

ZAHRANIČNÍ PŘÍSPĚVKY S ČESKÝM PŘEKLADEM

613.693:541.515:616-001.9

613.693:541.515:616-001.9

NATURAL ANTIOXIDANTS AND PSYCHOPHYSICAL STRAIN

¹V. KATALINIĆ, ²S. RADIĆ, ³D. ROPAC¹Department of Sanitary Chemistry and Toxicology,²Department of Undersea and Hyperbaric Medicine,³Chief Medical Officer, Naval Medical Institute, Split,
Croatia

Summary

It has been hypothesized that the extreme psychophysical strain to which some of the military population (e.g., diver-commandos, air pilots, submarine personnel, radar operators) is frequently exposed, can trigger the O₂ radical cascade and lipid peroxidation, thereby exacerbating body oxidative stress. When provided with antioxidative machinery (i.e. antioxidant molecules and enzymes), aerobic cells can cope with the reactive oxygen species. For this reason, a diet rich in antioxidant nutrients is of great importance for health preservation in individuals exposed to a hazardous environment, extensive sunlight, or arduous physical tasks. The main aim of this prospective study was to investigate safe natural antioxidants derived from Croatian endemic plants, used as food additives acting as efficient free radical scavengers. Preliminary data revealed that the propolis from Croatia has a high antioxidative efficiency. Peroxide values were measured at regular intervals after in vitro fat oxidation at 60 °C. Preliminary results indicate that natural bioactive substances rich in bioflavonoids might prove highly beneficial for the health of the military population.

Key words: Antioxidant; Bioflavonoids; Propolis.

Introduction

Many scientists, including physicians, biologists, biochemists, chemists, etc., have recently become greatly concerned with the damage caused by the increased concentration of free radicals in various tissues. The presence of free radicals in biological tissue has been definitely demonstrated. According to the present knowledge of the tissue, free oxygen radicals are important mediators of numerous bio-

PŘIROZENÉ ANTIOXIDANTY A PSYCHOFYZICKÁ ZÁTĚŽ

¹V. KATALINIĆ, ²S. RADIĆ, ³D. ROPAC¹Odbor zdravotnické chemie a toxikologie,²Odbor podmořské a hyperbarické medicíny³Ředitel Institutu námořní medicíny, Split,
Chorvatsko

Souhrn

Existuje hypotéza, že extrémní psychofyzická zátěž, které jsou někteří příslušníci armády (např. potápěči, piloti, námořníci v ponorkách, obsluha radaru) často vystaveni, může aktivovat radikálovou kaskádu O₂ a lipidovou peroxidaci, tudíž aktivuje oxidační stres. Když jsou vybaveny buňky antioxidačním systémem (např. antioxidačními molekulami a enzymy) mohou se vyrovnat s reaktivními kyslíkovými radikály. Z tohoto důvodu potrava bohatá na antioxidační živiny je velmi důležitá pro ochranu zdraví jednotlivce vystaveného rizikovému prostředí, nadměrnému slunečnímu svitu nebo fyzicky náročným úkolům. Hlavním cílem této prospektivní studie bylo zkoumat přírodní antioxidy získané z chorvatských endemických rostlin používaných jako potravinový doplněk, které působí jako účinné zhášecí volných radikálů. Předběžné údaje odhalily, že propolis z Chorvatska má vysoký antioxidační účinek. Peroxidová čísla byla měřena v pravidelných intervalech po in vitro oxidaci tuku při 60 °C. Předběžné výsledky udávají, že přírodní bioaktivní látky bohaté na bioflavonoidy mohou být vysoce účinné pro zdraví vojenské populace.

Klíčová slova: Antioxidant; Bioflavonoidy; Propolis.

Úvod

Mnoho vědců včetně lékařů, biologů, biochemiků, chemiků atd. se v poslední době značně zajímá o poškození způsobené zvýšenou koncentrací volných radikálů v různých tkáních. Přítomnost volných radikálů v biologické tkáni byla s konečnou platností prokázána. Na základě současných poznatků ohledně tkáně jsou volné kyslíkové radikály důležitými mediátory četných biochemických

chemical processes, and their presence is always associated with a potential risk of excessive free radical formation for the existing antioxidant defense mechanisms to regulate (1-3).

Besides molecular oxygen as a generator of reactive oxygen species, many other factors can lead to free radical increase in a tissue, e.g., various types of irradiation, inhaling an atmosphere with increased oxygen concentration, tissue lesions, food manipulations, ever greater water, food and atmosphere contamination, stress, drugs, toxins, etc.

Intensive and prolonged exercise certainly requires the increased total energy and macro- and microconstituent requirements to be adequately met. Optimal supply is achieved by careful planning of daily diet during both preparatory activities and action or contest. Dietary regimen should be properly balanced as to allow optimal results to achieve and the individual's health to preserve. On exercise, oxygen consumption may increase 10- to 40-fold compared with oxygen consumption at rest. The increased amount and metabolism of oxygen may result in elevated concentrations of reactive oxygen species, i.e. free oxygen radicals. We are now aware of a paradox that oxygen, a chemical element indispensable for the survival of aerobic forms of life, is ultimately co-responsible for their destruction (1-3).

Although answers to many questions still remain unknown, the role of particular micronutrients in the antioxidative defense and preservation of health is beyond any question (4). Inadequate intake of micronutrients that have been demonstrated to play a crucial role in the antioxidant defense system can result in gradual decline of the antioxidant capacity and increase the risk of detrimental free radical effect even in normal living conditions. The higher the concentration of free radicals, the greater the risk of their harmful action. Intensive physical work under high pressure while breathing an atmosphere with increased oxygen concentration (diver-commands) is an excellent example of temporal restriction of optimal body functioning in such conditions that rapidly lead to oxidative stress and central nervous system impairment. Cerebral tissue is a highly favorable medium for the processes of lipid peroxidation due to the very high proportion of polyunsaturated fatty acids and relatively high concentration of Fe ions that can act as catalyzers in the processes of oxidation (1, 2).

Antioxidant defense mechanisms include some

procesů a jejich přítomnost je vždy spojena s potenciálním rizikem nadměrné tvorby volných radikálů pro existující antioxidační obranné mechanismy, které by je měly regulovat (1-3).

Kromě molekulárního kyslíku jako generátoru reaktivních kyslíkových radikálů může ke zvýšení volných radikálů v tkáni vést mnoho jiných faktorů, např. různé typy ozáření, inhalace vzduchu se zvýšenou koncentrací kyslíku, léze tkáně, manipulace s jídlem, kontaminace vody, jídla a vzduchu, stres, léky, jedovaté látky atd.

Intenzivní a dlouhodobé cvičení vyžaduje, aby byly adekvátně splněny zvýšené požadavky celkové energie a požadavky na makrosložky a mikrosložky. Optimální zásoba je dosažena pečlivým plánováním denní stravy jak během přípravných činností, tak akcí nebo soutěží. Režim stravy by měl být řádně vyvážený, aby bylo dosaženo optimálních výsledků a zachováno zdraví jednotlivce. Při cvičení se může spotřeba kyslíku zvýšit 10krát až 40krát ve srovnání se spotřebou kyslíku při odpočinku. Zvýšené množství a metabolismus kyslíku mohou mít za následek zvýšené koncentrace reaktivních kyslíkových radikálů, to je volných kyslíkových radikálů. Nyní jsme si vědomi paradoxu, že kyslík, chemický prvek nenahraditelný pro přežití aerobních forem života, je spoluzodpovědný za jejich zánik (1-3).

Ačkoli odpovědi na mnoho otázek jsou ještě neznámé, úloha určitých mikronutrientů při antioxidační obraně a ochraně zdraví je jasná. Nepřiměřený příjem mikronutrientů, které, jak bylo demonstrováno, hrají zásadní úlohu v antioxidačním obranném systému, může vést k postupnému úbytku antioxidační kapacity a zvýšit riziko škodlivého účinku volných radikálů i v normálních životních podmínkách. Čím větší je koncentrace volných radikálů, tím větší je riziko jejich škodlivého účinku. Intenzivní fyzická práce pod vysokým tlakem při dýchání atmosféry se zvýšenou koncentrací kyslíku (potápěči) je výborným příkladem přechodného omezení optimálního fungování těla v takovýchto podmínkách, které rychle vedou k oxidačnímu stresu a poškození centrálního nervového systému. Mozková tkáň je vysoce citlivé médium pro proces lipidové peroxidace díky vysokému podílu polyneenasycených mastných kyselin a relativně vysoké koncentraci Fe-iontů, které mohou působit jako katalyzátory v procesu oxidace (1, 2).

Antioxidační obranné mechanismy zahrnují ně-

enzymes and a number of low-molecular compounds, such as vitamin E (tocopherol), vitamin C (ascorbic acid), beta carotene, some microelements (zinc, copper, manganese, selenium), glutathione, and some other vitamin-like compounds of which bioflavonoids, i.e. natural polyphenols, have recently come into the focus of interest. The synergistic action of individual antioxidants has been confirmed.

Preliminary Results and Discussion

Biologically active phenols, especially bioflavonoids, are very interesting as antioxidants because of their natural origin and ability to act as efficient free radical scavengers (1, 5). The recognition of the synergistic action of particular constituents has stimulated the search for a natural material that could, with appropriate preparation, serve as the source of safe antioxidative protection.

Studies were performed on a triglyceride substrate at 60 °C with the addition of particular antioxidants in the amount of 0.1%. The rise in the oxidation number as an indicator of the process of oxidation was monitored at certain time intervals. The study included four phenolic acids, one flavan-3-ol group compound, and propolis. The results showed (+)-catechin and trans 3,4-dihydroxycinnamic acid to have the best antioxidant action among the phenol compounds under study. The molecular configuration of these compounds pointed to the role of vicinal -OH groups on the aromatic nucleus as a strong electrophilic center capable of inactivating free oxygen radicals. These results are consistent with the reports of the Chinese scientists from the Institute of Space Medicine, who have also been investigating natural substrates as a safe source of biologically active phenol compounds, as well as with other literature data (6-8).

Determination of the antioxidative action of particular natural materials and plant extracts has indicated that propolis could be used as an efficient substrate. Propolis retains the properties of the plant from which it has been collected. The chemical composition and thus the properties of propolis depend on the plant and on the macro- and microclimatic conditions. Samples of propolis from the Mediterranean part of Croatia were examined. Total phenol proportion in the propolis extract was determined by the Folin-Ciocalteu method, whereas the method of precipitation with

ktéřé enzymy a řadu nízkomolekulárních sloučenin, jako je vitamín E (tokoferol), vitamín C (kyselina askorbová), beta-karoten, některé mikroelementy (zinek, měď, mangan, selén), glutathion a jiné sloučeniny podobné vitamínům, z nichž bioflavonoidy, tj. přírodní polyfenoly, se nedávno staly středem zájmu. Synergický účinek jednotlivých antioxidačních činidel byl potvrzen.

Předběžné výsledky a diskuse

Biologicky aktivní fenoly, zvláště bioflavonoidy, jsou velmi zajímavé jako antioxidanty vzhledem k jejich přírodnímu původu a schopnosti působit jako efektivní zhášec volných radikálů (1, 5). Poznání synergického účinku určitých složek stimulovalo hledání přírodního materiálu, který by mohl po vhodné úpravě sloužit jako zdroj bezpečné antioxidační ochrany.

Byly provedeny studie na triglyceridovém substrátu při 60 °C s přidávkem specifických antioxidantů v množství 0,1 %. Zvýšení oxidačního čísla jako indikátoru procesu oxidace bylo monitorováno v určitých časových intervalech. Studie zahrnovala čtyři kyseliny fenolové, sloučeninu obsahující jednu skupinu flavan-3-ol a propolis. Výsledky ukázaly, že (+)-catechin a kyselina trans 3,4-dihydroxycinnamionová mají nejlepší antioxidační účinek mezi sloučeninami fenolu, které byly studovány. Molekulární konfigurace těchto sloučenin ukázala na úlohu OH-skupin na aromatickém jádru jako silného elektrofilního centra schopného inaktivovat volné kyslíkové radikály. Tyto výsledky jsou shodné se zprávami čínských vědců z Ústavu kosmické medicíny, kteří také zkoumali přírodní substráty jako bezpečný zdroj biologicky aktivních fenolových sloučenin, a rovněž s jinými údaji v literatuře (6-8).

Stanovení antioxidačního účinku konkrétních přírodních materiálů a výtažků rostlin udává, že propolis by mohl být používán jako efektivní substrát. Propolis si ponechává vlastnosti rostlin, ze kterých byl posbírán. Chemické složení a tudíž vlastnosti propolisu závisí na rostlině a na makroklimatických a mikroklimatických podmínkách. Byly vyšetřeny vzorky propolisu ze středomořské části Chorvatska. Celkový podíl fenolu v extraktu propolisu byl určen Folin-Ciocalteuovou metodou, zatímco metoda srážení s formaldehydem byla použita k určení bioflavonoidů. Výsledky pilotních studií ukázaly, že

formaldehyde was used to determine bioflavonoids. Results of preliminary studies showed the proportion of bioflavonoids in total phenol content to range up to 80% (Fig. 1). Oxidative processes were monitored by the determination of the oxidation number change (Fig. 2). The results obtained pointed to a high efficiency of this natural material in the prevention of oxidative processes.

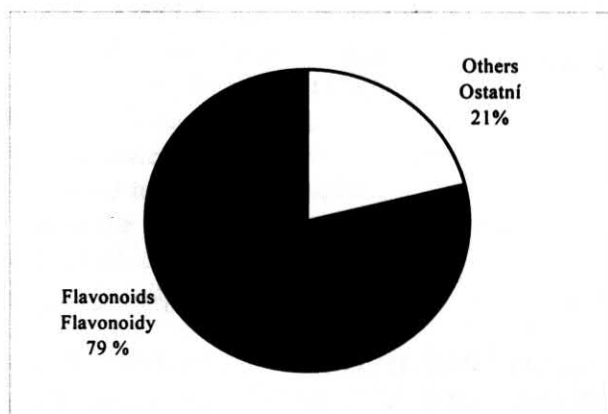


Fig. 1: The relative amount of flavonoids in total phenolic content in propolis.

Obr. 1: Relativní množství flavonoidů v celkovém obsahu fenolu v propolisu.

Conclusion

Preliminary investigation showed the propolis extract studied to have a very good antioxidative action that could be explained by the high proportion of polyphenol constituents, especially bioflavonoids. The efficiency of propolis as an antioxidant, its natural origin and present knowledge about its properties, make it a very promising substrate for the preparation of an adequate nutritional additive to serve as a source of antioxidative protection. We are inclined to believe that such a food additive may have a significant health protection role in the individuals and/or groups exposed to high psychophysical strain and/or stay in a specific, high risk environment.

References

31. FOOTE, CS., et al.: Active oxygen in chemistry. London, Blackie Academic & Professional, 1995.
32. AHMAD, S.: Oxidative stress and antioxidant defenses in

zastoupení bioflavonoidů v celkovém obsahu fenolu dosáhlo 80 % (obr. 1). Oxidační procesy byly monitorovány určením změny oxidačního počtu (obr. 2). Získané výsledky ukazovaly na vysokou účinnost tohoto přírodního materiálu při prevenci oxidačních procesů.

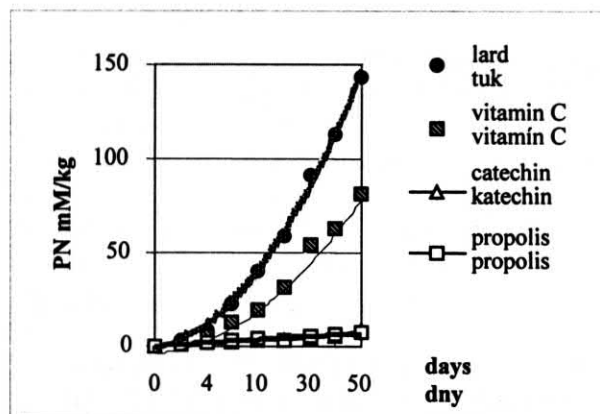


Fig. 2: Antioxidative efficiency of propolis, vitamin C and (+)-catechin in lard at 60 °C (propolis and (+)-catechin had similar trend-line).

Obr. 2: Antioxidační účinnost propolisu, vitamínu C a (+)-katechinu v tuku při 60 °C (propolis a (+)-katechin měly podobný trend).

Závěr

Předběžné vyšetřování ukázalo, že propolisový extrakt, který byl studován má velmi dobrý anti-oxidační účinek, který se může vysvětlit vysokým podílem polyfenolových prvků, zvláště bioflavonoidů. Účinnost propolisu jako antioxidačního činidla, jeho přírodní původ a současné znalosti o jeho vlastnostech způsobují, že je to velmi slibná látka pro přípravu adekvátních výživových doplňků, které slouží jako zdroj antioxidační ochrany. Věříme tomu, že takovýto potravinový doplněk může hrát značnou úlohu při ochraně zdraví u jednotlivců a/nebo skupin vystavených vysoké psychofyzické zátěži a/nebo při pobytu ve specifickém prostředí s vysokým rizikem.

Literatura

- biology. New York, Chapman & Hall Ed., 1995.
3. DREOSTI, IE.: Trace elements, micronutrients, and free radicals. New Jersey, Division of Human Nutrition,

- Humana Press, 1991.
4. WHO/NUT: Preparation and use of food-based dietary guidelines. Geneva, World Health Organization, 1996.
 5. SCALBERT, A.: Polyphenolic phenomena. Paris, INRA, 1993.
 6. ZHAN, H., et al.: Effects of tea polyphenols on cerebral lipid peroxidation, liver and renal functions in rats after repeated +Gz stress. Space Med. Med. Engin, 1999, vol. 12, p. 1-4.
 7. CHOI, JH. - CHA, BK. - RHEE, SJ.: Effects of green tea catechin on hepatic microsomal phospholipase A(2) activities and changes of hepatic phospholipid species in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Nutr. Sci Vitaminol, Tokyo, 1998, vol. 44, p. 673-683.
 8. HEINONEN, IM., et al.: Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. J. Agricult Food Chem., 1998, vol. 46, p. 4107-4112.

Překlad D. Uhlířová

Received 9. 7. 1999

Do redakce došlo 9. 7. 1999