

ВЛИЯНИЕ ВОДНО-ЭТАНОЛЬНОГО ЭКСТРАКТА МАНДАРИНА НА ЦЕЛОСТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Алиева Гузал Муродулло кизи

¹ученица специализированной школы-интернат имени Абу Али ибн Сины
молодых биологов и химиков

Автор для переписки: [**aguzal732@gmail.com**](mailto:aguzal732@gmail.com)

В работе показано получение водно-этанольных экстрактов из кожуры мандарина и его влияние целостность эритроцитов человека.

Ключевые слова: мандарин, водно-этанольный экстракт, эритроциты, гемолиз.

Введение. Эритроциты (красные кровяные тельца) — это самые многочисленные клетки крови, занимающие до 40–45% её объёма. Эритроциты содержат гемоглобин и транспортируют по кровеносным сосудам кислород и углекислый газ, а также участвуют в транспорте питательных веществ и иммунных реакциях. Жизнь одного эритроцита обычно не превышает 120 дней. Анализ крови на эритроциты - один из важнейших показателей здоровья, способных рассказать о текущем состоянии организма [1].

Как и многие другие типы клеток, эритроциты в процессе жизнедеятельности испытывают осмотические изменения, обусловленные различными физиологическими, механическими, химическими или патофизиологическими процессами.

Плоды мандарина употребляются в свежем виде и для изготовления фруктовых соков и компотов. Мандариновую кожуру употребляют как заменитель померанцевой корки при изготовлении различных лекарств, настоев, сиропов и экстрактов. Из кожуры делают спиртовые и водные

настойки. При кашле, бронхите, тошноте и для улучшения пищеварения используют водный отвар сушеной кожуры [2].

В народной медицине популярна спиртовая настойка из кожуры плодов мандарина для улучшения аппетита и пищеварения, снятия воспалительных процессов в бронхах и верхних дыхательных путях, смягчения кашля. Кожура мандарина обладает также антибактериальными свойствами. Эфирное масло мандарина обладает выраженными противоопухолевыми свойствами [3].

Благодаря многочисленным полезным свойствам мандарина, из его кожуры в лабораторных условиях мы получили водно-этанольный экстракт и определили его гемолитическую активность.

Материалы и методы. В наших экспериментах нормальный раствор Рингера содержал (мМ): 135 NaCl, 5 KCl, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂, 11 HEPES, 5 глюкозы (pH-7,40, 290 мОсм/кг-H₂O). Все реактивы имели квалификацию «х.ч.» или «ч.д.а.». В работе использовали HEPES (Dojindo, Kumamoto, Japan). Экстракцию проводили таким образом: 0,5 г сухого измельченного растительного сырья (кожура) заливали 10 мл 80% этанола, встряхивали 1 мин в круглодонной колбе на 50 мл и затем помещали в ультразвуковую баню на 30 мин. Взвесь отфильтровывали через бумажный фильтр. Определение общего содержания сухого остатка в экстрактах с некоторыми модификациями: 2 мл жидкого экстракта помещала в стеклянный сосуд с плоским дном и высушивали в течение 3 ч при $102,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$; затем сосуд плотно закрывали крышкой, охлаждали до комнатной температуры и повторяли процедуру до получения постоянного веса. Содержание сухого вещества выражали в мг/мл экстракта или сока.

Кровь брали у добровольцев (сотрудники лаборатории) по общепринятой методике с использованием гепарина в качестве

антикоагулянта [4]. Все процедуры выделения эритроцитов человека проводились в соответствии с Хельсинкской декларацией, в соответствии с рекомендациями ARRIVE (<https://arriveguidelines.org/>) и одобрены Комитетом по биоэтике Института биофизики и биохимии Национального университета Узбекистана. Цельную кровь разводили в соотношении 1:10 раствором Рингера и центрифугировали при 3000 об/мин (1000 g) в течении 10 мин, затем эритроциты отмывали аналогичным образом 3 раза в растворе Рингера и готовили 8% суспензию.

Для определения гемолитической активности экстракта мандарина при изоосмотических условиях в лунку платы микротитратора добавляли 200 мкл раствора Рингера (контроль) или раствора Рингера, содержащего экстракта мандарина в указанных концентрациях (опыт). Еще в одну лунку добавляли 1%-й раствор детергента тритона X-100 для полного разрушения клеток (100 %-й гемолиз). Затем во все лунки вносили по 200 мкл 8% суспензии эритроцитов (конечная концентрация клеток при этом составила 4%) и инкубировали при 37°C в течение 60 мин. Содержание гемоглобина в супернатанте определяли по светопоглощению при 540 нм. Процент гемолиза рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{Гемолиз} = (ОП / ОП_{100}) * 100\% \quad (1)$$

где ОП – это оптическая плотность супернатанта в опыте; ОП₁₀₀ – средняя оптическая плотность супернатанта в 3-х лунках с детергентом тритон X-100. Гемолиз, рассчитанный для 3-х контрольных лунок дает уровень спонтанного гемолиза при данных экспериментальных условиях, который обычно не превышал 1–2%.

Аппроксимацию статистических анализов данных проводили с использованием программы Origin, версий 8 (OriginLab, Northampton, MA, США). Все данные приведены как среднее ± стандартная ошибка для *n*

экспериментов. Сравнения между двумя экспериментальными группами проводились с использованием t-теста Стьюдента. Звездочками на рисунках отмечены значения, статистически значимо отличающиеся от контроля при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В полученном водно-этанольном экстракте кожуры мандарина содержится 17,615 мг/мл сухого вещества.

В наших дальнейших экспериментах были использованы жидкие экстракты, а их концентрация выражалась в пересчете на сухую массу.

В опытах по высвобождению гемоглобина из эритроцитов человека в изотонических условиях мы не наблюдали сильно выраженную гемолитическую активность экстрактов. Спонтанный гемолиз составил $1,4 \pm 0,2\%$ ($n=3$). При этом, сам растворитель (80% этанол) даже при максимальных концентрациях не вызывал разрушения клеток. Полученные данные свидетельствуют о том, что экстракт мандарина кожуры обладает умеренно выраженной гемолитической активностью

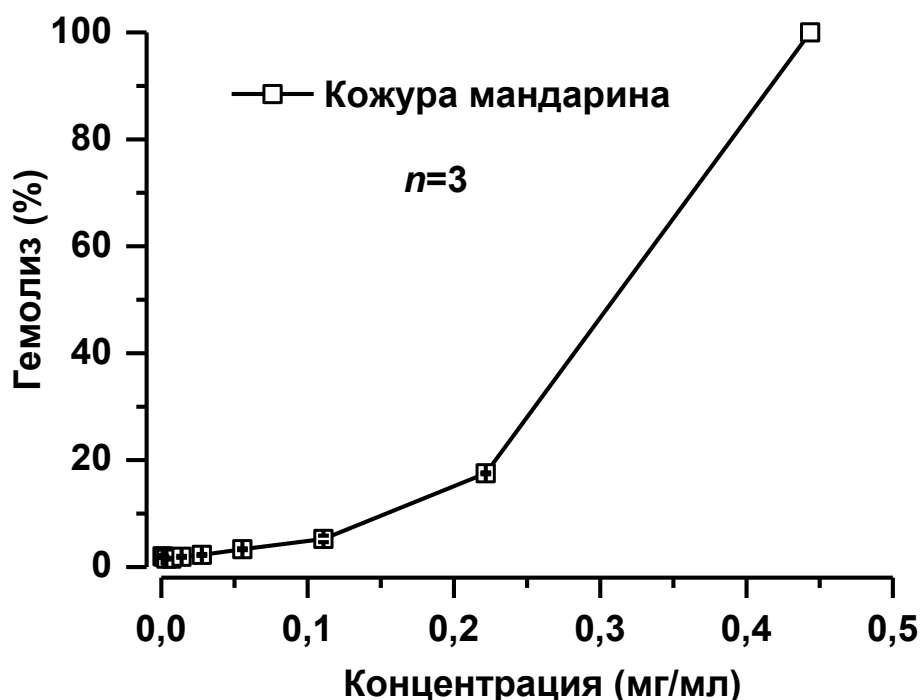


Рисунок 1. Зависимость уровня лизиса человеческих эритроцитов от концентрации экстрактов кожуры мандарина. n – число повторов.

Благодарности. Данные эксперименты были выполнены в лаборатории молекулярной физиологии Института биофизики и биохимии Национального университета Узбекистана. Благодарность руководству и сотрудникам лаборатории.

ЛИТЕРАТУРА

1. <https://medi-art.ru/vsye-o-zdorove/chto-takoe-eritrotsity-v-analize-krovi/>
 2. Seo K.H., Lee D.Y., Lee D.S., Kang H.C., Kim H.S., Kim Y.C., Baek N.I. Hepatoprotective and neuroprotective tocopherol analogues isolated from the peels of Citrus unshiu Marcovich - Nat. Prod. Res. 2015, 29(6), 571-573.
 3. Wang J., Hao H., Liu R., Ma Q., Xu J., Chen F., Cheng Y., Deng X. Comparative analysis of surface wax in mature fruits between Satsuma
- Электронный научный журнал «Биология и интегративная медицина»

2017 №4 (апрель) 227 mandarin (Citrus unshiu) and 'Newhall' navel orange (Citrus sinensis) from the perspective of crystal morphology, chemical composition and key gene expression - Food Chem. 2014, Jun 15, 153, 177-185.

4. Кост. Э.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. Москва: Медицина, 1975, с. 46-47. Kost E.A. Spravochnik po klinecheskim laboratornim metodam issledovaniya. Moskva: Meditsina, 1975, с.46-47.