. Технические условия. [Interstate standard. Food additives. Dihydroquercetin. Technical conditions. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200126898> (in Russian)].
18. Prieto P., Pineda M., Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*. 1999; 269 (2): 337–41. DOI: 10.1006/abio.1999.4019.
19. Seyoum A., Asres, K., El-Fiky F.K. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Phytochemistry*. 2006; 67: 2058–70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.07.002>
20. Yen G.-C., Su H.-J., Yeh C.-T., Wu C.-H., Duh P.-D. Scavenging effects of lotus seed extracts on reactive nitrogen species. 2006; 94 (4): 596–602. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.11.052
21. Potapovich M.V., Metelitz D.I., Shadyro O.I., Kurchenko V.P. Antioxidant activity of oxygen-containing aromatic compounds. *Appl. Biochem. Microbiol*. 2011; 47 (4): 346–55. DOI: 10.1134/S0003683811040144
22. Zhou B., Guo Z., Xing J., Huang B. Nitric oxide is involved in abscisic acid-induced antioxidant activities in *Stylosanthes guianensis*. *Journal of Experimental Botany*. 2005; 56: 3223–8.
23. Глазырина Ю.А., Сараева С.Ю., Козицина А.Н., Герасимова Е.Л., Матерн А.И. Оптические методы в фармацевтическом анализе: лаборатор. практикум: учеб.-метод. пособие. Под общ. ред. С.Ю. Сараевой. М-во образования и науки Рос. Федерации, Урал. федер. ун-т. Екатеринбург: Урал. ун-та, 2015. [Glazyrina Yu.A., Saraeva S.Yu., Kozitsina A.N., Gerasimova E.L., Matern A.I. Optical methods in pharmaceutical analysis: laboratory. workshop: study.-method. Manual. Under the general editorship of S.Yu. Saraeva. Ministry of Education and Science of the Russian Federation. Federation, Ural. feder. un-t. Yekaterinburg: Ural. un-ta, 2015 (in Russian)].
24. Olennikov D.N. In vitro bioaccessibility, human gut microbiota metabolites and hepatoprotective potential of chebulic ellagitannins. *Nutrients*. 2015; 7 (10): 8735–49.
25. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Москва, 2018. [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII edition Moscow, 2018 (in Russian)].

Поступила 8 ноября 2022 г.

Received 8 November 2022

Принята к публикации 1 декабря 2022 г.

Accepted 1 December 2022