

УДК:615.322:616.36:615.244.03:615.917:547.262:613.81

ПРОФИЛАКТИКА НАРУШЕНИЙ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У КРЫС КОМПЛЕКСОМ ФЛОРОТАННИНОВ ИЗ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ *SARGASSUM PALLIDUM* ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

© 2025 г. В. Г. Спрыгин[®], С. Е. Фоменко, Н. Ф. Кушнерова

Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН,

Владивосток, 690041 Россия

[®]E-mail: vgs2006@mail.ru

Поступила в редакцию 25.03.2024 г.

После доработки 28.06.2024 г.

Принята к публикации 28.06.2024 г.

Показано, что комплекс флоротаннинов, выделенный из морской бурой водоросли *Sargassum pallidum*, предохранял пул окисленной формы НАД⁺–НАДФ⁺ от истощения при острой алкогольной интоксикации. Восстановление соотношения НАД⁺/НАДФ⁺ обеспечило сохранение окислительно-восстановительного потенциала в печени, необходимый уровень окисленных форм метаболитов лактат-дегидрогеназного и глицерол-3-фосфатдегидрогеназного челночных циклов для поддержания реакций аэробного гликолиза и глюконеогенеза, пентозофосфатного цикла, способствовало предотвращению состояния тканевой гипоксии и нормализации уровня глюкозы крови. Это дает основание для рекомендации применения комплексов флоротаннинов в качестве средства профилактики ослабляющего токсические проявления этанола.

Ключевые слова: флоротаннины, *Sargassum pallidum*, этанол, углеводный обмен, алкогольная интоксикация, профилактика

DOI: 10.31857/S1026347025020025

Алкогольная болезнь печени (АБП) является основной причиной смертности от алкоголя. Окисление этилового спирта приводит к нарушению метаболических процессов и образованию продуктов, вызывающих токсическое поражение органов и тканей, и в первую очередь печени, которая является основным местом метаболизма этанола в организме (Lieber, 2009). Это приводит к развитию АБП, главной причины формирования ряда ее хронических патологий (Lieber, 2004). Как следствие роста потребления алкогольных напитков отмечается повышение заболеваемости и смертности во всем мире (Stockwell *et al.*, 2016). Одним из первичных факторов, определяющих формирование АБП является избыточная продукция НАДФ при окислении этанола. Следствием этого является изменение такого фундаментального параметра, как отношение НАД⁺/НАДФ, приводящее к резкому сдвигу окислительно-восстановительного равновесия в цитозоле и митохондриях (Lieber, 2004). Это выражается в далеко распространяющемся действии на большинство клеточных систем, так как НАД-система связана определенным образом с большинством реакций,

таких как аэробный гликолиз, цикл Кребса и целый ряд других процессов углеводного и энергетического обмена (Xiao *et al.*, 2018).

Для профилактики АБП актуальным является разработка препаратов на основе природных комплексов, в частности растительного происхождения, способных максимально облегчить патологические изменения в печени при алкогольной интоксикации.

Перспективным способом решения данной проблемы является введение в пищу растительных антиоксидантов и, в частности, полифенольных соединений (ПФ). ПФ традиционно входят в пищевой рацион человека и имеют низкий уровень токсичности. По некоторым данным, суточное потребление ПФ человеком может достигать 1 грамма и более в день (Chiva-Blanch, Badimon, 2017). Ранее нами было показано, что проантоцианидины, относящиеся к группе конденсированных танинов (Beecher, 2003), способны не только восстанавливать показатели углеводного обмена при алкогольной интоксикации (Спрыгин, 2012), но и непосредственно участвовать в процессе его окисления (Кушнерова и др., 2003).

В связи с ограниченностью ресурсной базы наземных растений важное значение приобретают морские водоросли, которые широко используются как в виде пищи (Godlewska *et al.*, 2017), так и в качестве исходного сырья для производства различных комплексов биологически активных веществ с высокой фармакологической активностью (Dmytryk *et al.*, 2017). Одной из наиболее интересных групп соединений в морских водорослях, как и в наземных растениях, являются ПФ.

Среди ПФ соединений морских макрофитов выделяется группа флоротаннинов (ФТ), сходная по своей внутренней структурной организации с проантоцианидинами, встречающаяся только в бурых водорослях (Ragan, Glombitza, 1986). Они способны образовывать полимерные структуры, и для них характерно наличие разветвленной сети сопряженных двойных связей при избытке незамещенных гидроксильных групп (Боголицын и др., 2018), чем и обусловлена их высокая антиоксидантная активность (Zhang *et al.*, 2018). В литературе представлено значительное количество работ, посвященных различным аспектам фармакологической активности ФТ при различных патологиях (Mateos *et al.*, 2020). Однако только единичные работы посвящены изучению их влияния на метаболические процессы в условиях алкогольной интоксикации (Takahashi *et al.*, 2012, Yamashita *et al.*, 2015). При этом практически не встречаются сведения о влиянии ФТ на углеводный обмен при воздействии этанола, нарушение которого является одним из первичных факторов алкогольного поражения печени.

ФТ в значительных количествах были обнаружены в различных видах рода *Sargassum sp.*, произрастающих в Японском море (Nakai *et al.*, 2006), включая *Sargassum pallidum* (Ye *et al.*, 2009). *S. pallidum* широко распространена в умеренных и субтропических широтах Тихого океана (Титлянов, Титлянова, 2012). При этом ПФ соединения остаются наименее изученной группой вторичных метаболитов *S. pallidum*. Имеются лишь единичные работы по изучению их биологической активности (Sprygin *et al.*, 2017; Фоменко и др., 2019). Ранее нами было показано, что экстракт *S. pallidum* способствует сохранению реакций аэробного гликолиза при стрессе, что выражалось в нормализации содержания НАД⁺, лактата и пирувата в печени крыс (Фоменко и др., 2019). Полученные данные позволяют предположить эффективность применения комплекса ПФ из *S. Pallidum*, содержащего ФТ для сохранения окислительно-восстановительного баланса в реакциях углеводного обмена при алкогольной интоксикации.

Целью данной работы было изучение влияния комплекса ФТ, выделенного из *S. Pallidum*, на показатели углеводного обмена у крыс в условиях острой алкогольной интоксикации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор образцов. Образцы водоросли *S. pallidum* собирали в августе–сентябре 2021 г. в заливе Петра Великого Японского моря (пролив Старка, о. Попова). Выборка водорослей составляла 100 таллов. Слоевища после сбора на базе лаборатории станции МЭС «о. Попова» очищали от эпифитов и донного бентоса, промывали сначала морской, затем дистиллированной водой. После этого сырье отжимали и транспортировали в лабораторию.

Экстракция ПФ. Далее водоросли сушили в лиофильной сушке (Labconco FreeZone, модель 7670530, USA) и измельчали с помощью лабораторной мельницы до размера частиц ~0.5 мм. Первичную экстракцию ПФ проводили в соответствии с методом, описанным в работе (Bogolitsyn *et al.*, 2020), с некоторыми модификациями. Измельченную водоросль экстрагировали хлороформом на аппарате Сокслета в течение 8 часов для освобождения от липидно-пигментного комплекса. Далее образец водоросли сушили под вакуумом при комнатной температуре и экстрагировали ацетоном при температуре 56°C в течение 1 часа при соотношении масса: объем 1:10. Процедуру повторяли дважды. Полученные извлечения объединяли, фильтровали и упаривали на роторном испарителе (Type 349/2, Unipan, Poland) при температуре < 37°C до остаточного объема 20–30 мл. Полученный образец растворяли в двукратном объеме дистиллированной воды и после упаривания остатков ацетона сушили на лиофильной сушке.

Получение фракции ФТ. Первичный ПФ-экстракт фракционировали на колонке с сорбентом Сефадекс LH-20 (Amersham Pharmacia Biotech AB, Sweden). Для этого ПФ-фракцию растворяли в растворе этанол–вода (1:1, по объему) наносили на колонку 26/20 (Pharmacia, Sweden) объемом 105 см³, заполненную 25 г сорбента, уравновешенного системой этанол–вода (1:1 по объему). После нанесения образца, колонку промывали 200 мл (2 объема колонки) той же системы для удаления соединений, не адсорбирующихся на сорбенте, которые, по данным некоторых авторов, представляют собой комплекс веществ неароматической природы, практически не содержащий ФТ (Ovchinnikov *et al.*, 2020). Фракцию полимерных ФТ элюировали 200 мл системы этанол–ацетон (1:1). Полученный раствор упаривали на роторном испарителе при температуре ~ 30°C до объема 50 мл и добавляли 50 мл дистиллированной воды и после упаривания остатков этанола сушили на лиофильной сушке для получения суммарной фракции ФТ в виде порошка коричневого цвета, который использовали в дальнейшей работе.

Определение содержания общих ПФ. Суммарное содержание ПФ в экстрактах определяли

колориметрическим методом с реактивом Фолина—Чикалтео (Parys *et al.*, 2007), адаптированным к нашим условиям. В качестве стандарта использовали флороглюцин (Россия, чда), для которого строили калибровочную кривую в диапазоне 30–125 мкг/мл. Здесь и далее все измерения проводили в трех повторах.

Определение ФТ. Содержание ФТ в выделенной фракции определяли колориметрическим методом с 2,4-Диметоксибензальдегидом (ДМБА) (Stern *et al.*, 1996), адаптированным к нашим условиям. В качестве стандарта использовали суммарную фракцию ФТ из *E. bicyclis*, любезно предоставленную Dr. Toshiyuki Shibata (Mie University, Japan). Калибровочную кривую строили в диапазоне содержания в пробе от 2 до 20 мкг.

ИК-спектроскопия. Запись спектров полученной фракции ФТ проводили на ИК-Фурье спектрофотометре IR Affinity-1 (Shimadzu, Japan) в режиме нарушенного полного отражения с приставкой QATR10, оснащенной алмазной призмой (Shimadzu, Japan). Снятие ИК-спектров осуществляли при разрешении 4 см^{-1} в диапазоне $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$, число сканирований — 128. Обработку данных проводили с использованием пакета программного обеспечения IR_Solutions (Shimadzu, Japan).

Антирадикальная активность по отношению к АВТС⁺ радикалу. Определение антирадикальной активности ПФ-фракций по отношению к катион-радикалу АВТС⁺ проводили в соответствии с методом, описанным в работе Re и соавт. (Re *et al.*, 1999). В качестве антиоксиданта сравнения использовали тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновую кислоту) (Fluka Chemie GmbH, Switzerland), для чего строили калибровочную кривую в диапазоне 2–20 мкМ (конечная концентрация). Антирадикальную активность выражали в мкМ тролокса на 1 мг полифенольной фракции.

Антирадикальная активность по отношению к алкил-пероксильным радикалам. Определение антирадикальной активности ПФ-фракций проводили методом, описанным в работе Bartosz и соавт. (Bartosz *et al.*, 1998). В качестве стандарта использовали тролокс, для чего строили калибровочную кривую в диапазоне 2–20 мкМ (конечная концентрация). Антирадикальную активность выражали в мкМ тролокса на мг выделенной фракции.

Стандартизация. Стандартизацию ПФ-комплекса *S. pallidum* проводили по количественному содержанию ФТ на основании полученных данных в результате реакции с ДМБА. Острую токсичность комплекса ФТ определяли на беспородных белых мышцах по методу Кербера (Фисенко, 2000), которая составила более 2500 мг/кг, что позволяет отнести полученную субстанцию к 4-му классу токсичности (малоопасные).

Алкогольная модель. Эксперимент проводили на беспородных белых крысах-самцах массой тела 170–180 г, полученных из питомника филиала “Столбовая” ФГБУН “Научный центр биомедицинских технологий” ФМБА России. Животные были адаптированы в виварии в течение 7 суток до начала эксперимента. Во время этого периода осуществляли ежедневный осмотр внешнего состояния крыс. В эксперимент были взяты животные без признаков отклонений в состоянии здоровья. Животные получали питьевую воду без ограничений и корм ежедневно в одно и то же время в режиме свободного доступа. После адаптации крыс произвольно распределяли на интактных (контроль), потреблявших на протяжении всего эксперимента стандартный общеживарный рацион, и крыс, у которых моделировали алкогольную интоксикацию (Gajdos *et al.*, 1972). Крысам внутрибрюшинно вводили 33% этиловый спирт в дозе 7.5 мл на 1 кг массы тела животного 2 раза в сутки в течение 7 дней. За 1 час до первого введения этанола животным внутрижелудочно через зонд вводили водный раствор фракции ФТ из *S. pallidum* в дозе 100 мг/кг массы тела один раз в сутки или «Легалон» (препарат сравнения) в той же дозе в виде взвеси в 1% крахмальном клейстере. Доза в 100 мг/кг соответствует рекомендованной для полифенольных гепатопротекторов при проведении доклинических испытаний (Венгеровский и др., 2005).

Животных делили на 4 группы по 10 крыс в каждой: 1-я — контроль (интактная, К); 2-я — введение этанола (Э); 3-я — введение этанола + комплекс ФТ (ЭФ); 4-я — введение этанола + легалон (ЭЛ). Животные из групп “К” и “Э” получали внутрижелудочно через зонд эквивалентное количество физиологического раствора. Через 7 дней от начала опыта животных выдерживали без пищи в течение суток и выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом. У животных отбирали образцы крови из шейной вены и извлекали печень для проведения биохимических исследований. Оценку эффективности применяемых препаратов проводили по их влиянию на биохимические показатели печени и плазмы крови.

Извлеченную печень быстро обмывали ледяным физиологическим раствором и делили на две части. Одну часть ткани быстро замораживали (-80°C) в низкотемпературном морозильнике (Sanyo, Japan) для последующего определения содержания субстратов углеводного обмена, а другую использовали для определения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ). В крови определяли уровень глюкозы, используя биохимические наборы реактивов компании «Ольвекс Диагностикум» (Россия).

Активность Г-6-ФДГ (КФ 1.1.1.49) определяли в супернатанте, полученном из гомогената печени по скорости наработки НАДФН ($l=340\text{ нм}$)

в присутствии 67 мкМ глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф) (Löhr, Waller, 1974). Активность выражали в нМ образования НАДФН в минуту на 1 мг белка.

В печени определяли содержание восстановленных и окисленных метаболитов углеводного обмена, а также никотинамидных коферментов НАД⁺ и НАДФ⁺. Для этого использовали нейтрализованный безбелковый гомогенат печени (Лелевич, 2009).

Содержание окисленных коферментов НАД⁺ и НАДФ⁺ определяли методом, предложенным Klingenberg (Klingenberg, 1974). При определении НАДФ⁺ в реакционную среду вносится избыток Г-6-Ф и Г-6-ФДГ, при исследовании содержания НАД⁺ добавляется этанол и алкогольдегидрогеназа. При этом реакция лимитируется количеством НАДФ⁺ и НАД⁺ и протекает до конечной точки их восстановления, обеспечивая соответствующий прирост оптической плотности при $\lambda=340$ нм.

Определение содержания лактата проводили на основании его дегидрирования в присутствии лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и НАД⁺ (Hohorst, 1965). О содержании лактата судили по количеству образовавшегося НАДН ($\lambda=340$ нм). Содержание лактата выражали в мкмоль/г печени.

Содержание пирувата оценивали по убыли оптической плотности ($\lambda=340$ нм) в результате окисления НАДН в ходе восстановления пирувиноградной кислоты в лактат в присутствии ЛДГ (Lamprecht, Heinz, 1988). Содержание пирувата выражали в мкмоль/г печени.

Содержание в печени глицерол-3-фосфата (Г-3-Ф) определяли по количеству восстановленной формы НАДН ($\lambda=340$ нм), образовавшейся при окислении Г-3-Ф до диоксиацетонфосфата (ДАФ) в присутствии глицерол-3-фосфат дегидрогеназы (Г-3-ФДГ) (Lang, 1988). Содержание Г-3-Ф выражали в мкмоль/г печени.

Количественную оценку содержания ДАФ в печени проводили на основании убыли оптической плотности в результате окисления НАДН ($\lambda=340$ нм) в процессе восстановления ДАФ в Г-3-Ф в присутствии Г-3-ФДГ (Michal, 1988). Содержание ДАФ выражали мкмоль/г печени.

Содержание белка определяли по методу Брэдфорда (Bradford, 1976).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Instat 3.0 (Graph Pad Software Inc. USA, 2005), включающего функцию проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий для межгрупповых сравнений в зависимости от параметров распределения использовали апостериорный тест множественных сравнений Тьюки или непараметрический U-критерий Манна-Уитни, а также t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенной экстракции в соответствии со схемой выделения ПФ, описанной в работе (Vogolitsyn *et al.*, 2020) была получена первичная ПФ-фракция из водорослевой биомассы *S. pallidum*. Выход составил ~1.6% в пересчете на абсолютно сухое сырье. Содержание общих ПФ составило $81.9 \pm 2.0\%$ от суммы экстрактивных веществ.

В ходе дальнейшей очистки на колонке с сефадексом LH-20 был выделен комплекс ПФ *S. pallidum* с содержанием ПФ $93 \pm 2\%$. Согласно литературным данным, при нанесении образца и элюировании колонки с LH-20 системой растворителей этанол/вода (1:1) происходит отделение как высокомолекулярных соединений нефенольной природы, извлеченных в процессе экстракции, так и низкомолекулярных ПФ, не относящихся к полимерным танинам, которые не задерживаются на сорбенте. При этом фракция олигомерных и полимерных ФТ адсорбируется на колонке и в дальнейшем элюируется системой растворителей этанол/ацетон (1:1) (Ovchinnikov *et al.*, 2020).

Ранее было показано, что использование флороглюцина в качестве стандарта при количественном определении ФТ в водорослях методом с ДМБА сопряжено с кратной недооценкой содержания определяемых компонентов (Stern *et al.*, 1996). Это обусловлено тем, что реакция ДМБА с мономером флороглюцином протекает с образованием большего количества хромфора, чем при реакции с олигомерными и полимерными ФТ. Известно, что комплекс ПФ *S. pallidum* содержит в основном ФТ с низкой степенью полимеризации (димеры и тримеры) (Ye *et al.*, 2009). Поэтому в качестве стандарта мы использовали суммарный комплекс ПФ, выделенных из *Eisenia bicyclis*, содержащий ФТ со степенью полимеризации до 6 единиц (Shibata *et al.*, 2008). Содержание ФТ в выделенной фракции составило $82 \pm 3\%$. Ранее было показано, что *S. pallidum* содержит также ПФ-соединения кумариновой и флавоноидной природы (Liu *et al.*, 2009), которые не образуют окрашенных комплексов с ДМБА. По-видимому, этим и объясняется разница в содержании общих ПФ-соединений и ФТ в выделенном комплексе.

Полученная ПФ-фракция была охарактеризована методом ИК-Фурье спектроскопии, который был использован для идентификации функциональных групп активных компонентов на основании частот поглощения в инфракрасном диапазоне спектра.

При рассмотрении ИК-спектра (рис. 1) можно условно выделить четыре группы полос поглощения, которые можно назвать характерными для группы полимерных соединений на основе 1,3,5-тригидроксибензола (флороглюцина), отличающиеся наличием

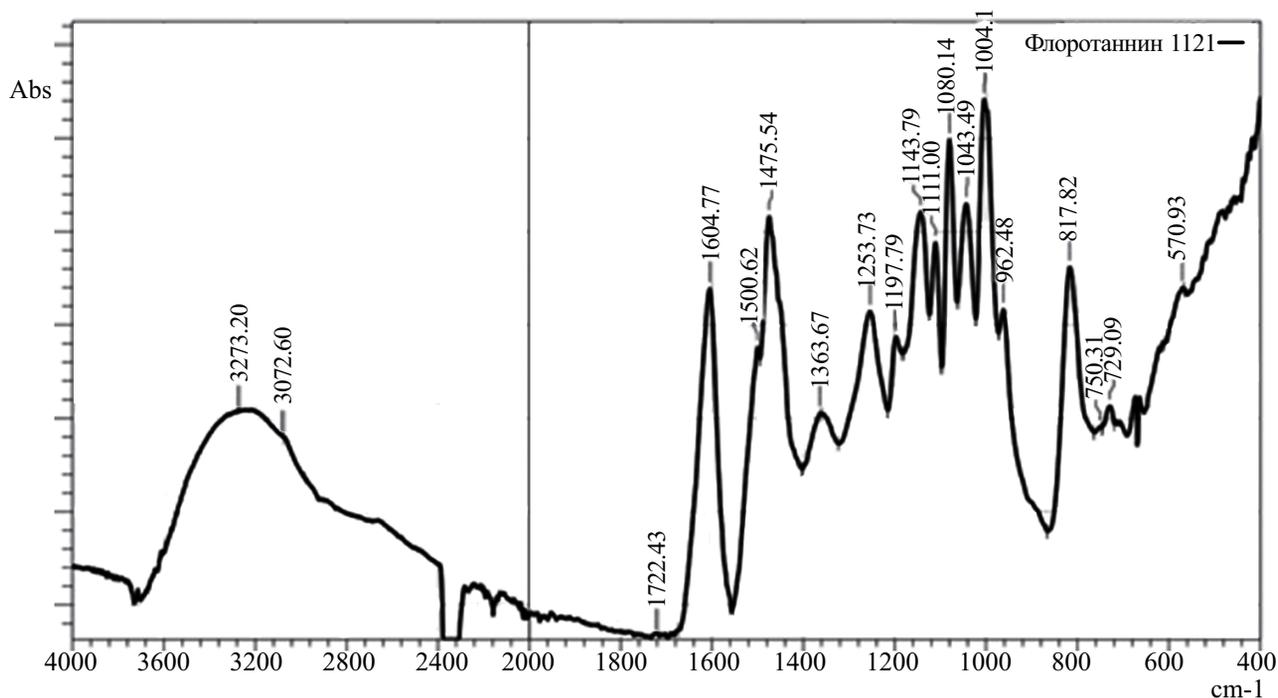


Рис. 1. ИК-спектр фракции флоротаннинов из морской бурой водоросли *Sargassum pallidum*.

большого количества гидроксильных групп, ароматических колец и сложных эфирных связей.

Полоса поглощения в области 3273 см^{-1} может быть отнесена к валентным деформациям гидроксильных групп в фенольном кольце, при этом необходимо отметить, что широкая полоса поглощения в области $3200\text{--}3400\text{ см}^{-1}$ соответствует колебаниям гидроксильных групп, присутствующих в высокой концентрации, что является характерным для ФТ.

Необходимо отметить ряд интенсивных полос поглощения 1604 , 1500 , 1475 см^{-1} , соответствующих вибрационным деформациям $\text{C}=\text{C}$ связей в ароматическом кольце, которые обычно присутствуют в количестве 3, 4 полос поглощения в указанном диапазоне.

В спектре также определяется набор полос поглощения, соответствующий валентным колебаниям $\text{C}-\text{O}$ связей различного характера. Полоса поглощения при частоте 1253 см^{-1} характерна для ароматических эфиров и фенол сульфатов, присутствующих в сульфатированных ФТ, тогда как полоса поглощения 1043 см^{-1} характерна для галогенатов и в частности хлоринатов ФТ (Singh, Sidana, 2013). Полосы поглощения 1111 , 1143 , 1197 см^{-1} характерны для эфиров различного типа и обычно присутствуют в виде 2, 3 полос. Все эти разновидности связи $\text{C}-\text{O}$ присутствуют в молекуле ФТ.

В коротковолновой области спектра проявляются полосы поглощения 818 и 729 см^{-1} , что характерно как для внеплоскостной деформации $\text{C}-\text{H}$

связей ароматического кольца, так и для *meta*- и *para*-замещенных бензолов.

Полученный нами ИК-спектр ПФ-фракции из биомассы *S. pallidum* мы сравнили с опубликованным ранее ИК-спектром фракции олигомерных ФТ подтвержденного состава из биомассы *Fucus vesiculosus* (Bogolitsyn *et al.*, 2020). Следует отметить практически полное совпадение полос поглощения, что свидетельствует о сходности строения исследуемых веществ. В совокупности с данными, полученными по количественному определению содержания ФТ с ДМБА, это позволяет утверждать о присутствии в выделенной нами ПФ-фракции *S. pallidum* указанной группы веществ.

Одной из важнейшей особенности ПФ-антиоксидантов является их способность нейтрализовать свободные радикалы. Диапазон антирадикальной активности антиоксиданта характеризуется способностью инактивировать как радикалы, несущие неспаренный электрон, так и избыточный положительный заряд. Антирадикальная активность ПФ-фракции из *S. pallidum* по отношению к катион-радикалу ABTS^+ (Re *et al.*, 1999) составляла $14.8\text{ мкмоль TEAC на мг}^{-1}$ экстракта, тогда как по отношению к алкоксил-пероксидным радикалам (Bartosz *et al.*, 1998) таковая составила соответственно $5.6\text{ мкмоль TEAC на мг}^{-1}$. Последний показатель особенно важен, так как именно алкоксильные и пероксидные радикалы инициируют перекисное окисление липидов и обладают канцерогенным действием, а также способностью к повышенной

диффузии через клеточные и субклеточные мембраны благодаря своей липидной природе (Güçlü *et al.*, 2014).

Введение 33%-ного этилового спирта (группа “Э”) привело к развитию алкогольной интоксикации, которая сопровождалась характерными изменениями биохимических показателей углеводного обмена в крови и печени крыс. В результате двухстадийного окисления этанола в печени в ацетат при участии алкоголь- и ацетальдегиддегидрогеназы (АДГ и АлДГ) образуется значительное количество восстановительных эквивалентов в виде свободного НАДН при одновременном снижении содержания окисленной формы НАД⁺ (Lieber, 2009). Как следует из полученных результатов (табл. 1), содержание НАД⁺ в печени у животных в группе “Э” было на 38% ($p < 0.01$) ниже по сравнению с контролем (“К”). Известно, что редокс-пара НАД⁺/НАДН не только играет важнейшую роль в поддержании окислительно-восстановительного равновесия клетки, но и является важнейшим регулятором клеточного обмена веществ (Xiao *et al.*, 2018). Поэтому такое изменение соотношения окисленной и восстановленной формы кофермента НАД является признаком существенных отклонений в метаболизме печени вследствие окисления этанола.

Известно, что пул НАД⁺ является общим для цитозольных дегидрогеназ в гепатоцитах (Veech *et al.*, 1972). При снижении коэффициента НАД⁺/НАДН соотношение метаболитов в ЛДГ и Г-3-ФДГ реакциях, находящихся в общем равновесии (Feraudi, 1979), изменяется в сторону накопления восстановленных продуктов. Так, содержание лактата в группе

“Э” увеличилось на 32% ($p < 0.05$), а Г-3-Ф – на 52% ($p < 0.05$) на фоне снижения содержания пирувата на 32% ($p < 0.05$) и ДАФ на 37% ($p < 0.01$) по сравнению с контрольными значениями (табл. 1). Расчет отношения НАД⁺/НАДН по ЛДГ показал его снижение до величины 432 против 833 в контроле, а для Г-3-ФДГ 398 против 960 соответственно. Такие изменения в показателях углеводного обмена свидетельствуют о преобладании анаэробных процессов над аэробными.

Сдвиг равновесия в сторону преимущественного превращения пирувата в лактат, а ДАФ в Г-3-Ф приводит к снижению активности реакций глюконеогенеза (Badawy, 1977). Известно, что в обычных условиях окисление Г-3-Ф в ДАФ и последующее включение последнего в реакции глюконеогенеза является основным путем метаболизма Г-3-Ф (Brauer, Ling, 1991). Указанные метаболические изменения сопровождаются формированием гипогликемии, что выражается в снижении уровня глюкозы в плазме крови на 56% ($p < 0.001$).

Интоксикация этанолом сопровождалась снижением на 22% ($p < 0.05$) активности Г-6-ФДГ, ключевого фермента пентозофосфатного пути окисления глюкозы, что согласуется с опубликованными ранее данными (Reinke *et al.*, 1987). Так как основным фактором, регулирующим активность Г-6-ФДГ, является доступность НАДФ⁺, то уменьшение активности фермента может быть результатом как снижения на 37% ($p < 0.05$) содержания данного кофактора (French, 1992), так и прямого ингибирования фермента. Считается, что НАД⁺ регенерируется из НАДН путем переноса ионов водорода на НАДФ⁺ посредством

Таблица 1. Содержание метаболитов углеводного обмена в печени крыс при острой алкогольной интоксикации и профилактическом введении комплекса флоротанинов бурой водоросли *Sargassum pallidum* и легалона (M ± m)

| Биохимические показатели | Группы животных | | | |
|---|-----------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| | 1-я группа – контроль | 2-я группа – этанол | 3-я группа – этанол + ФТ | 4-я группа – этанол + легалон |
| НАД ⁺ (мкмоль/г) | 0.760 ± 0.071 | 0.475 ± 0.041 ² | 0.750 ± 0.063 ^б | 0.700 ± 0.049 ^а |
| НАДФ ⁺ (мкмоль/г) | 0.067 ± 0.006 | 0.042 ± 0.004 ¹ | 0.065 ± 0.005 ^а | 0.069 ± 0.008 ^а |
| Лактат (мкмоль/г) | 1.47 ± 0.12 | 1.94 ± 0.14 ¹ | 1.42 ± 0.11 ^а | 1.48 ± 0.10 ^а |
| Пируват (мкмоль/г) | 0.136 ± 0.010 | 0.093 ± 0.009 ¹ | 0.139 ± 0.012 ^а | 0.145 ± 0.013 ^а |
| НАД ⁺ /НАДН (ЛДГ) | 833 | 432 | 882 | 883 |
| Глицерол 3-Фосфат (мкмоль/г) | 0.405 ± 0.039 | 0.614 ± 0.058 ¹ | 0.395 ± 0.036 ^б | 0.415 ± 0.041 ^а |
| Диоксиацетонфосфат (мкмоль/г) | 0.035 ± 0.003 | 0.022 ± 0.002 ² | 0.033 ± 0.003 ^а | 0.032 ± 0.002 ^а |
| НАД ⁺ /НАДН (Г-3ФДГ) | 960 | 398 | 928 | 856 |
| Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа нмоль/мин/мг белка | 3.93 ± 0.22 | 3.05 ± 0.21 ¹ | 4.15 ± 0.25 ^б | 3.98 ± 0.15 ^а |
| Глюкоза (ммоль/л; плазма крови) | 5.78 ± 0.52 | 2.56 ± 0.23 ³ | 5.95 ± 0.49 ^б | 5.63 ± 0.51 ^б |

Примечание. Различия статистически достоверны при ^{1,а} – $p < 0.05$; ^{2,б} – $p < 0.01$; ^{3,б} – $p < 0.001$. Цифры – сравнение с контролем, буквы – сравнение со 2-й группой. ФТ – комплекс флоротанинов из *Sargassum pallidum*.

сопряженных реакций, связанных общим субстратом, который напрямую ингибирует активность Г-6ФДГ (Eggleston, Krebs, 1974). Таким образом, совместное использование общего пула коферментов может обеспечивать связь между редокс-состоянием двух пар (Veech *et al.*, 1969), что может приводить в итоге к уменьшению доступного пула НАДФ⁺. Кроме того, к снижению пула НАДФ⁺ может приводить реокисление избыточного количества НАДН в результате трансгидрогеназной реакции (Jackson, 1991).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что введение этанола вызвало смещение окислительно-восстановительного баланса в печени, что привело к нарушению углеводно-энергетического обмена. Сложившееся соотношение параметров углеводного обмена отражает состояние тканевой гипоксии и нарушение аэробных процессов, сформировавшееся в результате окисления этилового спирта, что согласуется с литературными данными (Lieber, 2009).

Профилактическое применение комплекса ФТ из *S. pallidum* оказывало нормализующее воздействие на окислительно-восстановительный баланс печени и показатели углеводного обмена. Содержание окисленной формы НАД⁺ в печени животных группы “ЭФ” было на 58% ($p < 0.001$) выше, чем в группе “Э” и не отличался от такового в группе “К” (табл. 1). Расчет соотношения НАД⁺/НАДН в печени животных, получавших комплекс ФТ как по ЛДГ-реакции, так и по Г-3ФДГ показал его рост более чем в два раза (табл. 1) по сравнению с таковым в группе “Э” и соответствовал уровню контрольных животных. Это указывает на восстановление внутриклеточного пула НАД⁺, аэробных процессов и обуславливает сдвиг равновесия дегидрогеназных реакций в сторону образования окисленных продуктов. Содержание восстановленных продуктов ЛДГ и Г-3-ФДГ реакций лактата и Г-3-Ф было ниже, чем в группе “Э”, на 27% ($p < 0.01$) и 51% ($p < 0.001$), а пирувата и ДАФ выше на 46% ($p < 0.001$) и 7% соответственно. При этом содержание вышеупомянутых метаболитов достоверно не отличались от таковых значений в группе “К”. Одновременная тенденция к снижению содержания ДАФ и Г-3Ф в группе “ЭФ” по сравнению с контролем, вероятно, является следствием повышенного использования ДАФ в реакциях глюконеогенеза (Brauer, Ling, 1991). В пользу этого свидетельствует увеличение содержания глюкозы крови более чем в два раза ($p < 0.001$) по сравнению с группой Э (табл. 1). Снижение содержания лактата и Г-3-Ф при одновременном росте соотношения НАД⁺/НАДН указывает на снятие тканевой гипоксии и преобладание аэробных процессов над анаэробными.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ФТ, благодаря особенности их химической

структуры (Боголицын и др., 2018) и наличию высокоподвижных двойных связей, сопряженных между собой, а также большого количества незамещенных гидроксильных групп, способны проявлять донорно-акцепторные свойства. Эта особенность позволяет молекулам ФТ выступать в качестве акцептора протонов от НАДН, образующихся в процессе двухступенчатого окисления этилового спирта. По мнению некоторых исследователей, ФТ (в частности экол, диэкол и флорофукофуроекол А) в сравнении с ПФ наземных растений способны легче отдавать электроны и обладают более выраженным окислительно-восстановительным потенциалом. Это обусловлено более высокой степенью полимеризации, наличием эфирных связей, дибензодиоксиновых фрагментов и дибензофурановых элементов, которые связывают звенья флороглюцина в молекуле ФТ (Zhang *et al.*, 2018, 2019). Такие особенности химического строения ФТ обеспечивают стабильную и высокую антиоксидантную активность, предохраняя цитоплазматическое и митохондриальное окислительно-восстановительное равновесие, поддерживая процессы аэробного гликолиза. Это препятствует формированию тканевой гипоксии и обеспечивает сохранение процессов дыхания, биохимических факторов, лежащих в основе патохимических последствий воздействия этанола на печень (Lieber, 2009).

Активность ключевого фермента пентозофосфатного цикла Г-6ФДГ в группе животных, получавших ФТ из *S. pallidum*, превышала как соответствующий показатель в группе “Э” на 36% ($p < 0.01$), так и в контрольной группе (табл. 1). Это указывает на высокую активность пентозофосфатного шунта, аэробных процессов, сохранение энергетического обмена реакций восстановительных синтезов. По мнению авторов, это обусловлено более высоким содержанием НАДФ⁺ (на 48%, $p < 0.001$) в печени животных группы “ЭФ” по сравнению с таковым в группе “Э” (Eggleston, Krebs, 1974). Вероятно, возрастание содержания НАДФ⁺ обусловлено как повышением соотношения НАД⁺/НАДН и, соответственно, смещением равновесия трансгидрогеназных реакций в сторону образования окисленной формы кофермента, так и прямым протоно-акцепторным действием комплекса ФТ, снижающем уровень доступности протонов и возможность неферментативного восстановления НАДФ⁺.

При профилактическом применении легалона также отмечалось сохранение параметров углеводного обмена, однако в ряде случаев эффект был менее выражен, чем при действии ФТ. Так, уровень НАД⁺ в группе “ЭЛ” был ниже на 7%, чем в группе “ЭФ”, и на 8% ниже контрольных значений (табл. 1). Большая эффективность ФТ, по мнению авторов, объясняется разницей в химическом строении морских ПФ (Боголицын и др., 2018)

и флаволигнанов, составляющих активное начало легалона (Nawaz *et al.*, 2023).

Оценка содержания метаболитов углеводного обмена, составляющих ЛДГ и Г-3ФДГ челночные циклы в группе “ЭЛ”, показала отсутствие статистически значимых отличий от контрольных значений. Соотношение НАД⁺/НАДН, рассчитанное на основе концентраций метаболитов вышеупомянутых челночных циклов, соответствовало таковому в группе “ЭФ”, а также в группе контрольных животных. Активность Г-6-ФДГ и содержание НАДФ⁺ в печени животных групп “ЭЛ” достоверно не отличались от контрольных значений. Полученные данные указывают на позитивное влияние легалона на состояние окислительно-восстановительного равновесия в печени в условиях интоксикации этанолом и сохранение реакций гликолиза и глюконеогенеза, в пользу этого свидетельствует и сохранение уровня глюкозы в крови на уровне контроля (табл. 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые показано, что флоротаннины – полифенолы бурых водорослей оказывают выраженное защитное действие на углеводный обмен в условиях острой интоксикации этиловым спиртом. Анализируя полученные результаты эффективности профилактического применения комплекса ФТ из *S. pallidum* и легалона, необходимо отметить, что оба препарата проявляют защитное действие в условиях острой алкогольной интоксикации, но с различной степенью выраженности. Комплекс ФТ эффективнее предохранял пул окисленной формы НАД⁺–НАДФ⁺ от истощения, что обеспечивало сохранение окислительно-восстановительного потенциала в печени. В результате поддерживался необходимый уровень окисленных форм метаболитов лактат-дегидрогеназного и глицерол-3-фосфатадегидрогеназного челночных циклов для сохранения реакций аэробного гликолиза и глюконеогенеза и поддержания уровня глюкозы крови в условиях алкогольной интоксикации. Химическое строение и полимерный характер структуры ФТ подразумевает большую подвижность электронов внутри разветвленной системы сопряженных двойных связей и свободных гидроксильных групп. Молекулы флаволигнанов, имеющих меньший размер и отличное от ФТ строение, не обладают такими свойствами из-за более устойчивой электронной структуры. По-видимому, этим и объясняется более высокая эффективность ФТ поддерживать окислительно-восстановительный баланс в печени, нейтрализуя поток НАДН, образующийся в процессе окисления этанола.

Полученные результаты дают основание заключить, что комплекс ФТ из *S. pallidum*, применяемый при острой интоксикации этиловым спиртом,

способствует сохранению биохимических показателей углеводного обмена, активности процессов аэробного гликолиза, глюконеогенеза и пентозного цикла, содержания окисленных форм никотинамидных коферментов НАД⁺ и НАДФ⁺, соотношения НАД⁺/НАДН и предотвращению состояния тканевой гипоксии.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Экологические и биогеохимические процессы в экосистемах дальневосточных морей» (№ государственной регистрации 124022100077-0).

ЭТИЧЕСКОЕ ОДОБРЕНИЕ И СОГЛАСИЕ НА УЧАСТИЕ

Исследования на животных выполнены в соответствии с приказом Минздравсоцразвития России от 01.04.2016 № 199н “Об утверждении Правил лабораторной практики” и требованиями ГОСТ Р 53434-2009 “Принципы надлежащей лабораторной практики”. Исследование одобрено этической комиссией Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН (протокол № 22 от 15 февраля 2023 г.). Эксперименты проводились в соответствии с требованиями Федерации европейских ассоциаций лабораторных животных (FELASA) согласно “Правилам и международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или других научных целей” (Strasbourg, 1986).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Боголицын К.Г., Дружинина А.С., Овчинников Д.В., Каплицын П.А., Шульгина Е.В., Паршина А.Э. Полифенолы бурых водорослей // Химия растит. сырья. 2018. № 3. С. 5-21.
<http://dx.doi.org/10.14258/jcprm.2018031898>
- Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Методические указания по изучению гепатозащитной активности фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств. М.: Медицина, 2005. С. 683-691.
- Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Рахманин Ю.А. Регуляция метаболизма этилового спирта в организме

- олигомерными проантоцианидами как способ профилактики его токсического воздействия // Гигиена и сан. 2003. № 5. С. 58-60.
- Лелевич С.В.* Функциональное состояние некоторых путей метаболизма глюкозы в печени крыс при хронической алкогольной интоксикации // Биомед. химия. 2009. Т. 55. № 6. С. 727-733.
- Спрыгин В.Г.* Применение олигомерных проантоцианидинов для профилактики метаболических нарушений углеводного обмена в печени крыс при поражении этиловым спиртом // Сиб. мед.ж. 2012. Т. 111. № 4. С. 131-134.
- Титлянов Э.А., Титлянова Т.В.* Морские растения стран Азиатско-Тихоокеанского региона, их использование и культивирование. Владивосток: Дальнаука, 2012. 377 с.
- Фисенко В.П.* Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Ремедиум, 2000. 398 с.
- Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г.* Использование экстрактов бурой водоросли *Sargassum pallidum* и элеутерококка для профилактики стресс-индуцированных нарушений углеводно-липидного обмена в эксперименте // Эксперим. и клин. фармакол. 2019. Т. 82. № 8. С. 22-26. <http://dx.doi.org/10.30906/0869-2092-2019-82-8-22-26>
- Badawy A.a.-B.* Alcohol and Gluconeogenesis—A Review // Alcohol Alcohol. 1977. V. 12. №1. P. 30-42. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.alcalc.a044054>
- Bartosz G., Janaszewska A., Ertel D., Bartosz M.* Simple determination of peroxyl radical-trapping capacity // Biochem. Mol. Biol. Int. 1998. V. 46. № 3. P. 519-528. <https://doi.org/10.1080/15216549800204042>
- Beecher G.R.* Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake // J Nutr. 2003. V. 133. №. P. 3248s-3254s. <https://doi.org/10.1093/jn/133.10.3248s>
- Bogolitsyn K., Parshina A., Druzhinina A., Ovchinnikov D., Krasikov V., Khviyuzov S.* Physicochemical characteristics of the active fractions of polyphenols from Arctic macrophytes // J. Appl. Physiol. 2020. V. 32. № 6. P. 4277-4287. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-020-02226-w>
- Bradford M.M.* A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. V. 72. P. 248-254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Brauer M., Ling M.F.* The effects of chronic ethanol consumption on the intact rat liver studied by in vivo ³¹P NMR spectroscopy // Magn. Reson. Med. 1991. V. 20. № 1. P. 100-112. <https://doi.org/10.1002/mrm.1910200111>
- Chiva-Blanch G., Badimon L.* Effects of Polyphenol Intake on Metabolic Syndrome: Current Evidences from Human Trials // Oxid. Med. Cell. Longev. 2017. V. 2017. Article ID5812401. <https://doi.org/10.1155/2017/5812401>
- Dmytryk A., Tuhy Ł., Chojnacka K.* Algae as Source of Pharmaceuticals // Prospects and Challenges in Algal Biotechnology. 2017. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd. P. 295-310. https://doi.org/10.1007/978-981-10-1950-0_11
- Eggleston L.V., Krebs H.A.* Regulation of the pentose phosphate cycle // Biochem. J. 1974. V. 138. № 3. P. 425-435. <https://doi.org/10.1042/bj1380425>
- Feraudi M.* Determination of metabolite compartment in hepatic cells by varying the redox state in vivo // Arch. Int. Physiol. Biochim. Biophys. 1979. V. 87. № 5. P. 915-923. <https://doi.org/10.3109/13813457909070539>
- French S.W.* Biochemistry of alcoholic liver disease // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 1992. V. 29. № 2. P. 83-115. <https://doi.org/10.3109/10408369209114597>
- Gajdos A., Gajdos-TrOök M., Horn R.* The effect of (+)-catechin on the hepatic level of ATP and the lipid content of liver during experimental steatosis // Biochem. Pharmacol. 1972. V. 21. № 4. P. 594-600. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(72\)90338-3](https://doi.org/10.1016/0006-2952(72)90338-3)
- Godlewska K., Dmytryk A., Tuhy Ł., Chojnacka K.* Algae as Source of Food and Nutraceuticals // Prospects and Challenges in Algal Biotechnology. 2017. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd. P. 277-294. https://doi.org/10.1007/978-981-10-1950-0_10
- Güçlü K., Kıbrıslıoğlu G., Özyürek M., Apak R.* Development of a fluorescent probe for measurement of peroxyl radical scavenging activity in biological samples // J. Agric. Food Chem. 2014. V. 62. № 8. P. 1839-1845. <https://doi.org/10.1021/jf405464v>
- Hohorst H.-J.* L-(+)-Lactate: Determination with Lactic Dehydrogenase and DPN // Methods of Enzymatic Analysis: Academic Press, 1965. P. 266-277.
- Jackson J.B.* The proton-translocating nicotinamide adenine dinucleotide transhydrogenase // J. Bioenerg. Biomembr. 1991. V. 23. № 5. P. 715-741. <https://doi.org/10.1007/bf00785998>
- Klingenberg M.* Nicotinamide-Adenine Dinucleotides (NAD, NADP, NADH, NADPH): Spectrophotometric and Fluorimetric Methods // Methods of Enzymatic Analysis (Second Edition): Academic Press, 1974. P. 2045-2072.
- Lamprecht W., Heinz F.* Pyruvate // Methods of Enzymatic Analysis. Cambridge, UK: VCH Publishers (UK) Ltd, 1988. Vol.VI. P. 570-577
- Lang G.* L-(-)-Glycerol 3-Phosphate // Methods of Enzymatic Analysis. — Cambridge, UK: VCH Publishers (UK) Ltd., 1988. Vol.VI. P. 525-531.
- Lieber C.* Alcohol and the Liver: Metabolism of Ethanol, Metabolic Effects and Pathogenesis of Injury // Acta Med. Scand. 2009. V. 218. P. 11-55. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0954-6820.1985.tb08903.x>
- Lieber C.S.* New concepts of the pathogenesis of alcoholic liver disease lead to novel treatments // Curr. Gastroenterol. Rep. 2004. V. 6. № 1. P. 60-65. <https://doi.org/10.1007/s11894-004-0027-0>

- Liu X., Wang C.-Y., Shao C.-L., Wei Y.-X., Wang B.-G., Sun L.-L., Zheng C.-J., Guan H.-S. Chemical constituents from *Sargassum pallidum* (Turn.) C. Agardh // *Biochem. Syst. Ecol.* 2009. V. 37. № 2. P. 127-129. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2009.01.009>
- Löhr G.W., Waller H.D. Glucose-6-phosphate Dehydrogenase // *Methods of Enzymatic Analysis* (Second Edition): Academic Press, 1974. P. 636-643.
- Mateos R., Pérez-Correa J.R., Domínguez H. Bioactive Properties of Marine Phenolics // *Mar. Drugs.* 2020. V. 18. № 10. P. 501. <https://doi.org/10.3390/md18100501>
- Michal G. D-Fructose 1,6-Bisphosphate, Dihydroxyacetone Phosphate and d-Glyceraldehyde 3-Phosphate // *Methods of Enzymatic Analysis*. Cambridge, UK: VCH Publishers (UK) Ltd., 1988. Vol. I. P. 342-350
- Nakai M., Kageyama N., Nakahara K., Miki W. Phlorotannins as radical scavengers from the extract of *Sargassum ringgoldianum* // *Mar. Biotechnol.* 2006. V. 8. № 4. P. 409-414. <http://dx.doi.org/10.1007/s10126-005-6168-9>
- Nawaz A., Zaib S., Khan I., Ahmed A., Shahzadi K., Riaz H. *Silybum marianum*: An Overview of its Phytochemistry and Pharmacological Activities with Emphasis on Potential Anticancer Properties // *Anticancer Agents Med. Chem.* 2023. V. 23. № 13. P. 1519-1534. <https://doi.org/10.2174/1871520623666230412111152>
- Ovchinnikov D.V., Bogolitsyn K.G., Druzhinina A.S., Kaplitsin P.A., Parshina A.E., Pikovskoi I.I., Khoroshev O.Y., Turova P.N., Stavrianidi A.N., Shpigun O.A. Study of Polyphenol Components in Extracts of Arctic Brown Algae of *Fucus vesiculosus* Type by Liquid Chromatography and Mass-Spectrometry // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 5. P. 633-639. <http://dx.doi.org/10.1134/S1061934820050147>
- Parys S., Rosenbaum A., Kehraus S., Reher G., Glombitza K.W., König G.M. Evaluation of quantitative methods for the determination of polyphenols in algal extracts // *J. Nat. Prod.* 2007. V. 70. № 12. P. 1865-1870. <https://doi.org/10.1021/np070302f>
- Ragan M.A., Glombitza K.W. Phlorotannins, brown algal polyphenols // *Progress in Phycological Research*. — Bristol: Biopress Ltd, 1986. P. 129-241.
- Re R., Pellegrini N., Protegente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay // *Free Radic. Biol. Med.* 1999. V. 26. № 9-10. P. 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Reinke L.A., Tupper J.S., Smith P.R., Sweeny D.J. Diminished pentose cycle flux in perfused livers of ethanol-fed rats // *Mol. Pharmacol.* 1987. V. 31. № 6. P. 631-637.
- Shibata T., Ishimaru K., Kawaguchi S., Yoshikawa H., Hama Y. Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae // *J. Appl. Phycol.* 2008. V. 20. № 5. P. 705-711. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9254-8>
- Singh I.P., Sidana J. Phlorotannins // *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals*: Woodhead Publishing, 2013. P. 181-204. <https://doi.org/10.1533/9780857098689.1.181>
- Sprygin V.G., Kushnerova N.F., Fomenko S.E., Drugova E.S., Lesnikova L.N., Merzlyakov V.Y., Momot T.V. The Influence of an Extract from the Marine Brown Alga *Sargassum pallidum* on the Metabolic Reactions in the Liver under Experimental Toxic Hepatitis // *Russ. J. Mar. Biol.* 2017. V. 43. № 6. P. 479-484. <http://dx.doi.org/10.1134/S1063074017060098>
- Stern J.L., Hagerman A.E., Steinberg P.D., Winter F.C., Estes J.A. A new assay for quantifying brown algal phlorotannins and comparisons to previous methods // *J. Chem. Ecol.* 1996. V. 22. № 7. P. 1273-1293. <https://doi.org/10.1007/bf02266965>
- Stockwell T., Zhao J., Panwar S., Roemer A., Naimi T., Chikritzhs T. Do “Moderate” Drinkers Have Reduced Mortality Risk? A Systematic Review and Meta-Analysis of Alcohol Consumption and All-Cause Mortality // *J. Stud. Alcohol Drugs.* 2016. V. 77. № 2. P. 185-198. <https://doi.org/10.15288/jsad.2016.77.185>
- Strasbourg European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. Strasbourg, 1986. ETS No. 123.
- Takahashi M., Satake N., Yamashita H., Tamura A., Sasaki M., Matsui-Yuasa I., Tabuchi M., Akahoshi Y., Terada M., Kojima-Yuasa A. Ecklonia cava polyphenol protects the liver against ethanol-induced injury in rats // *Biochim. Biophys. Acta-Gen. Subj.* 2012. V. 1820. № 7. P. 978-988. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.02.008>
- Veech R.L., Eggleston L.V., Krebs H.A. The redox state of free nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate in the cytoplasm of rat liver // *Biochem. J.* 1969. V. 115. № 4. P. 609-619. <https://doi.org/10.1042/bj1150609a>
- Veech R.L., Guynn R., Veloso D. The time-course of the effects of ethanol on the redox and phosphorylation states of rat liver // *Biochem. J.* 1972. V. 127. № 2. P. 387-397. <https://doi.org/10.1042/bj1270387>
- Xiao W., Wang R.S., Handy D.E., Loscalzo J. NAD(H) and NADP(H) Redox Couples and Cellular Energy Metabolism // *Antioxid. Redox Signal.* 2018. V. 28. № 3. P. 251-272. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7216>
- Yamashita H., Goto M., Matsui-Yuasa I., Kojima-Yuasa A. Ecklonia cava Polyphenol Has a Protective Effect against Ethanol-Induced Liver Injury in a Cyclic AMP-Dependent Manner // *Mar. Drugs.* 2015. V. 13. № 6. P. 3877-3891. <https://doi.org/10.3390/md13063877>

Ye H., Zhou C., Sun Y., Zhang X., Liu J., Hu Q., Zeng X. Antioxidant activities in vitro of ethanol extract from brown seaweed *Sargassum pallidum* // Eur. Food Res. Technol. 2009. V. 230. № 1. P. 101-109.

<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-009-1147-4>

Zhang D., Wang C., Shen L., Shin H.-C., Lee K.B., Ji B. Comparative analysis of oxidative mechanisms of phloroglucinol and dieckol by electrochemical,

spectroscopic, cellular and computational methods // RSC Adv. 2018. V. 8. № 4. P. 1963-1972.

<https://doi.org/10.1039/c7ra10875c>

Zhang D., Wang Y., Sun X., Liu Y., Zhou Y., Shin H.C., Wang Y., Shen L., Wang C., Wang S., Zou X. Voltammetric, spectroscopic, and cellular characterization of redox functionality of eckol and phlorofucofuroeckol-A: A comparative study // J. Food. Biochem. 2019. V. 43. № 7. e12845. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12845>

Prevention of carbohydrate metabolism disorders in rats by florotannins complex of the marine brown alga *Sargassum pallidum* under acute alcohol impact

V. G. Sprygin[#], S. E. Fomenko, N. F. Kushnerova

V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute. FEB RAS, Vladivostok, 690041 Russia

[#]*e-mail: vgs2006@mail.ru*

It is shown that the complex of florotannins isolated from the marine brown alga *Sargassum pallidum* protects the pool of the oxidized form of NAD⁺-NADP⁺ from depletion during acute alcohol impact. Restoration of NAD⁺/NADH ratio provided preservation of redox potential in liver, necessary level of oxidized forms of metabolites of lactate dehydrogenase and glycerol-3-phosphate dehydrogenase shuttle cycles for maintenance of reactions of aerobic glycolysis and gluconeogenesis, pentose phosphate cycle, promoted prevention of tissue hypoxia and normalization of blood glucose level. This provides a basis for recommending the use of florotannin complexes as a prophylactic agent to attenuate the toxic effects of ethanol

Keywords: florotannins, *Sargassum pallidum*, ethanol, carbohydrate metabolism, alcohol intoxication, prevention