

ФАРМАКОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СУММЫ ТРИТЕРПЕНОВЫХ КИСЛОТ ОБЛЕПИХИ (*Hippophaë rhamnoides* L.) И КЛЮКВЫ (*Vaccinium oxycoccos* L.) НА ЛИПОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Н. О. Горбатюк, М. В. Черников, А. Ю. Терехов, С. Ю. Маширова¹

Одним из ключевых этапов при разработке новых лекарственных средств являются фармакодинамические исследования, позволяющие оценить основные механизмы специфической фармакологической активности препаратов. Установлено, что после введения гепарина в крови происходит закономерный скачок уровня свободных жирных кислот и отмечается рост активности липазы крови. На фоне курсового применения суммы тритерпеновых кислот облепихи, суммы тритерпеновых кислот клюквы и препарата сравнения (фенофибрат) отмечен рост постгепариновой липолитической активности сыворотки крови крыс по сравнению со значениями контрольной группы животных в среднем на 68 % ($p = 0,001$), 24 % ($p = 0,003$) и 23 % ($p = 0,033$), соответственно. Более выраженное увеличение наблюдали в группе животных, получавших тритерпеноиды облепихи, т.к. прирост активности липазы крови и концентрации свободных жирных кислот после введения гепарина был выше значений данных показателей в группе животных, получавших препарат сравнения, на 36 % ($p = 0,014$) и 28 % ($p = 0,08$) соответственно, и животных, получавших сумму тритерпеновых кислот клюквы на 35 % ($p = 0,013$) и 25 % ($p = 0,111$) соответственно.

Ключевые слова: клюква; облепиха; сумма тритерпеновых кислот; урсоловая кислота; олеаноловая кислота; фенофибрат; липопротеинлипаза; постгепариновая липолитическая активность; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из ключевых этапов при разработке новых лекарственных средств являются фармакодинамические исследования, позволяющие оценить основные механизмы специфической фармакологической активности препаратов. После подтверждения гиполлипидемической активности суммы тритерпеновых кислот облепихи и клюквы на экспериментальных моделях твиновой и алиментарной гиперлипидемии [2, 5] нами была проведена оценка влияния исследуемых соединений на всасывание, метаболизм, экскрецию холестерина, влияние на интенсивность процессов перекисного окисления и местной воспалительной реакции в условиях острого и хронического воспаления [3, 4]. Установлено, что введение суммы тритерпеновых кислот способствует ускорению экскреции холестерина с желчью и его трансформации в желчные кислоты, курсовое введение тритерпеноидов здоровым животным и животным на фоне экспериментальной гиперлипидемии сопровождается уменьшением концентрации в крови продуктов перекисного окисления липидов, на модели острого воспаления (карагениновый отек) и хронического воспаления (адьювантный артрит) у тритерпеноидов выявлена противовоспалительная активность. Суммы тритерпеноидов облепихи и клюквы не оказали влияние на всасывание холестерина в кишечнике лабораторных животных.

Целью данной работы явилось изучение еще одной возможной точки приложения действия веществ с гиполлипидемической активностью — влияние на липолитическую активность в сыворотке крови при курсовом введении суммы тритерпеновых кислот облепихи и клюквы.

Целью данной работы явилось изучение еще одной возможной точки приложения действия веществ с гиполлипидемической активностью — влияние на липолитическую активность в сыворотке крови при курсовом введении суммы тритерпеновых кислот облепихи и клюквы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сумма тритерпеновых кислот облепихи (ТО) и сумма тритерпеновых кислот клюквы (ТК) (представлены ООО “СиНаМ”) — аморфные порошки от белого до желто-кремового цвета. Содержание суммы урсоловой и олеаноловой кислот в образцах ТО и ТК не менее 75 %. Для определения количественного содержания суммы урсоловой и олеаноловой кислот использовали спектрофотометрический метод анализа.

Исследования выполнены на 32 крысах-самцах линии Вистар массой 230 – 250 г (ФГУП “Питомник ла-

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал государственного бюджетного общеобразовательного учреждения высшего профессионального образования “Волгоградский государственный медицинский университет” Министерства здравоохранения России, Россия, 357532, Ставропольский край, Пятигорск, проспект Калинина, 11.

бораторных животных “Рапполово” РАМН”). Животные содержались на стандартном пищевом рационе со свободным доступом к корму (Полнорационный комбикорм рецепт ПК-120 для содержания лабораторных животных, ГОСТ Р 50258 – 92, производитель ООО “Лабораторкорм”) и воде. План исследования рассмотрен и утвержден независимым этическим комитетом Пятигорского медико-фармацевтического института (протокол № 12 от 20.01.2015 г.). Исследования проводились с соблюдением международных принципов “Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985), а также в соответствии с Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р-53434 – 2009 “Принципы надлежащей лабораторной практики”, приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н “Об утверждении Правил лабораторной практики”, руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [1].

После 14-дневного карантина животных распределяли по группам по 8 в каждой. ТО и ТК вводили перорально 1 раз в сутки в виде водной суспензии (стабилизатор твин-80) в дозе 100 мг/кг в течение 30 сут. Контрольной группе животных вводили растворитель (воду очищенную и стабилизатор) в эквивалентном объеме. В качестве референтного средства использовали фенофибрат (трайкор, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, Лаборатория Фурнье С. А., Франция) — гиполипидемический препарат, действие которого основано также и на активации липопротеинлипазы, в дозе 12,5 мг/кг по схеме введения, сходной с ТО и ТК. Через 1 ч после последнего введения исследуемых соединений у животных осуществляли предварительный забор крови из подъязычной вены и в хвостовую вену вводили гепарин (Федеральное государственное унитарное предприятие “Московский эндокринный за-

вод”, Россия) в дозе 500 ЕД/кг [1]. Через 10 мин осуществляли умерщвление животных декапитацией и забор крови путем свободного истечения. В сыворотке крови определяли активность липазы и содержание свободных жирных кислот (СЖК) на автоматическом биохимическом анализаторе BS-380 (Mindray) с использованием стандартных наборов реактивов фирмы DiaSys (Германия).

Статистическую обработку проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента и *U*-критерия Манна – Уитни с предварительным анализом выборки на нормальность распределения. Определяли среднее значение выборок (*M*) и стандартное отклонение (*SD*). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки постгепариновой липолитической активности крови проводили определение степени прироста концентрации свободных жирных кислот (СЖК) и общей активности липазы в сыворотке крови после введения гепарина. Как видно из данных, представленных в таблице, после 30-дневного применения исследуемых веществ и препарата сравнения исходный уровень СЖК и активности липазы достоверно не отличался во всех опытных группах. Определение уровня СЖК в сыворотке крови животных контрольной группы после введения гепарина показало достоверный по отношению к исходному значению двукратный рост концентрации. В группе экспериментальных животных отмечали более выраженный подъем уровня СЖК, превосходящий данный показатель контрольной группы после введения фенофибрата, ТК и ТО на 46 % ($p = 0,012$), 50 % ($p = 0,009$) и 87 % ($p = 0,001$) соответственно. Данные изменения коррелировали с приростом активности липазы в крови экспериментальных

Влияние 30-дневного перорального введения суммы тритерпеновых кислот облепихи и клюквы в дозе 100 мг/кг на липолитическую активность крови крыс (*M* ± *SD*)

Группа	Свободные жирные кислоты, мг/дл			Липаза, ЕД/л		
	до	после	Δ	до	после	Δ
Контроль, <i>n</i> = 8	0,63 ± 0,11	1,19 ± 0,14	0,56 ± 0,17	14,17 ± 1,61	18,18 ± 1,59	4,02 ± 0,41
ТК, 100 мг/кг, <i>n</i> = 8	0,62 ± 0,13	1,45 ± 0,16*	0,84 ± 0,19* +50 %	13,50 ± 1,87	18,49 ± 1,79	4,99 ± 0,60 *+24 %
ТО, 100 мг/кг, <i>n</i> = 8	0,64 ± 0,13	1,69 ± 0,37*	1,05 ± 0,28 *+88 % ♦+25 % ▼+28 %	14,83 ± 3,19	21,57 ± 4,35	6,74 ± 1,48 *+68 % ♦+35 % ▼+36 %
Фенофибрат, 12,5 мг/кг, <i>n</i> = 8	0,63 ± 0,13	1,45 ± 0,13*	0,82 ± 0,19 *+46 %	14,46 ± 1,85	19,40 ± 2,06	4,94 ± 0,96 *+23 %

* Достоверная разница по отношению к контролю, $p \leq 0,05$;

♦ достоверная разница по отношению к группе животных, получавших ТК, $p \leq 0,05$;

▼ достоверная разница по отношению к группе животных, получавших фенофибрат, $p \leq 0,05$;

Δ — разница между значениями показателя после введения гепарина и до введения гепарина;

n — количество животных в группе;

содержание СЖК и активность липазы после введения гепарина достоверно отличаются от исходных значений во всех случаях.

животных, которые составили по отношению к приросту в контрольной группе 23 % ($p = 0,033$) после курсового введения фенофибрата, 24 % ($p = 0,003$) после введения ТК и 68 % ($p = 0,001$) после введения ТО.

В метаболизме и регуляции перераспределения экзогенных и эндогенных липидов огромная роль принадлежит липазам крови. Липопротеидлипаза или внепеченочная липаза обнаруживается, главным образом, в жировой ткани и скелетных мышцах, где она связана с глюкозаминогликанами, локализованными на люминальной поверхности капиллярного эндотелия. Фермент практически отсутствует в крови, однако после инъекции гепарина связь перестает удерживать липопротеидлипазу, и она поступает в кровяное русло, где взаимодействует с хиломикронами и ЛПОНП, гидролизует триглицериды до составляющих. После введения гепарина в крови происходит закономерный скачок уровня СЖК и отмечается рост активности липазы крови. На фоне курсового применения суммы тритерпеновых кислот облепихи и клюквы и препарата сравнения отмечен рост постгепариновой липолитической активности плазмы по сравнению со значениями контрольной группы животных в среднем на 68 % ($p = 0,001$), 24 % ($p = 0,003$) и 23% ($p = 0,033$), соответственно, причем более выраженный в группе животных, получавших сумму тритерпеновых кислот облепихи, т.к. прирост активности липазы крови и концентрации свободных жирных кислот после введения гепарина был выше значений данных показателей в группе животных, получавших препарат сравнения, на

36 % ($p = 0,014$) и 28 % ($p = 0,08$) соответственно, и животных, получавших сумму тритерпеновых кислот клюквы на 35 % ($p = 0,013$) и 25 % ($p = 0,111$) соответственно.

ВЫВОД

Сумма тритерпеновых кислот облепихи (100 мг/кг), сумма тритерпеновых кислот клюквы (100 мг/кг) и фенофибрат (12,5 мг/кг) после 30-дневного перорального введения потенцируют в сыворотке крови постгепариновую липолитическую активность, вызывая ее прирост, по сравнению с контролем на 68 % ($p = 0,001$), 24 % ($p = 0,003$) и 23 % ($p = 0,033$) соответственно.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Н. Миронов, Н. Д. Бунатян, *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Часть первая, М.: Гриф и К, Москва (2012).
2. Е. О. Сергеева, А. Ю. Терехов, Л. А. Саджая и др., *Фармация*, № 1, 11 – 13 (2010).
3. Е. О. Сергеева, Л. Е. Назарова, Л. А. Саджая и др., *Университетская наука: взгляд в будущее. Материалы итоговой научной конференции сотрудников КГМУ, Ц.-Ч. науч. центра РАМН и отделения РАЕН 2–3 февраля 2011 года*, Курск (2011), т. 2, сс. 276 – 278.
4. М. В. Черников, А. Ю. Терехов, Н. О. Горбатюк, *Образование. Наука. Научные кадры*, № 2, 382 – 385 (2014).
5. Н. О. Горбатюк, Л. Е. Назарова, Е. О. Сергеева и др., *Мед. вестник Башкортостана*, № 4, 108 – 110 (2011).

Поступила 17.08.15

STUDYING THE INFLUENCE OF THE SUM OF TRITERPENE ACIDS FROM SEA BUCKTHORN (*HIPPOPHAE RHAMNOIDES* L.) AND CRANBERRY (*VACCINIUM OXYCOCCOS* L.) ON THE LIPOLYTIC ACTIVITY OF BLOOD SERUM IN LABORATORY ANIMALS

N. O. Gorbatyuk, M. V. Chernikov, A. Yu. Terekhov, and S. Yu. Mashirova

Pyatigorsk Medico-Pharmaceutical Institute, Branch of the Volgograd State Medical University, prosp. Kalinina 11, Pyatigorsk, Stavropol Krai, 357532 Russia

One of key stages in the development of new medicines is the study of their pharmacodynamics for assessing the mechanisms underlying specific pharmacological activity of a particular drug. It was found that, after the introduction of heparin in the blood, there is a natural spike in the level of free fatty acids and an increase in the activity of lipase in the blood serum. On the background of a course application of the sum of triterpene acids from the fruits of sea buckthorn, those from cranberry, and a reference drug (fenofibrate), we have observed a significant increase in post-heparin lipolytic activity as compared to values in the control group of animals, on the average by 68% ($p = 0.001$), 24% ($p = 0.003$), and 23% ($p = 0.033$), respectively. A more pronounced increase was observed in the group of animals treated with triterpenoids from sea buckthorn, for which the lipase activity in the blood and the concentration of free fatty acids were significantly higher than the corresponding values in the group treated with the reference drug, by 36% ($p = 0.014$) and 28% ($p = 0.08$), respectively, and in animals treated with the sum of triterpene acids from cranberry, by 35 % ($p = 0.013$) and 25% ($p = 0.111$), respectively.

Keywords: cranberry; sea buckthorn; sum of triterpene acids; ursolic acid; oleanolic acid; fenofibrate; lipoprotein lipase; post-heparin lipolytic activity; rats.