

## Antioxidant Properties of the Extract From the Brown Seaweed *Sargassum pallidum* at Stress Impact

S.E. Fomenko\*, N.F. Kushnerova, V.G. Sprygin

*Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, ul. Baltiiskaya 43, Vladivostok, 690041, Russia*

\*E-Mail: [fomenko29@mail.ru](mailto:fomenko29@mail.ru)

Received October 7, 2016

The impact of abiotic and biotic stress factors, in the first place, upset the antioxidant defense system of the organism, causing the generation of the excess of high reactive oxygenic radicals, accompany with cell peroxidation of lipids within cell membranes. For restoration of the metabolic reactions of the organism upset by stress are using the complexes of biologically active substances, separated from seaweeds, possessing the high antioxidative and antiradical activity and are capable effectively neutralize the high toxic radicals. The purpose of the current research was to study the influence of extract of brown seaweed *Sargassum pallidum* on characteristics of the antioxidant defense system in liver and blood of mice at acute stress. The acute stress was simulated by suspending animals in the upright position by their neck dorsal skin fold for 24 hours. Administration of the *S. pallidum* at experimental stress resulted in a pronounced preventive action, which was occurred as preserving of the weight index of their viscera, absence of ulcerous damage of stomach mucosa, support of the stability of the organism antioxidant defense system indexes and a reduction of lipid peroxidation. The extract from *S. pallidum* has proven to be no less effective in protecting the organism metabolic reactions under an acute stress than the well-known stress protecting preparation – Eleutherococcus extract. The pronounced protective effect of the *S. pallidum* extract are explained by the action of antioxidant effect of polyphenols comprising, separated during the extraction of the exploring raw material. *S. pallidum* appears to be a promising raw material among the marine macrophytes for developing of the high effective stress-protective preparations with pronounced antioxidant properties.

*Key words: antioxidant defense, stress, liver, extract, Sargassum pallidum, Eleutherococcus*

В литературе представлено большое количество сообщений, демонстрирующих связь между стрессом и развитием различных заболеваний: язвы желудочно-кишечного тракта, гипертоническая болезнь, сердечно-сосудистые заболевания, опухоли, диабет и др. (Chrousos, 2009; Dachanidze *et al.* 2013). Однако биохимического обоснования возникновения стресс-индуцированных расстройств, по большей части, не известно. Одним из возможных механизмов их возникновения является пероксидация липидов клеточных мембран, которая обусловлена гиперпродукцией свободных радикалов, таких как супероксид-радикал, гидроксил-радикал, а также связанных радикалов – пероксид водорода, синглетный кислород и др. (Davies, 2000). Для нейтрализации этих радикалов в клетках живых организмов существуют антиоксидантные ферменты и неэнзиматические низкомолекулярные антиоксиданты, которые являясь «ловушками» радикалов, значительно снижают образование таких реактивных кислородных видов и защищают организм от оксидативных повреждений. Несмотря на то, что стресс является приспособительной реакцией организма в ответ на различные абиотические и биотические факторы, в какой-то момент наступает предел прочности и срыв регуляторных систем организма (дизадаптация). При этом избыточная генерация реактивных кислородных радикалов превышает антиоксидантную способность организма, в результате формируется оксидативный стресс, который способствует развитию патологических изменений и заболеваний.

Одним из путей восстановления нарушенных стрессом метаболических реакций организма является использование природных комплексов, обладающих высокой антиоксидантной и антирадикальной активностью, то есть способностью эффективно нейтрализовать высокотоксичные радикалы, и тем самым инактивировать оксидативный процесс. В последнее время особое внимание привлекают морские водоросли, как потенциальные источники природных антиоксидантов. В их состав входят такие биологически активные соединения, как

полисахариды, аминокислоты, минералы, витамины, липиды, пищевые волокна, полифенольные соединения и др. (Yuan, Walsh, 2006; Holdt, Kraan, 2011; Sprygin *et al.*, 2012).

Особый интерес представляют массовые виды морских водорослей, в частности, Саргассум бледный - *Sargassum pallidum* (Turner) C.Agardh, который относится к отряду бурых водорослей, семейства саргассовых – Sargassaceae. Саргассум традиционно используется в странах Юго-восточной Азии, как пищевой продукт с высокой биологической ценностью, а также как сырье для получения препаратов альгиновой кислоты (полисахаридный комплекс), применяющихся в качестве энтеросорбентов. Однако в России Саргассум бледный не имеет столь широкого применения в качестве продукта пищевого назначения, как например, морская капуста (Ламинария японская). При этом промысловые запасы Саргассума бледного в целом ряде районов прибрежных морей Дальнего Востока существенно превышают запасы ламинарии японской (Dulenin, 2012).

Известно, что бурые водоросли содержат значительные количества полифенольных соединений (Sprygin *et al.*, 2012), доминирующей группой которых являются флоротаннины. Флоротаннины представляют собой продукты полимеризации флороглюкинола (1,3,5-тригидроксибензола), обладающие широким спектром биологической активности (Ragan and Golombitza, 1986). Согласно нашим экспериментальным исследованиям содержание общих полифенолов, определенное с помощью реактива Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999), составляет до 50% от сухого остатка экстракта *S. pallidum*. Кроме этого, в состав экстракта входят минеральные, азотсодержащие вещества, белки, жиры и жирорастворимые пигменты, стероиды, следы полисахаридов, углеводов и ряд других органических соединений.

В экспериментальных исследованиях на модели опухоли желудка крыс было показано, что водный экстракт, выделенный из *S. pallidum*, проявил

терапевтический эффект, усилив иммунный статус и антиоксидантную защиту слизистой оболочки желудка (Rui-Li Zhang *et al.*, 2012). Антиоксидантное действие водного экстракта из саргассума проявлялось также при язвенных поражениях ЖКТ, вызванных интоксикацией крыс этиловым спиртом в сочетании с соляной кислотой (Raghavendran *et al.*, 2004). В обзорной статье S.R. Yende *et al.* (2014) представлены сведения о том, что экстракты ряда водорослей, относящихся к семейству саргассовых, проявляют различные биологические активности, такие как: антиоксидантные, нейропротекторные, гепатозащитные, антимикробные, противовирусные, иммуномодулирующие и др. Однако биологическая активность полифенольного комплекса из *S. pallidum* в отношении стресс-протекторного действия, до настоящего времени не получило должного развития.

Целью настоящей работы явилось исследование профилактического влияния водно-спиртового экстракта, выделенного из таллома морской водоросли *Sargassum pallidum*, на состояние антиоксидантной системы мышей в условиях острого стресса.

## MATERIALS AND METHODS

Образцы водоросли *S. pallidum* собирали в летний период в бухте Алексеева о-в Попова зал. Петра Великого (Японское море), тщательно очищали от эпифитов, небольших беспозвоночных и частиц песка, промывали морской водой, затем дистиллированной, и высушивали при  $t < 50^{\circ}$  С. Высушенный таллом измельчали с помощью лабораторной мельницы и экстрагировали 95% этиловым спиртом в соотношении 1:2 (по объему) сырье: экстрагент. Экстракцию проводили методом реперколяции, выход экстракта составлял 1 л на 1 кг исходного сырья. После экстракции полученное извлечение отстаивали в холодильнике при температуре 0-4 °С для формирования осадка и удаления из экстракта избытка полисахаридов и углеводов. После отстаивания экстракт фильтровали, упаривали под вакуумом при температуре не выше 37°С.

При определении количественного состава экстракта среди биологически активных фракций доминирующей была фенольная фракция, поэтому стандартизацию экстракта из саргассума проводили по суммарному содержанию полифенолов (ПФ) и дозу вводимого препарата рассчитывали в мг общих ПФ на 1 кг массы животного. Готовая субстанция на основе продукта экстракции таллома саргассума обладает низкой токсичностью ( $LD_{50}$  составляет 2000 мг/кг) и не оказывает вредного действия при длительных введениях в желудок и парэнтерально, что позволило провести экспериментальные исследования на животных.

Эксперимент проводили на белых беспородных мышках-самцах массой 20 - 30 г, содержащихся в стандартных условиях вивария и на стандартном рационе питания. Острый стресс моделировали путем вертикальной фиксации животных за дорсальную шейную складку на 24 часа. Контрольные животные содержались в стандартных условиях вивария. Препараты вводились в желудок через зонд дважды: непосредственно перед вертикальной фиксацией и через 6 часов после первого введения. В качестве препарата сравнения использовали официальный стандартизованный экстракт элеутерококка (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) - известного адаптогена и стресс-протектора (Davydov and Krikorian, 2000). Экстракты саргассума и элеутерококка освобождали от спирта путем упаривания в вакуумном испарителе, доводили дистиллированной водой до требуемого объема и вводили мышам внутрижелудочно через зонд в виде водной взвеси. Разведение проводили таким образом, чтобы терапевтическая доза, принятая в данном исследовании, а именно 100 мг общих полифенолов/кг массы (Vengerovskii *et al.*, 2012) составила по объему 5,0 мл/кг массы, что соответствовало 0,1 мл разведенного препарата на одну особь. Животные из группы «чистый стресс» получали дистиллированную воду в объеме, равном объему вводимых препаратов.

Кровь для исследований собирали из шейной вены животных в вакуэты с 1% раствором гепарина. Для отделения плазмы кровь центрифугировали 10

мин при 3000 об/мин, затем образцы плазмы замораживали при  $t = -80^{\circ}\text{C}$  для дальнейшего определения биохимических показателей. Печень после извлечения промывали в физиологическом растворе и также замораживали в рефрижераторе при  $t=-80^{\circ}\text{C}$ .

В ходе исследования были выделены четыре группы животных по 10 мышей в каждой: 1-я группа – контроль (интактные); 2-я группа – вертикальная фиксация (чистый стресс); 3-я группа – вертикальная фиксация + экстракт саргассума; 4-я группа – вертикальная фиксация + экстракт элеутерококка. Животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Исследование одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН (протокол № 7 от 16.12.2015г).

После экспериментального стресс - воздействия подсчитывали относительную массу внутренних органов (печень, селезенка) и количество изъязвлений слизистой оболочки желудка. Относительная масса внутренних органов рассчитывалась как отношение массы органа к массе тела животного в процентах. Состояние антиоксидантной системы мышей оценивали по активности супероксиддисмутазы (Paoletti *et al.*, 1986), глутатионпероксидазы (Burk *et al.*, 1980), глутатионредуктазы (Goldberg and Spooone, 1983), величине антирадикальной активности (Re *et al.*, 1999) и малонового диальдегида в крови (Buege and Aust, 1978), а также содержанию восстановленного глутатиона в печени (Elman, 1959). Обработку результатов проводили с использованием статистического пакета InStat 3.0 (GraphPad Software Inc. USA, 2005) с функцией проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий в зависимости от параметров распределения использовали параметрический  $t$ -критерий

Стьюдента или непараметрический  $U$ -критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p<0,05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

Вертикальная фиксация мышей за дорсальную шейную складку в течение 24 часов вызывала снижение веса животных на 21% ( $p<0,001$ ) и относительной массы внутренних органов (селезенка, печень) в среднем на 19-23% ( $p<0,05-0,01$ ) (табл.1). В свою очередь, снижение относительной массы селезенки свидетельствует об инволюции лимфатической системы, что связано с увеличенной секрецией корой надпочечников стероидных гормонов (Chrousos, 2009), вызывающих распад лимфоцитов и угнетение метаболических процессов в клетках селезенки. Таким образом, уже на ранних стадиях стрессовой реакции возникают изменения в иммунокомпетентных органах. Показателем стрессированности при экстремальном воздействии является также появление язвенных поражений слизистых оболочек желудка. В группе стрессированных животных количество зафиксированных изъязвлений слизистой составило  $2.6\pm 0.1$  шт/животное, в контроле - 0.

Введение на фоне острого стресса экстракта из саргассума и элеутерококка (3-я и 4-я группы) сопровождалось тенденцией к уменьшению выраженности инволюционных изменений внутренних органов по сравнению со 2-й группой «чистый стресс». Так, в группах мышей, получавших профилактически природные экстракты, относительная масса печени возросла в среднем на 6 - 8% ( $p<0,05$ ). При этом на фоне введения элеутерококка относительная масса селезенки повысилась на 16% ( $p<0,001$ ), а у мышей, получавших экстракт саргассума, данный показатель вырос на 12% ( $p<0,001$ ) по сравнению с группой «чистый стресс». Хотя применение протекторных средств (экстракта саргассума и элеутерококка) не привело к полному восстановлению относительной массы внутренних органов, но способствовало достоверному повышению этих показателей в сравнении со 2-й группой «чистый стресс». В

отношении параметров массы тела мышей в 3-й и 4-й группах, получавших природные экстракты, положительной динамики не отмечалось, данные показатели оставались все еще достоверно низкими (табл.1). Однако важно отметить, что у этих мышей также не было зафиксировано язвенных изъязвлений слизистых оболочек желудка. Таким образом, на основании полученных экспериментальных данных можно сделать вывод о том, что исследуемые экстракты саргассума и элеутерококка оказали положительное влияние на относительную массу внутренних органов и слизистую желудка мышей в условиях стресс - воздействия.

Согласно данным литературы, при различном экстремальном воздействии в системе антиоксидантной защиты происходят существенные изменения в результате избыточного образования свободных радикалов (Sahin, Gümüřlü, 2007). Оценивая состояние антиоксидантной системы животных, подвергнутых стрессовому воздействию (табл.2), было выявлено снижение величины антирадикальной активности плазмы крови на 46% ( $p < 0,001$ ) и на 40% ниже ( $p < 0,001$ ) контрольного уровня зафиксирована активность супероксиддисмутазы (СОД) - ключевого фермента антиокислительной защитной системы. Также отмечалось снижение уровня восстановленного глутатиона (Г-SH) печени почти в 2 раза и активности глутатионредуктазы (ГР) на 26% ( $p < 0,001$ ) - фермента, выполняющего главную роль в поддержании определенной концентрации Г-SH внутри клетки. Активность другого ключевого фермента глутатионового звена – глутатионпероксидазы (ГП), катализирующей восстановление перекисей и гидроперекисей, также была снижена на 35% ( $p < 0,001$ ).

Такие нарушения в показателях системы антиоксидантной защиты можно определить как ее истощение. Нарушения антиоксидантной защитной системы в условиях стресса проявлялись также в увеличении количества малонового диальдегида (МДА) на 68% ( $p < 0,001$ ). Данный показатель характеризует высокую активность перекисного окисления жирных кислот, входящих в состав

мембранных липидов, что сопровождается повышением проницаемости клеточных мембран в различных тканях (Sahin, Gümüřlü, 2007; Fomenko et al., 2013).

Введение экстракта из саргассума (3-я группа) на фоне стресс-воздействия оказало существенное антиоксидантное действие, о чем свидетельствует восстановление показателей глутатионовой системы по сравнению со 2-й группой мышей, не получавших экстракты (табл.2). Так, уровень Г-SH в ткани печени повысился на 40% ( $p < 0.001$ ), а активности ГП и ГР плазмы крови сохранялись на уровне контрольных величин. Снизилось содержания МДА в плазме крови на 18% ( $p < 0.001$ ) при одновременном повышении уровня АРА на 37% ( $p < 0.001$ ), а также активности СОД на 21% ( $p < 0.001$ ).

У животных, получавших экстракт элеутерококка на фоне стресса (4-я группа), исследуемые антиоксидантные показатели также имели тенденцию к стабилизации. При сравнении со 2-й группой значительно повысился уровень АРА (на 73%;  $p < 0.001$ ) и активность СОД (на 50%;  $p < 0.001$ ), снизилось содержание МДА (на 32%;  $p < 0.001$ ). В свою очередь, показатели глутатионовой системы у этих мышей, в частности активность ГП и ГР, были несколько ниже контрольных величин и уступали аналогичным параметрам в группе животных, получавших экстракт саргассума. Данный эффект обусловлен, по нашему мнению, тем, что в составе водорослевого экстракта присутствует фенольная фракция, относящаяся к особой группе вторичных метаболитов (флоротаннины) и обладающая антиоксидантными свойствами. И хотя полифенолы, содержащиеся в бурых водорослях существенно отличаются по химическому составу от наземных растений, но они также обладают способностью связывать свободные радикалы, нейтрализуя их поражающее действие в организме (Yuan, Walsh, 2006), что и обуславливает антиоксидантный эффект экстракта из *S. pallidum*. Следовательно, применение экстракта из *S. pallidum* при стресс-вертикальной фиксации сопровождалось выраженным профилактическим действием, которое

**Table 1.** Влияние стресса на весовые показатели внутренних органов мышей и их коррекция экстрактом из бурой водоросли *Sargassum pallidum* и элеутерококком. (M±m)

Показатели	1 группа Контроль (интактные)	2 группа Стресс	3 группа Стресс+саргассум	4 группа Стресс+элеутерококк
Вес животного (г)	33,40±0,88	25,62±1,13 <sup>3</sup>	23,37±0,99 <sup>3</sup>	22,75±0,62 <sup>3</sup>
Относительная масса печени (%)	5,96±0,18	4,57±0,31 <sup>2</sup>	4,92±0,25 <sup>1</sup>	4,86±0,62 <sup>1</sup>
Относительная массы селезенки (%)	0,31±0,014	0,25±0,023 <sup>1</sup>	0,28±0,018 <sup>1,6</sup>	0,29±0,031 <sup>Б</sup>

Примечание. Здесь и в таблице 2 изменения статистически достоверны: <sup>1</sup> p<0.05, <sup>2</sup> p<0.01, <sup>3</sup> p<0.001 – при сравнении с контролем; <sup>а</sup> p<0.05, <sup>б</sup> p<0.01, <sup>в</sup> p<0.001 – со 2-й группой.

**Table 2.** Влияние стресса на показатели антиоксидантной защиты печени и плазмы крови мышей и их коррекция экстрактом из бурой водоросли *Sargassum pallidum* и элеутерококком (M±m)

Показатели	1 группа Контроль (интактные)	2 группа Стресс	3 группа Стресс+саргассум	4 группа Стресс+элеутерококк
Г-SH (мкмоль/г печени)	4,70±0,15	2,50±0,14 <sup>3</sup>	3,51±0,18 <sup>2,6</sup>	3,48±0,31 <sup>1,6</sup>
ГР (нмоль/мин/мл плазмы)	88,21±4,26	65,17±3,60 <sup>3</sup>	89,82±7,09 <sup>6</sup>	72,70±1,34 <sup>1</sup>
ГП (нмоль/мин/мл плазмы)	139,0±4,83	90,5±3,25 <sup>3</sup>	139,2±4,08 <sup>Б</sup>	110±5,07 <sup>2,а</sup>
АРА (ед.трол./мг белка)	13,15±0,21	7,10±0,13 <sup>2</sup>	9,75±0,15 <sup>3,Б</sup>	12,28±0,12 <sup>2,Б</sup>
СОД (ед.трол./мл крови)	678,49±6,47	405,41±10,74 <sup>3</sup>	491,24±13,07 <sup>3,Б</sup>	611,24±3,79 <sup>2,Б</sup>
МДА (мкмоль/мл)	3,70±0,10	6,21±0,19 <sup>3</sup>	5,14±0,13 <sup>3,Б</sup>	4,25±0,06 <sup>3,Б</sup>

Примечание. Условные обозначения: Г-SH – восстановленный глутатион, ГР – глутатионредуктаза, ГП – глутатионпероксидаза, МДА – малоновый диальдегид, СОД – супероксиддисмутаза, АРА – антирадикальная активность.

проявлялось в сохранении весовых коэффициентов внутренних органов животных, отсутствии язвенных изъязвлений слизистой оболочки желудка, а также антиоксидантной защите печени и крови и снижении уровня перекисного окисления липидов. На основании полученных данных можно констатировать, что при стрессовом воздействии экстракт из саргассума не уступал экстракту элеутерококка, а по некоторым исследованным параметрам антиоксидантной защиты даже превосходил таковой. *Sargassum pallidum* является

перспективным видом сырья для получения стресс-протекторных препаратов и пищевых добавок, которые могут быть использованы для введения в функциональные пищевые продукты питания.

## REFERENCES

- Chrousos G. P. (2009). Stress and disorders of the stress system. *Nat. Rev. Endocrinol.*, **5**, 374–381.
- Buege J.A., Aust S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. N.Y.: Academic Press. **52**, pp. 302-310.

- Burk R.F., Lawrence R.A., Lane J.M. (1980). Liver necrosis and lipid peroxidation in the rat as the result of paraquat and diquat administration. Effect of selenium deficiency. *J. Clin. Invest.*, **65** (5), 1024-1031.
- Dachanidze N., Burjanadze G., Kuchukashvili Z., Menabde K., Koshoridze N. (2013). Functioning of the Antioxidant System under Psycho-Emotional Stres. *J. of stress physiology & biochemistry*, **9** (4), 122-131.
- Davies K.J. (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life*, **50**, 279–289.
- Davydov M., Krikorian A.D. (2000). *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae) as an adaptogen: a closer look. *Journal of Ethnopharmacology*, **72**, 345-393.
- Dulenin A.A. (2012). Resources and distribution of commercial macrophytes in the western Tartar Strait (Khabarovsk Territory). *Izv. TINRO*, **170**, 17–29.
- Elman G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82** (1), 70-77.
- Fomenko S.E., Kushnerova N.F., Sprygin V.G., Momot T.V. (2013). Impairment of metabolic processes in liver of rats under stress impact. *Pacific medical magazine*, **2**, 67-70.
- Goldberg D.M., Spooone R.J. (1983). *Methods of enzymatic analysis*. H.U. Bergmeyer (ed. in-chive), Weinheim; Deerfield Beach, Florida; Basel, **3**, pp.258-265.
- Holdt S. L., Kraan S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *J. Appl. Phycol.*, **23**, 543–597.
- Paoletti F., Aldinucci D., Mocali A., Caparrini A. (1986). A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase activity in tissue extracts. *Analytical biochemistry*, **154** (2), 536-541.
- Ragan M.A., Golombitza R-W (1986). Phlorotannins, brown algal polyphenols. *Progr. Phycol. Res.*, **4**, 129-241.
- Raghavendran H.R; Sathivel A., Devaki T. (2004). Efficacy of brown seaweed hot water extract against HCl-ethanol induced gastric mucosal injury in rats. *Arch Pharm Res.*, **27** (4), 449-453.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS<sup>+</sup> radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, **26** (9-10), 1231–1237.
- Rui-Li Zhang, Wen-Da Luo, Tie-Nan Bi and Shen-Kang Zhou. (2012). Evaluation of Antioxidant and Immunity-Enhancing Activities of *Sargassum pallidum* Aqueous Extract in Gastric Cancer Rats. *Molecules*, **17**, 8419-8429.
- Sahin E., Gümüöslü S. (2007). Stress-dependent induction of protein oxidation, lipid peroxidation and anti-oxidants in peripheral tissues of rats: comparison of three stress models (immobilization, cold and immobilization-cold). *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **34** (5-6), 425-431.
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, **299**, 152-178.
- Sprygin V.G., Kushnerova N.F., Fomenko S.E., Sizova L.A. (2012). Marine algae – perspective source of polyphenol antioxidants and essential phospholipids complexes. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra RAN*, **14** (1), 2299-2302.
- Vengerovskii A.I., Udut V.V., Reikhart D.V., Digay A.M. (2012). Methodical recommendations for study of hepatoprotective activity of medicines. *Rucovodstvo po provedeniuy doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv*. Part 1. Eds. A.N. Mironova. Moscow: Grif and Co., 710-718.
- Yuan Y.V., Walsh N.A. (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds. *Food Chem. Toxicol.*, **44**, 1144–1150.

Yende S.R, Harle U.N, Chaugule B.B. (2014). Sargassum species. *Pharmacogn. Rev.*, **8 (15)**, 1-7.  
Therapeutic potential and health benefits of