



## A Comparison of *In Vivo* Effects of D-003, a Mixture of High Molecular Weight Sugarcane Wax Acids and Grape Seed Extract on Lipid Peroxidation Markers in Rats

Yohani PÉREZ, Vivian MOLINA \*, Rosa MÁ S, Rosa M. GONZÁLEZ & Sonia JIMÉNEZ.

Centre of Natural Products, National Centre for Scientific Research,  
Cubanacán, Havana City, Cuba

**SUMMARY.** Free radicals produce detrimental effects on target molecules, like increased lipid, protein and DNA peroxidation, which can be inhibited or delayed by antioxidant substances. D-003 is a mixture of high molecular weight sugarcane wax acids that has shown to inhibit lipid peroxidation (LP) in animal models and healthy volunteers. Grape seed extracts (GSE), rich in flavonoids, have demonstrated potent and effective antioxidant effects in experimental and clinical studies. No previous study, however, has compared the *in vivo* antioxidant effects of D-003 and GSE. This study was undertaken in order to compare the effects of oral treatment with D-003 and GSE on plasma and liver LP in the rat. Male Wistar rats were distributed into 5 groups: a control treated with acacia gum/water vehicle, two treated with D-003 and two with GSE, both at 25 and 250 mg/kg. After 4 weeks on treatment, effects on plasma LP were assessed by measuring the concentrations of malondialdehyde (MDA) and total peroxides, and effects on liver LP by determining the MDA concentrations generated with the enzymatic (NADPH/ADP/ClFe<sub>3</sub>) and non-enzymatic (FeSO<sub>4</sub>/ascorbate/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) oxidant systems. Compared with the controls, D-003 (25 and 250 mg/kg) significantly ( $p < 0.001$ ), but modestly, reduced plasma MDA (25.4% and 35.6%, respectively), whereas GSE at 250 mg/kg, not at 25 mg/kg, lowered MDA significantly ( $p < 0.001$ ) and modestly (22.4%). At 25 mg/kg the effects of D-003 were greater than ( $p < 0.001$ ) those of GSE, but at 250 mg/kg were similar. D-003 and GSE at 25 and 250 mg/kg decreased significantly ( $p < 0.001$ ) plasma peroxides. With the highest dose, the reductions with GSE (62.1%) were greater ( $p < 0.001$ ) than with D-003 (49.1%). In the liver, D-003 (25 mg/kg) reduced significantly ( $p < 0.0001$ ), but modestly, the MDA concentrations generated with the enzymatic (28.4%) and the non-enzymatic system (55.8%), effects that increased noticeably at 250 mg/kg, lowering significantly ( $p < 0.0001$ ) and markedly MDA levels by 77.4% (enzymatic system) and 79.1% (non-enzymatic system). At 25 mg/kg, GSE reduced ( $p < 0.0001$ ) modestly (15.0%) MDA generated with the non-enzymatic system only, while at 250 mg/kg, it decreased significantly ( $p < 0.0001$ ) and markedly MDA concentrations generated with the enzymatic (89.4%) and the non-enzymatic system (91.2%), more ( $p < 0.01$ ) than with D-003. D-003 and GSE did not change significantly the activity of GPX, CAT and GSHR compared with the controls. In conclusion, D-003 and GSE orally administered to rats for 4 weeks inhibited LP in plasma and liver. At the highest dose, the effects of both treatments on plasma MDA were modest and similar, while the effects on total peroxides were moderate, and greater with GSE. The effects of both treatments on liver LP induced with both systems were significant and marked, D-003 was more effective at 25 mg/kg, and GSE at the highest dose, although the differences between both treatments were modest. No effects on antioxidant enzymes were observed.

**RESUMEN.** "Comparación de los Efectos *In Vivo* del D-003, una Mezcla de Ácidos de Alto Peso Molecular Obtenida de la Cera de Caña de Azúcar y el Extracto de Uva sobre Marcadores de Peroxidación Lipídica en Ratas". Los radicales libres producen efectos dañinos sobre las moléculas diana, como una incrementada peroxidación de lípidos (PL), proteínas y del ADN, lo cual puede ser inhibido o reducido por sustancias antioxidantes. El D-003 es una mezcla de ácidos de alto peso molecular obtenida de la cera de la caña de azúcar que ha mostrado inhibir la peroxidación lipídica en modelos animales y voluntarios sanos. El extracto de Uva, rico en flavonoides, ha demostrado poseer efectos antioxidantes efectivos y potentes en estudios experimentales y clínicos. Sin embargo, ningún estudio previo ha comparado los efectos antioxidantes *in vivo* del D-003 y el extracto de Uva. Este estudio tiene como objetivo comparar los efectos del tratamiento oral con D-003 y el extracto de Uva sobre la peroxi-

**KEY WORDS:** Antioxidant activity, D-003, Grape seed extract, Lipid peroxidation, Sugarcane wax acids.

**PALABRAS CLAVE:** Actividad antioxidante, Cera de caña de azúcar, D-003, extracto de Uva, Peroxidación lipídica.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: vivian.molina@cnic.edu.cu

dación lipídica en plasma e hígado de ratas. Ratas Wistar machos se distribuyeron en 5 grupos: un control tratado con vehículo de goma acacia/agua, dos tratados con D-003 y dos con el extracto de Uva, ambos a 25 y 250 mg/kg. Después de 4 semanas de tratamiento, se determinaron los efectos sobre la PL por cuantificar las concentraciones de malondialdehído (MDA) y peróxidos totales, y los efectos sobre la PL en hígado mediante la determinación de las concentraciones de MDA generadas con los sistemas oxidantes enzimáticos (NADPH/ADP/CiFe<sub>3</sub>) y no-enzimáticos (FeSO<sub>4</sub>/ascorbate/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). El D-003 (25 y 250 mg/kg.) redujo de modo modesto (25.4 % and 35.6 %, respectivamente), y significativo ( $p < 0.001$ ) los niveles de MDA plasmático comparado con el grupo control, mientras el extracto de Uva a 250 mg/kg., no a 25 mg/kg., redujo significativa ( $p < 0.001$ ) y modestamente el MDA (22.4%). Los efectos del D-003 a 25 mg/kg. fueron mayores ( $p < 0.001$ ) que los del extracto de Uva, pero a 250 mg/kg fueron similares. El D-003 y el extracto de Uva a 25 y 250 mg/kg. decrecieron significativamente ( $p < 0.001$ ) las concentraciones de peróxidos en plasma. Con la dosis más alta del extracto de Uva, las reducciones (62.1%) fueron mayores que con el D-003 (49.1). En el hígado, el D-003 (25 mg/kg.) redujo significativamente ( $p < 0.0001$ ), pero modestamente, las concentraciones de MDA generadas con los sistemas enzimático (28.4 %) y no-enzimático (55.8 %), efectos que incrementaron notablemente con 250 mg/kg., disminuyendo significativamente ( $p < 0.0001$ ) y marcadamente los niveles de MDA por 77.4% (sistema enzimático) y 79.1% (sistema no-enzimático). Con la dosis de 25 mg/kg., el extracto de uva redujo ( $p < 0.0001$ ) modestamente (15.0 %) las concentraciones de MDA generado con el sistema enzimático solo, mientras con 250 mg/kg. decreció significativa ( $p < 0.0001$ ) y marcadamente las concentraciones de MDA generadas con los sistemas enzimático (89.4%) y no-enzimático (91.2%), mas que con el D-003 ( $p < 0.01$ ). El D-003 y el extracto de Uva no cambiaron significativamente la actividad de GPX, CAT and GSHR comparado con los controles. En conclusión, el D-003 y el extracto de Uva administrados oralmente a ratas durante 4 semanas inhibieron la PL en plasma y en hígado. Con la dosis más alta, los efectos de ambos tratamientos sobre el MDA plasmático fueron modestos y similares, mientras los efectos sobre peróxidos totales fueron moderados, y mayores con el extracto de Uva. Los efectos de los dos tratamientos sobre PL en hígado inducida por ambos sistemas fueron significativos y marcados, el D-003 fue más efectivo con 25 mg/kg., y el extracto de uva con la dosis más alta, aunque las diferencias entre ambos tratamientos fueron modestas. No se observó ningún efecto sobre las enzimas antioxidantes.

---