

RUTIINI JA TEELEHTEDEST VALMISTATUD KATEHHIIN- PREPARAATIDE MÕJUST LOOMSETE KUDEDE HINGAMISELE

I OSA

L. TERAS

Meditsiiniline praktika kasutab rutiini ja teelehdest saadavaid katehhiinide kompleksi P-vitamiini preparaate edukalt hemorraagiliste diateeside, hüpertoonia, arteriosklerooosi, troofiliste haavandite, aneemia, reumatismi, septilise endokardiidi, kiiritustõve jt. haiguste raviks. Neil preparaatidel on mitmete autorite arvates peale spetsiifilise kapillaaride resistentsust tõstva toime ka kudede hingamist soodustav toime. Sergejev [1] leidis, et vitamiin P suurtes doosides tõstab tunduvalt tsütokroomoksüdaasi aktiivsust. Parrot ning Cotereau [6] leidsid, et glutatiooni juuresolekul stimuleerib d-epikatehhiin dehüdroaskorbiinhappe taandumist askorbiinhappeks. Sibul ning Kull [12] täheldasid, et hüpertooniahaigetel langetab rutiin kõrgenenud vakathapniku peeglit ehk teiste sõnadega — vähendab oksüdeerumata ainevahetusjääkide hulka uriinis. Runova jt. [10] leidsid aga, et katehhiinide toimel langeb hapnikupeegel valgete hiirte venooses veres tunduvalt, mis viitab kudede suuremale hapnikutarvidusele. Mingisuguseid otseseid andmeid selle kohta, kas bioflavonoididel on loomsetes kudedes hingamist soodustavat toimet, ei õnnestunud meil kirjandusest leida. Seepärast alustasime süstemaatilist uurimist kudede hapniku neeldumise võime muutumise kohta rutiini, teelehdest vitamiin P preparaadi ja katehhiinide puhastatud preparaadi toimel *in vitro* ja *in vivo*. Käesolevas töös esitatakse *in vitro* saadud uurimistulemusi.

Metoodika

Rutiini, teelehdest vitamiin P preparaadi ja katehhiinide puhastatud preparaadi toime selgitamiseks määrati Warburgi aparatis valgete rottide maksakoelõikude hapniku neeldumise võime nimetatud ainet lisandamise puhul toitelahusesse. Iga preparaadi toimet uuriti 14—16 valgel rotil, kes igale katseseeriale olid ühtlasi kontrolliks. Valge rott surmati kuklalöögiga, avati tema kõhuõõs ja võeti välja maks ning paigutati jääle füsioloogilise keedusoolalahusega täidetud Petri tassi. Koelõikude valmistamiseks asetati maksa vasak sagar jääle korgist alusele ja fikseeriti füsioloogilise lahusega niisutatud esemeklaasiga. Igaks katseks tehti žiletiga kaks kuni kolm 0,3—0,4 mm paksust koelõiku, mis ühtekokku kaalusid 100 mg. Koelõigud asetati Warburgi manomeetri kolbi 3 milliliitrisse Krebsi fosfaatpuhverlahusesse [7], pH-ga 7,3, mis olenevalt katsest sisaldas vastavat bioflavonoidi. Peale sulgemist täideti kolb 15 minuti jooksul hapnikuga. Kudede hingamisel tekkiva süsihappegaasi kõrvaldamiseks asetati Warburgi kolvi kummassegi haruretorti 0,5 ml 5%₀-list KOH-lahust.

Rutiini halva lahustuvuse tõttu valmistati temast enne Krebsi fosfaatpuhveris leelise reaktsiooniga alglahus, mille pH reguleeriti 7,3-ni. Vastavalt vajadusele lahjendati alglahust 1:1000, 1:10 000 jne. Preparaatidena kasutati Tallinna Farmatseutilises Tehases tatraürdist valmistatud rutiini, Stšelkovo vitamiinitehases teelehdest valmistatud vitamiin P preparaati ja katehhiinide puhastatud preparaati. Teelehdest vitamiin P preparaadist tehti Krebsi lahuses lahjendused 1:10, 1:100 jne. Katehhiinide puhastatud preparaadi alglahuse kontsentratsioon oli 1:100.

Kudede hingamist määrati ühe tunni kestel, kusjuures hapniku neeldumist registreeriti iga 20 minuti järel. Neeldunud hapniku hulk arvutati koelõikude 1 mg kuivkaalu kohta. (Koelõikude kuivkaal määrati lõikude kuivatamisega termostaadis 100°C temperatuuris.)

Fosfori neeldumist jälgiti maksakoelõikudes anorgaanilise fosfori sisalduse alusel, mis määrati Fiske ning Subborow' modifitseeritud [4] meetodiga Krebsi puhverlahuses katse algul ja lõpul fotoelektrokolorimeetriliselt.

Töö tulemused

Rutiini mõju maksakoe hingamisele näitab tabel 1. (Töös esitatud tabelites on maksakoelõikude hapniku neeldumise väärtused antud mikrolitrites koe 1 mg kuivkaalu kohta.)

Tabel 1

Rutiini toime maksakoelõikude hapniku neeldumisele
in vitro

Katse- looma nr.	Kont- roll	Preparaadi kontsentratsioon							
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹
1	3,8	3,2	4,4	2,7	—	3,7	2,7	—	—
2	6,0	3,7	5,1	4,8	3,2	—	—	—	—
3	8,1	8,0	7,4	9,8	8,1	—	—	—	—
4	9,4	7,7	7,1	7,7	7,3	8,6	5,0	—	—
5	6,4	—	3,8	6,6	8,9	—	6,4	7,5	6,6
6	8,0	—	6,5	9,3	6,0	7,5	—	8,9	7,6
7	3,2	—	3,9	4,9	5,7	4,5	3,5	—	4,6
8	6,9	—	5,9	7,2	—	5,4	6,7	6,8	6,6
9	4,8	—	11,2	7,4	5,3	7,5	3,7	4,6	6,2
10	3,7	—	4,2	4,7	5,1	4,0	5,1	3,7	—
11	8,9	—	8,6	7,3	—	8,2	8,1	—	—
12	6,8	—	7,5	8,5	7,1	7,3	—	—	—
13	7,2	—	6,7	6,1	7,7	—	—	—	—
14	8,7	—	7,9	8,5	8,1	11,0	—	—	—
\bar{x}	6,6	5,7	6,4	6,8	6,6	6,8	5,2	6,3	6,3
$m_{\bar{x}}$	±0,54	1,28	0,56	0,53	0,51	0,73	0,65	0,95	0,49
$P_{\bar{x}}$	<0,01	<0,05	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
P_{diff}		>0,4	>0,8	>0,7	—	>0,8	>0,1	>0,7	>0,7

Märkus: \bar{x} — aritmeetiline keskmine; $m_{\bar{x}}$ — aritmeetilise keskmise viga; $P_{\bar{x}}$ — aritmeetilise keskmise tõenäosus Studenti *t*-testi alusel; P_{diff} — katserühmade erinevuse olulisus kontrollist Studenti *t*-testi alusel.

Samad tähised on kasutusel ka tabelites 2 ja 3.

Esitatud andmete põhjal ei mõjasta rutiin maksakoe hapniku neeldumise hulka, sest erinevus kontrollist ei osutunud üheski katses oluliseks ($P > 0,05$). Nii kontrollrühmas kui ka katserühmades kulges hapniku neeldumine täiesti ühesuguselt ja lineaarselt. Ka anorgaanilise fosfori neeldumine toitelahusest ei erinenud rutiiniga katsetes mingil määral kontrollist. Samuti oli P:O suhe kõigis katsetes ühesugune.

Teelehtede vitamiin P preparaadi lisandusega saadud andmed koelõikude hapniku neeldumise kohta (tab. 2) näitavad, et see preparaat lahjendustes 10⁻¹ ja 10⁻² tõstat hapniku neeldumist 272 ja 90% võrra. Preparaadi väiksemate kontsentratsioonide toime ei erinenud hingamise väärtused kontrollandmeist. Kontsentratsiooni 10⁻² puhul täheldati samaaegselt hapniku neeldumise tõusuga anorgaanilise fosfori neeldumise langust 41% võrra ($P < 0,02$), millega seoses langes P:O suhe veelgi (kontrollrühmas 0,55, katserühmas 0,14). Anorgaanilise fosfori neeldumine preparaadi väiksemates kontsentratsioonides ei erinenud üldiselt kontrollandmeist. Ka nendes katsetes kulges hapniku neeldumine lineaarselt.

Katehhiinide puhastatud preparaadi toime (tab. 3) on põhiliselt analoogiline teelehtede vitamiin P preparaadi toimega, kuigi mõnevõrra tugevamini väljendunud.

Tabel 2

**Teelehtede vitamiin P preparaadi toime maksakoelõikude
hapniku neeldumisele *in vitro***

Katse- looma nr.	Kont- roll	Preparaadi kontsentratsioon						
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
1	5,4	—	10,0	5,0	3,4	3,2	—	—
2	10,3	—	9,2	7,0	9,3	9,3	7,8	8,8
3	9,4	—	13,2	8,2	9,3	8,2	9,3	8,1
4	7,1	30,4	14,4	4,0	5,0	6,1	4,4	4,1
5	7,2	12,6	8,8	6,2	9,5	6,6	8,4	7,4
6	5,3	21,7	9,2	2,8	2,7	5,1	5,3	5,2
7	4,6	25,4	12,2	7,3	2,7	7,4	4,8	6,1
8	6,1	15,5	9,1	7,0	6,0	8,1	8,1	6,8
9	3,4	15,6	11,3	6,1	6,5	6,2	5,8	4,9
10	4,9	32,0	10,3	8,3	7,9	7,2	3,6	—
11	5,9	20,7	11,0	5,5	5,3	6,9	6,4	—
12	3,7	13,2	—	4,8	5,7	4,9	5,8	—
13	5,0	24,1	16,1	4,8	5,2	5,2	5,5	3,7
14	6,3	37,0	13,4	7,6	6,2	7,5	7,7	—
15	7,1	24,2	14,4	6,7	7,9	5,2	4,8	7,2
\bar{x}	6,1	22,7	11,6	6,1	6,2	6,5	6,3	6,2
m_x^-	±0,49	1,89	0,84	0,41	0,58	0,41	0,46	0,54
P_x^-	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
P_{dif}		<0,01	<0,01	—	—	>0,5	>0,7	—

Tabel 3

**Katehhiinide puhastatud preparaadi toime maksakoelõikude
hapniku neeldumisele *in vitro***

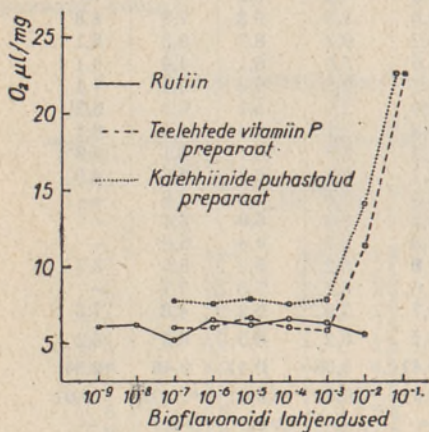
Katse- looma nr.	Kont- roll	Preparaadi kontsentratsioon					
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
1	8,8	11,9	6,2	8,2	—	—	7,3
2	7,9	16,3	7,2	7,1	7,8	5,8	—
3	6,7	16,6	9,0	6,6	6,8	6,2	6,1
4	4,7	15,4	8,6	7,3	—	5,3	—
5	5,3	16,5	7,7	5,4	6,9	5,8	5,7
6	7,1	17,0	8,0	8,3	7,9	—	—
7	7,6	17,9	6,2	—	9,0	8,3	7,2
8	7,5	12,9	7,6	6,9	7,0	10,7	8,8
9	4,2	12,5	9,1	6,4	—	—	—
10	5,6	9,6	6,1	6,3	6,6	6,4	—
11	7,4	12,2	7,6	7,6	8,3	7,1	6,0
12	7,4	12,9	7,4	6,7	—	7,0	6,8
13	10,6	11,6	6,8	11,9	10,7	11,8	14,1
14	9,7	13,2	10,0	8,8	10,2	10,4	9,3
15	—	13,8	10,0	7,1	—	—	—
16	4,6	17,6	7,4	—	5,7	—	—
\bar{x}	7,0	14,3	7,8	7,5	7,9	7,7	8,0
m_x^-	±0,48	0,63	0,31	0,42	0,47	0,68	0,88
P_x^-	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
P_{dif}		<0,01	>0,1	>0,4	>0,2	>0,3	>0,2

Katehhiinide puhastatud preparaadi kontsentratsiooni 1:25 toimel suurenes hapniku neeldumine 224% võrra ja kontsentratsiooni 1:100 toimel 104% võrra. Need andmed on oluliselt kõrgemad teelehtede vitamiin P preparaadi vastavatest näitajatest. Anorgaanilise fosfori neeldumine oli ka katehhiinide puhastatud preparaadi

1:100 kontsentratsioonile toimel langenud 39% võrra, millega seoses langes ühtlasi P:O suhe, võrreldes kontrollväärtusega (0,47-ilt 0,13-le).

Katehhiinide puhastatud preparaadi madalamate kontsentratsioonide (10^{-3} – 10^{-7}) puhul ei olnud koelõikude hapniku neeldumises olulist erinevust kontrollist, kusjuures hingamise üldine tase selles katseseerias oli mõnevõrra kõrgem kui mõlemas eespool kirjeldatus.

Võrdleva ülevaate kasutatud preparaatide mõjust maksakoelõikude hingamisele annab joonis 1.



Joon. 1. Maksakoelõikude hingamise muutused rutiini, teelehtede vitamiin P preparaadi ja katehhiinide puhastatud preparaadi lisandamisel *in vitro*.

nide tühikatses ei vähenenud anorgaanilise fosfori sisaldus. See viitab omakorda sellele, et katehhiinid kõrgetes kontsentratsioonides vähendavad fosfori ainevahetust koelõikudes.

Käesoleva töö tulemused näitavad, et rutiin ei avalda mingit mõju koelõikude hingamisele ja fosfori neeldumisele *in vitro*, kuid katehhiinide preparaadid suurtes kontsentratsioonides võivad maksakoelõikude hingamist soodustada ning nende fosfori neeldumist vähendada oma kõrgete autooksidatiivsete omaduste kaudu. Need tulemused üksikute bioflavonoidide erinevast toimest koelõikude ainevahetusprotsessidele on kooskõlas kirjanduse andmetega (erinevused P-vitamiinses aktiivsuses [9], adrenaliini oksüdatsiooni pärssivuses [2, 3], mitmesuguste fermentide mõjustamises [1, 5, 8] jne.).

KIRJANDUS

1. Beiler, J. M., Martin, G., The Inhibition of Xanthine Oxidase by Flavonoids and Related Compounds. *J. Biol. Chem.*, 1951, 192, 2, 831–834.
2. Clark, W., Geissman, T. A., Potentiation of Epinephrine by Flavonoid Compounds. *Nature*, 1949, 163, 4131, 36–37.
3. Lavollay, J., L'autoxydation des difenols, en particulier de l'adrenaline. Paris, 1943.
4. Lindeberg, O., Ernster, L., Determination of Organic Phosphorus Compounds by Phosphate Analysis. *Methods of Biochemical Analysis*. New York, 1956, 3, 1–32.
5. Martin, G., Graff, M., Brendel, R., Beiler, J. M., Effect of Vitamin P Compounds on the Action of Histidine Decarboxylase. *Arch. Biochem. and Biophys.*, 1949, 21, 1, 177–180.
6. Parrot, J. L., Cotereau, H. Y., L'économie de l'acide l'ascorbique dans l'organisme. *Inter. Z. Vitaminforschung*, 1957, 27, 3, 345–364.

7. Umbreit, W. W., Burris, R. H., Stauffer, J. R., Manometric Techniques and Tissue Metabolism. Minneapolis, 1949.
8. Баев А. А., Влияние аскорбиновой кислоты и биофлавоноидов на активность гиалуронидазы. Биохимия, 1960, 25, 2, 328—329.
9. Букин В. Н., Ерофеева Н. Н., Сравнительная Р-витаминная активность катехинов чая, дубильных веществ винограда и рутина гречихи. Докл. АН СССР, 1954, 98, 6, 1011—1013.
10. Рунова М. Ф., Правоторова Е. П., Гусева Е. Н., Влияние препарата витамина Р, выделенного из листьев чая, на морфологию крови и некоторые биохимические показатели. Бюл. эксперим. биол. и мед., 1956, 41, 3, 54—58.
11. Сергеев А. Н., Влияние витамина Р на некоторые биохимические показатели организма. Тр. VIII науч. конференции курсантов и слушателей Военно-Морской академии. Л., 1951, 42—46.
12. Сибуль И. К., Кулль М. М., К вопросу лечебного действия рутина. Современные данные по лечебному применению витаминов. М., 1960, 54—60.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalse ja Kliinilise Meditsiini Instituut

Saabus toimetusse
23. IX 1961

О ДЕЙСТВИИ РУТИНА И ПРЕПАРАТОВ КАТЕХИНОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ ЧАЯ НА ДЫХАНИЕ ЖИВОТНЫХ ТКАНЕЙ

Сообщение I

Л. Терае

Резюме

Исследовалось действие рутина, препарата витамина Р из листьев чая и очищенного для парентерального введения препарата комплекса катехинов из листьев чая на дыхание ткани печени белых крыс *in vitro*. Интенсивность поглощения кислорода измерялась манометрическим методом Варбурга на срезах печени в фосфатном буферном растворе Кребса (рН = 7,3) при 37°C в течение часа. Поглощение фосфора срезами печени определялось по количеству неорганического фосфора в начале и конце опыта модифицированным методом Фиске-Суббору. Каждая серия опытов проводилась на 14—16 подопытных животных.

Исследования показали, что рутин в концентрациях от 10⁻² до 10⁻⁹ не оказывает влияния на способность поглощения кислорода срезами печени. Поглощение фосфора из питательной среды и отношение Р:О также не отличались от контроля.

При добавлении к срезам печени препарата витамина Р из листьев чая поглощение кислорода повышалось при концентрациях 10⁻¹ и 10⁻² соответственно на 272 и 90%. При меньших концентрациях препарата (от 10⁻³ до 10⁻⁷) интенсивность дыхания не отличалась существенно от контроля.

При концентрации очищенного препарата комплекса катехинов 1:25 величина поглощаемого кислорода повышалась на 224% и при концентрации 1:100 — на 104%, что значительно выше данных, полученных с неочищенным препаратом.

Поглощение неорганического фосфора при концентрации 1:100 обоих препаратов комплекса катехинов понизилось на 39—41%. Соответственно меньше контрольного было и отношение Р:О.

Опыты показали, что наблюдаемое повышение поглощения кислорода при применении препаратов катехинов существенно зависит от их способности к аутооксидации.

Результаты нашей работы, таким образом, показывают, что рутин не оказывает влияния на поглощение кислорода тканью печени, но препараты катехинов в больших концентрациях могут способствовать дыханию срезов печени и уменьшать поглощение фосфора, что, по-видимому, связано с их высокими аутооксидативными свойствами.

Институт экспериментальной
и клинической медицины
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
23. IX 1961

THE INFLUENCE OF RUTIN AND CATECHIN PREPARATIONS FROM TEA LEAVES UPON THE RESPIRATION OF ANIMAL TISSUE

(Report I)

L. Teras

Summary

The author studied the influence of rutin, preparation of vitamin P extracted from tea leaves, and of purified preparation for parenteral administration of catechins from tea leaves upon the respiration of the liver tissue of albino rats, *in vitro*. The rate of oxygen uptake was measured, by Warburg's manometric method, on liver slices in Krebs phosphate solution (pH 7.3) at 37° C during the period of one hour. In order to study the absorption of phosphorus by liver slices, the amount of inorganic phosphorus was determined at the beginning and at the end of the experiment by the modified Fiske-Subborow's method. Each of the experimental series was carried out on 14-16 experimental animals.

The results of the tests showed that rutin in concentrations from 10^{-2} to 10^{-3} did not influence the amount of oxygen consumption of liver tissue. The amount of phosphorus absorbed from samples and the P:O ratio did not differ from those of the controls, either.

The addition of the vitamin P preparation from tea leaves to the tissue slices in concentrations of 10^{-1} and 10^{-2} increased the amount of oxygen consumption by 272 per cent and 90 per cent. In smaller concentrations of that preparation (10^{-3} - 10^{-7}), the rate of respiration did not differ from that of the controls.

With a concentration of 1:25 of purified catechin preparation, the oxygen uptake increased by 224 per cent, and with a concentration of 1:100 it increased by 104 per cent, which was considerably higher than that of unpurified catechin preparation. The absorption of inorganic phosphorus in a concentration of 1:100 of both catechin preparations diminished by 39-41 per cent. In connection with that, the P:O ratio was also smaller than that of the controls.

The tests showed that the increased oxygen consumption observed by using catechin preparations was chiefly due to their auto-oxidative properties.

Thus the results of the experiments revealed that rutin did not influence the respiration of liver tissue, while the catechin preparations from tea leaves in high concentrations were able to promote the respiration of liver slices and diminish their phosphorus absorption, which appears to be due to the high auto-oxidative properties of these vitamin P preparations.

Academy of Sciences of the Estonian S.S.R.,
Institute of Experimental and Clinical Medicine

Received
Sept. 23rd, 1961