

МУХАММЕД АРИЖ АБДЕЛЬКАРИМОВНА

Исследование гипополипидемических свойств веществ природного происхождения на основе чеснока, растительных масел и пищевых волокон  
(экспериментальное исследование)

**14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук**

**ВОЛГОГРАД - 2014**

Работа выполнена на кафедре фармакологии фармацевтического факультета и на базе лаборатории биологически-активных соединений НИИ Фармации Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России.

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, доцент,  
**Максимов Максим Леонидович**

**Официальные оппоненты:** доктор медицинских наук, доцент,  
Центр экспертизы безопасности  
лекарственных средств ФГБУ  
«Научный центр экспертизы средств  
медицинского применения» МЗ РФ,  
директор,  
**Романов Борис Константинович**

доктор фармацевтических наук,  
доцент, кафедра фармацевтической  
химии, фармакогнозии и организации  
фармацевтического дела факультета  
фундаментальной медицины  
ФГБУ ВПО «Московский  
государственный университет имени  
М.В.Ломоносова»,  
заведующая кафедрой,  
**Каленикова Елена Игоревна**

**Ведущая организация:** Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВИЛАР РАСХН).

**Защита диссертации состоится** « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2014 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании Диссертационного Совета при ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, Россия, г.Волгоград, пл.Павших борцов,1).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке и на сайте ([www.volgmed.ru](http://www.volgmed.ru)) ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2014 г.

Ученый секретарь  
Диссертационного совета,  
доктор биологических наук

**Бугаева Любовь Ивановна**

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность темы**

На протяжении нескольких последних десятилетий заболевания сердечно-сосудистой системы (ССС) занимают лидирующее место в структуре смертности населения в странах Запада и в Российской Федерации (Шальнова С.А., Оганов Р.Г. и соавт., 2004). В настоящее время происходит существенное «омоложение» этих показателей среди населения трудоспособного возраста (Гальцев Ю.И., 2013). Ведущее место среди причин развития ССЗ занимает атеросклероз (АС) - одно из наиболее распространенных и социально значимых заболеваний в мире (Оганов Р.Г., 1994; Собенин И.А., Сазонова М.А. и соавт., 2011; Kunying Zhang, Fang Yin et.al., 2014).

Традиционной стратегией при первичной профилактике заболеваний, ассоциированных с атеросклерозом, является воздействие на его факторы риска (Assmann G. et al., 2002). Медикаментозная тактика борьбы с одним из ключевых звеньев атерогенеза - дислипидемией (ДЛП) - представлена средствами синтетического происхождения: статины, фибраты, никотиновая кислота, секвестранты желчных кислот (Karourchali F.R. et al., 2014). Однако, ряд побочных эффектов и противопоказаний ограничивают их широкое клиническое применение (McKenney J.M., 2000; Петров В.И. и соавт., 2012; Alsheikh-Ali A.A. et al., 2007; Toth P.P. et al., 2008).

С каждым годом увеличивается количество исследований, направленных на поиск альтернативных гиполипидемических средств. Среди них ведущее место занимают препараты природного происхождения. В ряде клинических и экспериментальных работ показано антигиперлипидемическое действие чеснока (Yeh Yu-Yan, Yeh Shaw-Mei., 2006). Доказано положительное влияние на липидный обмен растительных масел (Рыженков В.Е., 2002; Visioli F. et al., 2002, Офицеров Е.И., 2001, Орехов А.Н. и соавт., 1996). Представлены данные о липид-корректирующем действии пищевых волокон (ПВ) (Хотимченко М.Ю., 2011).

В последние годы значительно повысился интерес к комплексным препаратам природного происхождения, воздействующим на различные звенья патогенетического процесса (Бадалов Н. Г. и соавт., 2013).

Таким образом, создание поликомпонентного биологически активного вещества, обладающего гиполипидемическими свойствами, представляется актуальным не только для потенциального использования при легких формах нарушения липидного обмена, но и в сочетании со статинами и другими медикаментозными препаратами гиполипидемической направленности, с целью снижения дозы последних, а соответственно и их побочных эффектов.

## **Степень разработанности проблемы**

История изучения гипополидемических свойств природных веществ насчитывает ни одно десятилетие. Не угасает интерес исследователей к поиску, разработке и применению новых гипополидемических препаратов, обладающих высоким профилем безопасности (Kim S.H., Park K.S., 2003; Sapronov N.S. и соавт., 2006; Василенко Ю. К., 2013).

К биологически активным веществам с наиболее изученным механизмом коррекции липидного профиля относят чеснок, растительные масла, пищевые волокна (Лякишев А.А., 2002; Gerhardt R., 1993).

Изучение раздельного действия природных компонентов на липидный обмен ограничивает потенциальную их синергическую активность. Так, применение натуральных поликомпонентных составов позволяет усилить известные полезные свойства каждого из ингредиентов, воздействуя на различные этапы атерогенеза (Асеева Т.А., Блинова К.Ф., Яковлев Р.П., 1989). Между тем, экспериментальных работ, направленных на создание новых гипополидемических натуральных комплексов, недостаточно, а имеющиеся освещают лишь часть проблемы и не всегда имеют клиническую значимость. Данная работа была направлена на восполнение недостающей информации.

### **Цель исследования.**

Провести сравнительное исследование (по отдельности и в сочетании) гипополидемических свойств веществ природного происхождения на примере чеснока, амарантового, льняного, и оливкового масел, а также хитозана, альгинатов и пектина.

### **Задачи исследования.**

1. Провести сравнительный анализ гипополидемических свойств чеснока, масел (оливкового, льняного и амарантового) и пищевых волокон (хитозана, альгинатов и пектина), влияющих на показатели липидного спектра крови при экспериментальных моделях гиперлипидемии у крыс с целью выявления наиболее перспективных сочетаний;

2. Провести сравнительный анализ гипополидемических свойств одного из наиболее эффективных сочетаний изучаемых веществ (чеснока, масел оливкового, льняного, амарантового, а также пищевых волокон хитозана, альгинатов и пектина) с целью проведения дальнейших клинических испытаний и разработки лекарственного препарата;

3. Изучить безопасность нового сочетания исследуемых веществ на основе чеснока, масел и пищевых волокон с целью аргументации возможности назначения для длительного использования;

4. Изучить антиоксидантную активность наиболее эффективной комбинации чеснока, масел и пищевых волокон на моделях экспериментально индуцированной гиперлипидемии у крыс, с целью доказать антиоксидантный

механизм действия комбинации;

5. Провести сравнительное изучение эмульгирующих свойств чеснока в исследуемых растительных маслах (оливковом, льняном и амарантовом) с целью выявления основанного на данных свойствах гиполипидемического механизма действия чеснока;

6. Сравнить адсорбирующие возможности исследуемых пищевых волокон (хитозана, альгинатов и пектина) для изучения основанного на данных свойствах механизма гиполипидемического действия указанных веществ.

#### **Новизна исследования.**

Впервые, в рамках одного исследования, на двух моделях экспериментальной гиперлипидемии, проведено сравнение гиполипидемических свойств чеснока, амарантового, льняного и оливкового масел, а также хитозана, пектина и альгината. В рамках одного исследования, проведено сравнительное изучение гиполипидемической активности названных веществ с активностью известных препаратов на основе чеснока «Алисат» и ПНЖК «Омегатрин». Проведено сравнение гиполипидемических свойств сочетаний порошок чеснока/растительное масло (оливковое, амарантовое или льняное), а также сочетаний пищевые волокна (хитозан, пектин и альгинат)/растительное масло (оливковое, амарантовое или льняное). В рамках одного исследования, проведено сравнительное изучение гиполипидемической активности упомянутых сочетаний с активностью препаратов «Алисат» и «Омегатрин». Получено и экспериментально обосновано сочетание природных веществ на основе порошка чеснока, амарантового масла и хитозана в гиполипидемическом поликомпонентном комплексе. Проведено сравнительное изучение гиполипидемической активности нового сочетания с активностью препаратов «Алисат», «Омегатрин» и «Флувастатин».

Впервые обоснованы антиоксидантные свойства поликомпонентного сочетания веществ на основе порошка чеснока, амарантового масла и хитозана.

Впервые доказана эффективность и безопасность нового сочетания. В эксперименте установлено, что гиполипидемическая эффективность нового комплекса превышает гиполипидемическую эффективность отдельных его компонентов. Это свидетельствует о наличии синергизма, который способствует взаимному усилению действия лекарственных средств и повышению эффективности основного фармакологического действия комплекса. Выявленные особенности дали научное обоснование целесообразности проведения дальнейших исследований нового сочетания, в том числе, позволили его рекомендовать для дальнейших клинических испытаний с целью включения в программу профилактики и терапии дислипидемии и АС.

Эмульгирующие свойства, впервые выявленные у чесночного порошка, позволяют рассматривать основанный на данных свойствах

гиполипидемический механизм его действия. Впервые, в рамках одного исследования, сравнены сорбционные свойства таких пищевых волокон, как хитозан, альгинат и пектин.

#### **Научно-практическая ценность работы.**

Проведенное исследование позволило получить поликомпонентный комплекс веществ природного происхождения на основе чеснока, амарантового масла и хитозана, характеризующийся гиполипидемической активностью. Гиполипидемическая эффективность и безопасность полученного комплекса позволяет рассматривать возможность его дальнейшего использования при лёгких формах дислипидемий и в качестве дополнения к стандартной медикаментозной терапии гиперлипидемий, с целью снижения разовой дозы синтетического средства и уменьшения связанных с его применением побочных эффектов.

#### **Реализация результатов.**

Результаты, полученные при исследовании гиполипидемических свойств чеснока, масел амарантового, оливкового и льняного, волокон хитозана, альгината и пектина, а также их различных сочетаний в полученном комплексе, используются в учебном процессе: в лекционном курсе и на практических занятиях по темам «Лекарственные средства, влияющие на сердечно-сосудистую систему», «Гиполипидемические средства», в научно-исследовательской работе кафедры фармакологии фармацевтического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (акт внедрения от 03.07.2014 г), а также при разработке методических рекомендаций, учебных пособий, курсов лекций и практикумов для студентов кафедры фармакогнозии фармацевтического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (акт внедрения от 07.07.2014 г).

#### **Методология и методы исследования.**

В соответствии с поставленными задачами использованы современные информативные подходы. Объектами исследования являлись 328 особей белых беспородных крыс-самцов. Изучение гиполипидемических свойств природных веществ проводилось согласно методическим рекомендациям по доклиническому изучению лекарственных средств (А.Н. Миронов, 2012) с использованием соответствующих методов статистической обработки данных.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Чеснок, амарантовое, льняное и оливковое масло, а также волокна хитозана, альгината и пектина обладают различной гиполипидемической активностью относительно отдельных показателей липидного спектра крови: порошок чеснока статистически значимо лучше снижает ТГ, хитозан статистически значимо лучше снижает ОХС, а амарантовое масло статистически значимо лучше снижает ЛПНП и повышает ЛПВП.

2. Комплекс веществ (порошок чеснока/амарантовое масло/хитозан) обладает гиполипидемическими свойствами.

3. Комплекс веществ (порошок чеснока/амарантовое масло/хитозан) относится к малотоксичным веществам IV класса.

4. Комплекс веществ (порошок чеснока/амарантовое масло/хитозан) обладает антиоксидантными свойствами.

5. Чеснок обладает выраженными эмульгирующими свойствами.

6. Сорбционная ёмкость хитозана и пектина превышает таковую у альгината.

#### **Личный вклад.**

При непосредственном участии автора разработаны цель и задачи работы. Автором проведен анализ литературных данных по теме диссертации. При участии автора был проведен подбор методов, разработаны протоколы экспериментов, дизайн исследования. Выполнена экспериментальная часть работы по сравнительной оценке гиполипидемической активности изучаемых средств и их сочетаний, эмульгирующих свойств чеснока в маслах и адсорбирующих свойств пищевых волокон, а также изучению токсического и антиоксидантного действия гиполипидемического состава (порошок чеснока/амарантовое масло/ хитозан). Автор лично участвовала в анализе полученных данных, их статистической обработке и интерпретации. При личном участии автора были сформулированы задачи, выводы и практические рекомендации, подготовлены публикации по результатам работы.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности.**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология. Результаты проведенных исследований соответствуют пунктам 1, 3 и 5 паспорта специальности.

#### **Степень достоверности и апробация результатов.**

Высокий уровень достоверности результатов работы подтверждается достаточным объемом экспериментальных данных, использованием высокотехнологичного оборудования, адекватных современных методов и критериев статистической обработки данных. Основные положения и результаты диссертационной работы представлены и доложены на VI и V-й международной научно-практической конференции «Современные проблемы гуманитарных и естественных наук» (26-27 марта 2013 г. и 25-26 июня 2013 г., Москва), на Международной научной интернет-конференции «Медицина в XXI веке: тенденции и перспективы» (19-20 апреля 2013 г., Казань), на II-ом Молодежном международном форуме медицинских наук «MedWAYS» (26-27 ноября 2013 г., Москва), на XV-ом Международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI Веке» ( 27-30 ноября 2013 г., Москва), на расширенном

заседании кафедры фармакологии фарм. факультета ПМГМУ им. И.М. Сеченова (06 декабря 2013 г., Москва ), на XII Международной научно-практической конференции «Прогрессивные процессы мирового научного знания в XXI веке» (31 мая 2014 г., Казань), а также на Международной научно-практической конференции «Современная медицина: актуальные вопросы и перспективы развития» (01 сентября 2014 г., Уфа). По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, 6 из них в российских рецензируемых научных журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК для публикаций результатов диссертаций.

#### **Объем и структура диссертации.**

Диссертация изложена на 164 страницах машинописного текста, содержит 12 таблиц и 21 графических рисунков. Состоит из введения, обзора литературы, глав описания материалов и методов, собственных результатов, обсуждения полученных результатов, выводов и научно-практических рекомендаций, дополнена приложением из 4 таблиц. Библиографический указатель содержит 102 отечественных и 213 зарубежных источника.

#### **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**В первой главе (литературный обзор)** приведены данные отечественных и зарубежных источников, в которых освещены проблемы нарушения липидного обмена (дислипидемии), атеросклероза, механизмы их регуляции при помощи липид-корректирующей терапии и перспективы применения веществ природного происхождения в данном направлении. В главе отмечена роль различных теорий патогенеза атеросклероза, приведены современные принципы профилактики и лечения этого заболевания, включая традиционную, лекарственную терапию. Рассмотрены основные побочные эффекты, связанные с лекарственной терапией. В обзоре освещены гиполипидемические свойства веществ природного происхождения: подробно изложены потенциальные гиполипидемические свойства чеснока, масел с высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот (амарантового, льняного и оливкового), а также пищевых волокон на примере пектина, альгината и хитозана. На примере исследований последних лет, приведены современные подходы терапии нарушений липидного обмена при помощи названных веществ и потенциальные механизмы их действия.

**Во второй главе диссертации представлены материалы и методы исследования.** Эксперименты проведены на 328 особях белых беспородных крыс-самцов массой 250-300 г на базе Центрального вивария и лаборатории БАС НИИ Фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова\*.

\*Выражаем искреннюю благодарность зав. центр. Вивария ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова А.В. Лузину, зав. лабораторией биологически-активных соединений НИИ Фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова, к.ф.н., доц. Л.А. Павловой, и всем сотрудникам лаборатории за предоставленные приборы и вещества.

Крысы получены из питомника лабораторных животных «Столбовая» РАН (Москов. область). Животные содержались в стандартных условиях вивария с соблюдением всех пунктов «Приказа МЗ РФ № 750», рекомендаций ВОЗ по экспериментальной работе с использованием животных (Г.П.Червонская и соав., 1998; Р.Е.Колпадзе, 1998) и международных рекомендаций (Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123). — Страсбург, 1986).

В соответствии с задачами исследования использовались две модели индуцированной гиперлипидемии: витаминная и твиновая.

Для создания витаминной модели животным на протяжении пяти суток перорально через зонд вводили ХС (Panreac®) в дозе 40 мг/кг, и эргокальциферол в дозе 350000 ЕД/кг в подсолнечном масле (Белай И.М., Остапенко А.А., 2011; Yousufzai S.Y.K.M., 1976). Твиновая модель гиперлипидемии создавалась с помощью однократного введения на пятые сутки детергента – твин-80 в дозе 200 мг/кг, внутривентриально (Васканын В.Л., 1983). Созданные модели экспериментальной гиперлипидемии у животных использовались для изучения гиполлипидемических и антиоксидантных свойств следующих веществ:

- Порошок чеснока (ПЧ) сублимационной высушки (ООО “КиТ” – г. Бийск), с массовой долей аллицина 2,4 %, аттестат аккредитации № РОСС. RU. 0001.21ПФ21;
- Амарантовое масло (АМ) холодного отжима (“Витэко”), содержание сквалена не менее 8 %, содержание ПНЖК не менее 50 %;
- Льняное масло (ЛМ) (“Славянка Арина”), содержание ПНЖК не менее 55 %, ТУ 9141-001-45437467-99;
- Оливковое масло (ОМ) нерафинированное (“Каждый день”), содержание ПНЖК 8 %, содержание мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) 80 %, содержание НЖК 12 %, продукт соответствует требованиям федерального закона №90-ФЗ;
- Хитозан пищевой (ЗАО “Биопрогресс”, г. Щёлково), ТУ 9289-067-00472124-03;
- Альгинат натрия - 1000 (Е-401, Китай )
- Яблочный пектин АРА-105 высокой степени этерификации для кондитерских изделий (Россия), степень этерификации: < 60 %. Продукт соответствует всем критериям, указанным ЕУ, FAO/WHO и FDA/FCC.

Изучение гиполлипидемических свойств исследуемых природных веществ состояло из нескольких этапов. На первом этапе оценку липидного профиля крыс производили после отдельного применения вышеуказанных веществ природного происхождения (14 опытных групп, n= 84). Животным с ГЛП в лечебно-профилактическом режиме один раз в сутки перорально вводили один

из изучаемых компонентов (300 мг/кг порошка чеснока/ 5 мл/кг масла оливкового/амарантового/ льняного, 300 мг/кг пектина/ альгината / хитозана). Длительность эксперимента составляла 5 дней.

На втором этапе изучался липидный профиль крыс при попарном применении веществ природного происхождения (24 опытные группы (n=144), 4 группы сравнения (n=24) ). Изучаемые компоненты вводили крысам с ГЛП попарно в указанных выше дозировках на протяжении 5-ти дней.

В задачи третьего этапа входило определение гипополипидемических свойств полученного нами поликомпонентного препарата на основе чеснока/амаранта/хитозана (300 мг/кг/ 5 мл/кг/ 300 мг/кг), (2 опытные группы (n=12), 6 групп сравнения (n=36)).

В качестве препаратов сравнения на втором и третьем этапах применялись порошок чеснока (биологически активная добавка к пище "АЛИСАТ", товарный знак "FATE CONTROL" ТУ 9164-001-51067075-07) в дозе 8,33 мг на крысу, желатиновые капсулы ПНЖК (биологически активная добавка к пище "Омегатрин" ,ТУ 9197-062-75234508-07) в дозе 16,4 мг на крысу и препарат статинового ряда - Флувастатин в дозе 0,5 мг на крысу на третьем этапе. Эквивалентные дозы для животных рассчитывались по формуле, предложенной Т.А. Гуськовой (Гуськова Т.А., 2010).

Группа контроля была представлена двенадцатью мышами с индуцированной гиперлипидемией (витаминная модель (n=6), твиновая (n=6)).

Интактную группу составили 6 здоровых крыс, находящихся в стандартных условиях вивария (животным вводили воду и комбикорм).

Антиоксидантное действие полученного поликомпонентного препарата изучалось на двух опытных группах (n=12), в качестве группы сравнения использовались двенадцать мышей, получавших препарат Пробукол (1,2 мг на крысу). На данном этапе сравнивали показатели с интактной (n=6) и контрольными группами (n=12).

Определение острой токсичности полученного нами поликомпонентного препарата проводилось на пятнадцати крысах, которым однократно в различных дозировках вводили компоненты изучаемого препарата, группа контроля была представлена пятью мышами. Наблюдение длилось 14 дней, в течение которых оценивались витальные и поведенческие показатели, сравниваемые с данными пяти интактных крыс (Р.У. Хабриев, 2005).

Выбор оптимальной терапевтической разовой дозы чеснока, масел и изучаемых волокон основывался на дозировках, используемых в ряде аналогичных экспериментальных работ (Hassan H.A. 2012; Orekhov A.N. et al., 1995; Коренская И.М. и соавт., 2006; R.C. Kraska, 2012).

На шестые сутки животных обеих моделей ГЛП на первом, втором и третьем этапах выводили из эксперимента под эфирным наркозом.

Осуществлялся забор крови из подвздошной артерии, материал замораживался до дня проведения биохимического анализа (Копаладзе Р.Е., 1998). Исследовались следующие показатели липидного профиля: ОХС, ТГ, ЛПНП, ЛПВП, КА. Для оценки антиоксидантных свойств поликомпонентного препарата измеряли уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме. Изучение биохимических показателей липидного спектра крови, а также продуктов перекисного окисления липидов сыворотки проводилось в Лаборатории иммунологии и регуляторных механизмов в хирургии ГУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского РАН\*\*.

**Определение общего холестерина (ОХС)** проводилось ферментативным методом спектрофотометрически (спектрофотометр/ UV-1902) (Allain C.S., Roop L.S. et al., 1974; Meiattini F., et al., 1978). Кровь животных собирали самотёком в пробирки эппендорфа с добавлением раствора гепарина (в качестве антикоагулянта) из расчёта 25 ед./мл и центрифугировали при 3000 об/мин (центрифуга лабораторная Sigma 1-14, Германия) в течение 15-ти мин. для получения плазмы (Вечканов Е.М., Сорокина И.А. и др. 2012). Измеряли абсорбцию (А) в кювете с толщиной слоя 1 см для Стандарта и Образца при 500 нм в сравнении с холостой пробой. Концентрацию ХС в образце рассчитывали по формуле:  $C \text{ образца} = C \text{ стандарта} \times A \text{ образца} / A \text{ стандарта}$

**Определение триглицеридов (ТГ)** проводилось подобно ОХС, в результате сопряженных реакций и образования цветного комплекса, который может быть измерен спектрофотометрически (Vucolo G., David H., 1973; Fossati P., Prencipe L., 1982). Концентрация ТГ в образце была высчитана по формуле:  $C \text{ образца} = C \text{ стандарта} \times A \text{ образца} / A \text{ стандарта}$

**Определение холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП)** проводилось спектрофотометрически ферментативным методом (Burstein M. et al., 1980; Grove T.H., 1979). Использовался следующий метод расчета:

$C \text{ образца (супернатанта)} = 52,5 \text{ мг/дл ХС ЛПВП} \times A \text{ образца} / A \text{ стандарта}$

**Определение холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП)** проводилось по формуле Friedewald (Friedewald W.T., 1972) методом вычисления из общей концентрации холестерина холестерина ЛПВП и триглицеридов (ТГ):

$ХС \text{ (ЛПНП)} = ОХ - ХС \text{ (ЛПВП)} - ТГ/5 \text{ [мг/дл.]}$

**Определение коэффициента атерогенности (КА)** проводилось по следующей формуле:  $КА = (\text{общий ХС} - \text{ЛПВП}) / \text{ЛПВП}$

\*\*Выражаем искреннюю благодарность руководителю лаборатории иммунологии и регуляторных механизмов в хирургии ГУ РНЦХ имени акад. Б.В. Петровского РАН, д.м.н., проф. Л.И. Винницкому, и всем сотрудникам лаборатории за помощь в получении биохимических показателей.

### **Определение токсичности поликомпонентного природного средства (чеснок/ амарантовое масло/ хитозан):**

Определение острой токсичности, как одного из показателей доклинического изучения нового комплексного средства, разрабатываемого из природного сырья, проводилось на двадцати белых беспородных крысах-самцах массой 250-300г (Басченко Н.Ж., 2006).

Животные были разделены на 4 группы (3 опытные и 1 контрольная), по 5 особей в каждой. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Рацион крыс состоял из стандартного гранулированного корма, который они получали 1 раз в сутки. За 24 часа до эксперимента кормление животных, находившихся на свободном водном режиме, прекращали. Крысам контрольной группы вводили физиологический раствор через зонд.

Крысам из трех опытных групп однократно вводили через зонд сочетание порошка чеснока/ амарантового масла/ хитозана в общих дозах 1500 либо 4900 либо 7500 мг/кг, в пересчете на сухой вес компонентов. Дозы были определены в соответствии с данными J. Asiedu-Gyekye Isaac et al., (2014), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, (2010) и результатами Levitskaia T.G., Thrall K.D., (2009). Наблюдение длилось две недели, оценивались: двигательная активность, наличие судорог, окраска видимых слизистых оболочек, состояние шерсти, потребление воды и пищи, мочевыделение и дефекация, масса тела и гибель животных.

**Оценка антиоксидантной активности гиполипидемических веществ (чеснок/ амарантовое масло/ хитозан)** осуществлялась по степени ингибирования образования продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ): диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА); антиокислительную активность (АОА) - по активности каталазы. Содержание продуктов ДК, МДА и фермента каталазы определяли спектрофотометрически в плазме крови животных (n=42), поделенных на семь групп: интактная (n=6), две контрольные (n=12), две опытные (n=12) и две группы сравнения (n=12).

**Определение диеновых конъюгатов (ДК)** в плазме крови осуществлялось спектрофотометрическим методом (Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И., 1983). Принцип метода основывался на установлении содержания первичных продуктов ПОЛ в крови по поглощению липидным экстрактом монохроматического светового потока в ультрафиолетовой области спектра, так как молекулы с двумя сопряженными связями (диеновые конъюгаты) обладают максимумом поглощения при 233 нм.

**Определение малонового диальдегида (МДА)** проводилось спектрофотометрически по методу Р.А.Темирбулатова и Е.И.Селезнева (Темирбулатов Р.А., Селезнев Е.И., 1981). Тест был основан на образовании окрашенного комплекса при взаимодействии МДА с тиобарбитуровой кислотой

(ТБК).

**Определение активности каталазы** осуществлялось с помощью метода, основанного на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс (Королюк М.А., Иванова Л.И., 1988).

**Определение эмульгирующей способности чеснока** в трёх различных маслах (оливковое, амарантовое и льняное) проводилось при помощи двух методов: оценки дисперсности эмульсии (количество капель жира в 1 мм<sup>3</sup> эмульсии определяется формулой подсчёта эритроцитов) и метода количественного определения содержания жира/ масла в эмульсии (Мансурханова И.М., 1967).

**Определение сорбционной способности пищевых волокон** на примере яблочного пектина, альгината натрия и хитозана проводилось при помощи метода, предложенного J. Waldstein (Waldstein J. et al., 2000) в дополнении Е.Э. Куприной (Куприна Е.Э. и соавт., 2004).

**Методы статистической обработки** основывались на использовании пакета статистических программ STATISTICA 7.0, Excel 7.0 для Microsoft Office for Windows. Для количественных показателей вычисляли среднее арифметическое значение (M), стандартное отклонение (SD). Данные представлены в виде M±SD. Качественные признаки описаны абсолютными (n) и относительными значениями (%). Вычислялись коэффициенты вариабельности. Различия между изучаемыми показателями считали статистически значимыми при вероятности  $p < 0,05$ . Для оценки достоверности различий средних в группах использовали непараметрический метод сравнения Kruskal-Wallis Anova test. При расчете  $p$  применяли поправку Wilcoxon. При выборе статистических методик учитывались методологические требования Международного конгресса по гармонизации GCP “Статистические принципы для клинических исследований” (ICH Guidelines// Good Clin.Pract.J., 1998).

**В третьей главе представлены результаты исследования гипополидемических свойств отдельного применения чеснока, амарантового, льняного и оливкового масел, а также волокон хитозана, пектина и альгината на витаминной и твиновой моделях экспериментальной гиперлипидемии.** По окончании эксперимента витаминной модели, у изучаемых веществ был выявлен различный липид-корректирующий эффект. Сопоставление испытуемых групп по отдельным параметрам показало, что по снижению ОХС - 5 и 7 группы сопоставимы, остальные значимо различаются ( $p < 0,05$ ), наибольшее статистически значимое снижение установлено в группах 9-11. Все ПВ в большей степени, чем масла и чеснок снижают ОХС ( $p < 0,001$ ), наиболее эффективен хитозан (рис. 1).

Порошок чеснока значимо сильнее, чем масла и ПВ снижает ТГ ( $p < 0,05$ ). Группы амарантового масла, хитозана, альгината, и пектина не выявили

различий по ТГ в сравнении с интактными животными ( $p < 0,05$ ) (рис. 2). Лучше ТГ снижал порошок чеснока при уровне значимости  $p < 0,01$  относительно групп препаратов сравнения. Данный эффект изучаемого порошка был статистически значимо лучше, чем препарат сравнения (3) при уровне значимости  $p < 0,01$  (рис. 2).

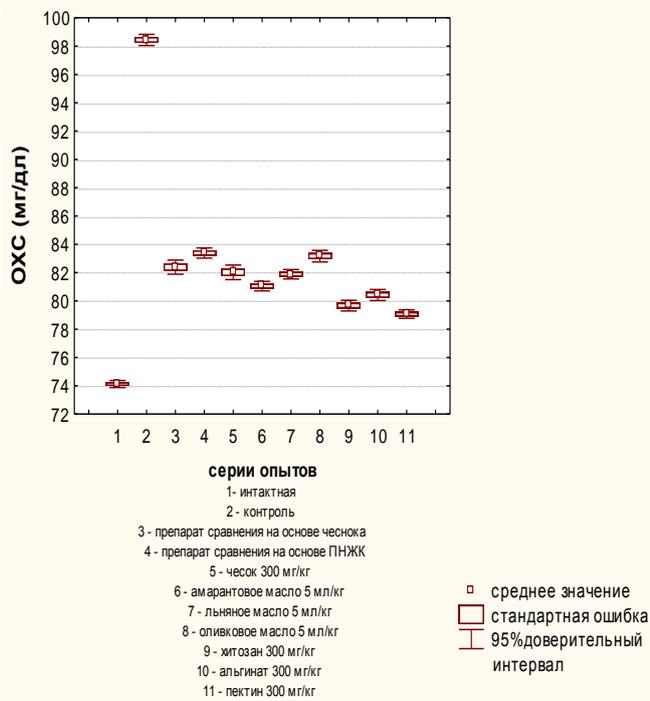


Рис. 1. Влияние раздельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели ОХС у крыс при витаминной модели ГЛП

Выше всего показатель ТГ был у оливкового масла при уровне значимости  $p < 0,01$ .

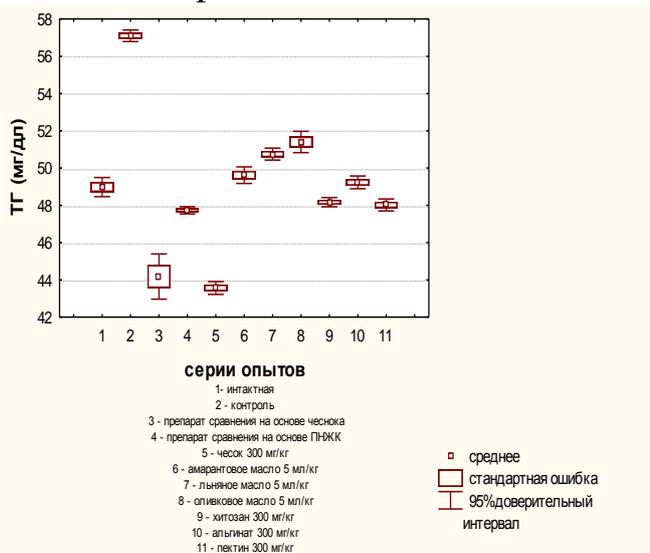


Рис. 2. Влияние раздельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели ТГ у крыс при витаминной модели ГЛП.

Относительно параметра ЛПВП, большей эффективностью обладали масла (в частности амарантовое масло), тогда как ПВ были менее эффективны по этому параметру ( $p < 0,05$ ) (рис. 3). Все исследуемые масла статистически значимо лучше повышали концентрацию ХС ЛПВП, чем препарат сравнения на основе чеснока, при уровне значимости  $p < 0,01$  (рис. 3).

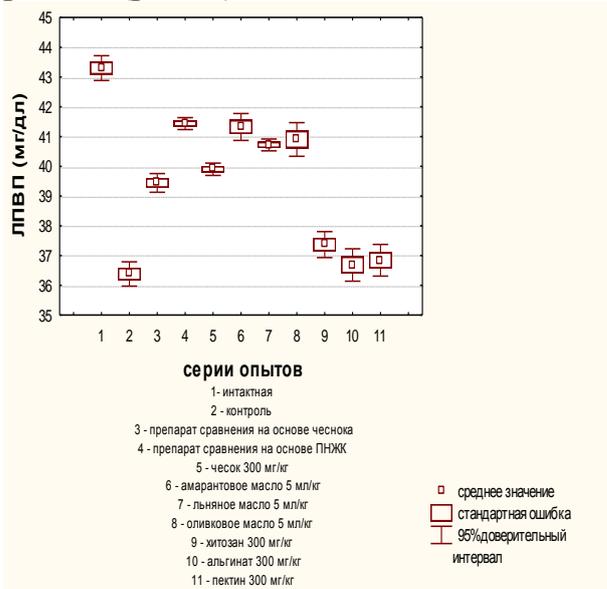


Рис. 3. Влияние раздельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели ЛПВП у крыс при витаминной модели ГЛП

Сравнение испытываемых групп 4 и 6 по данному параметру показало, что эти группы сопоставимы по силе снижения ЛПВП ( $p < 0,01$ ), тогда как группы ПВ (9, 10, 11) оказались статистически значимо менее

эффективны по этому параметру ( $p < 0,05$ ) (рис. 3).

Все изучаемые вещества оказывали нормализующее действие на уровень ХС ЛПНП.

Наибольшие различия ЛПНП получены в опытных группах оливковое масло – амарантовое масло при уровне значимости  $p < 0,05$  (рис. 4). Сравнение испытуемых групп 3 и 8 по данному параметру показало, что эти группы сопоставимы ( $p < 0,01$ ).

Показатели КА, представленные на рисунке 5, доказывают различную

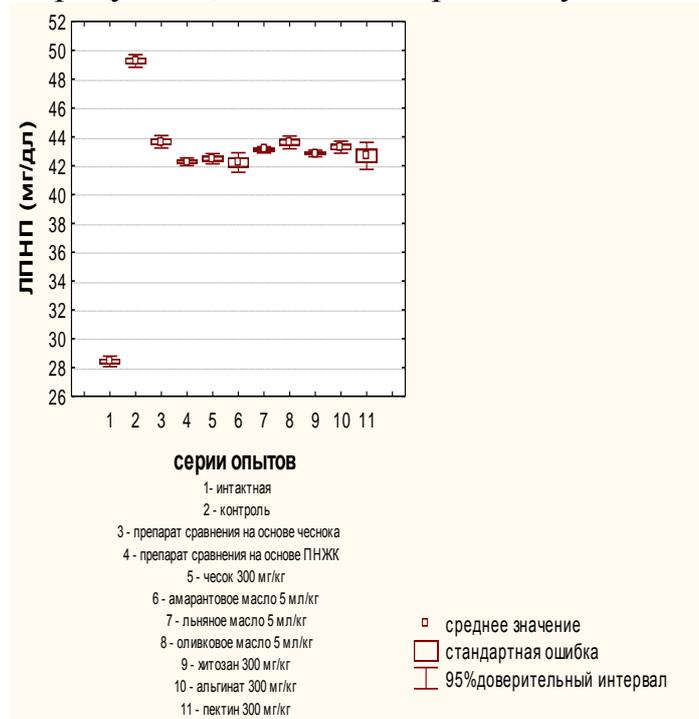


Рис. 4. Влияние раздельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели ЛПНП у крыс при витаминной модели ГЛП

эффективность исследуемых средств и обосновывают проведение сочетанной, комплексной терапии.

Согласно этим показателям, амарантовое масло имело самый низкий показатель атерогенности, альгинаты - самый высокий при

$p < 0,001$  по отношению к контролю (рис. 5).

Данные КА перекликаются с результатами использования альгината и масла амарантового при витаминной модели гиперлипидемии (рис. 5).

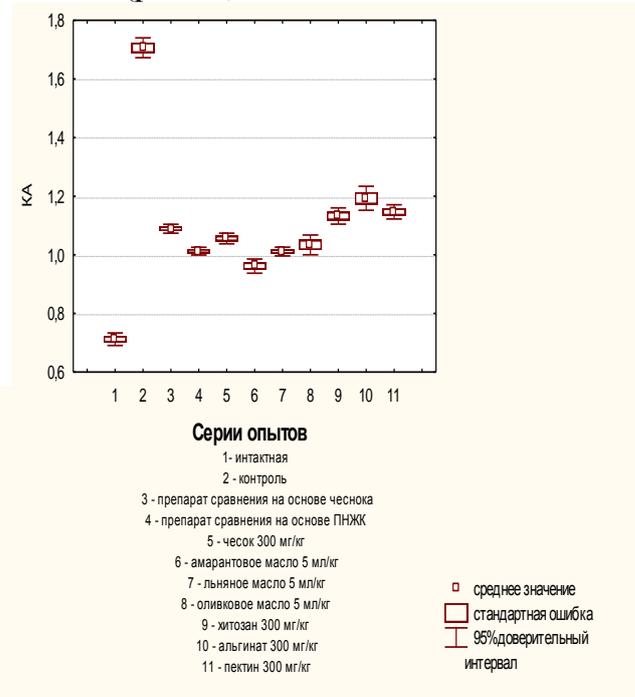


Рис. 5. Влияние раздельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на показатели КА у крыс при витаминной модели ГЛП

По окончании эксперимента твиновой модели ГЛП, у изучаемых веществ был также выявлен различный липид-корректирующий эффект.

Сила липид-корректирующего эффекта веществ расценивалась относительно потенциала снижения атерогенных показателей липидного спектра крови (ОХС, ТГ, ЛПНП), и повышения антиатерогенных показателей (ЛПВП).

Влияние раздельного применения исследуемых веществ на липидный профиль у крыс на

твиновой модели гиперлипидемии представлены в нижеследующей таб.№1. Из нее следует, что коэффициент атерогенности группы контроля (КА=1,97±0,03) значительно увеличился по отношению к здоровым особям интактной группы (КА=0,71±0,02), при уровне значимости  $p<0,001$ . Таблица 1 - Влияние отдельного применения чеснока, растительных масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс при твиновой модели ГЛП

Твиновая модель гиперлипидемии						
Крысы N	Группа	Показатели липидного профиля				
		ОХС(мг/дл) M±σ	ТГ(мг/дл) M±σ	ЛПВП (мг/дл) M±σ	ЛПНП (мг/дл) M±σ	КА M±σ
6	<sup>(1)</sup> Интактная	74,1±0,3*	49,0±0,6*	43,3±0,5*	28,4±0,4*	0,71±0,02*
6	<sup>(2)</sup> Контроль	114±0,3	75,4±0,4	38,5±0,5	61,5±0,3	1,97±0,03
6	<sup>(3)</sup> Препарат сравнения Алисат	93,8±0,2* -17,9%	58,4±0,4* -22,6%	41,9±0,3* +8,8%	53,5±0,5* -13,0%	1,24±0,01* -37,1%
6	<sup>(4)</sup> Препарат сравнения ПНЖК	96,2±0,17*^# -15,6%	62,6±0,2*^# -17,0%	44,0±0,09*^# +14,3%	51,3±0,4*^# -16,6%	1,18±0,01*^# -40,1%
6	<sup>(5)</sup> Чеснок 300мг/кг	92,5±0,5*^# -19,0%	58,2±0,4*^# <b>-22,8%</b>	42,3±0,4*^# +9,9%	53,2±0,3*^# -13,5%	1,18±0,01*^# -40,1%
6	<sup>(6)</sup> Амарант 5мл/кг	92,9±0,2*^# -18,7%	64,4±0,6*^# -14,6%	43,3±0,3*^# <b>+12,5%</b>	52,3±0,5*^# <b>-15,0%</b>	<b>1,14±0,01*^#</b> <b>-42,1%</b>
6	<sup>(7)</sup> Льн. Масло 5мл/кг	93,6±0,2*^# -18,0%	65,3±0,4*^# -13,4%	43,1±0,3*^# <b>+12,0%</b>	53,1±0,3*^# -13,7%	1,17±0,01*^# -40,6%
6	<sup>(8)</sup> Олив. масло 5мл/кг	94,3±0,3*^# -17,4%	66,4±0,4*^# -11,9%	42,2±0,4*^# +9,6%	54,3±0,3*^# -11,7%	1,23±0,02*^# -37,6%
6	<sup>(9)</sup> Хитозан 300мг	90,4±0,3*^# <b>-20,8%</b>	62,8±0,2*^# -16,7%	39,0±0,3*^# +1,3%	53,1±0,3*^# -13,7%	1,31±0,01*^# -33,5%
6	<sup>(10)</sup> Альгинат 300мг	91,7±0,4*^# -19,7%	64,1±0,3*^# -15,0%	38,7±0,3*^# +0,5%	54,7±0,4*^# -11,1%	1,36±0,02*^# -31%
6	<sup>(11)</sup> Пектин 300мг	91,5±0,44*^# -19,9%	63,3±0,3*^# -16,1%	38,9±0,14*^# +1,0%	53,3±0,4*^# -13,3%	1,35±0,01*^# -31,5%

\* - по отношению к контролю ( $p<0,001$ ); ^ - по отношению к препарату сравнения 3 ( $p<0,01$ ); # - по отношению к препарату сравнения 4 ( $p<0,01$ ); процентные значения, указанные в ячейках, отражают насколько повысился или понизился (+/-) тот или иной показатель по отношению к контролю.

Согласно таблице, лучше всего ОХС при твиновой модели ГЛП снижал хитозан, на 20,8% при уровне значимости  $p<0,01$  по отношению к препаратам сравнения 3, 4. Хуже всего эти показатели выглядели в случае применения оливкового масла. Оно понижало концентрацию ОХС на 17,4 % при уровне значимости  $p>0,01$  по отношению к препарату сравнения 3.

По содержанию ТГ, препарат сравнения 3 сопоставим с изучаемым порошком чеснока, препарат сравнения 4 сопоставим с группой 9. Данный показатель был статистически значимо хуже у группы оливкового масла при уровне значимости  $p<0,01$  по отношению к препаратам сравнения.

Амарантовое и льняное масло статистически значимо лучше других опытных групп повышали содержание ЛПВП в сыворотке животных. Статистически худший результат по данному показателю был у альгинатов, уровень ЛПВП при их приеме не отличался значимо от уровня ЛПВП в контрольной группе ( $p>0,05$ ).

Показатель ЛПНП крови животных статистически значимо лучше снижало амарантовое масло (15,0%) при уровне значимости  $p < 0,001$  по отношению к интакту и контролю и  $p < 0,01$  по отношению к препаратам сравнения. Самым слабым эффектом обладала 10 группа альгинатов при уровне значимости к группе 8,  $p > 0,05$ .

Наиболее эффективным при твиновой ГЛП у крыс оказалось применение амарантового масла ( $КА=1,14 \pm 0,01$ ) при уровне значимости  $p < 0,001$  по отношению к интакту и контролю, и  $p < 0,01$  по отношению к препарату сравнения на основе чеснока.

**В четвертой главе представлены результаты исследования гиполипидемических свойств парного сочетания чеснока с одним из масел (амарантового, льняного, оливкового), или с одним из волокон (хитозана, пектина и альгината) на витаминной и твиновой моделях экспериментальной гиперлипидемии.**

Таблица 2 - Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс при витаминной модели ГЛП

Витаминная модель гиперлипидемии						
Крысы N	Группа	Показатели липидного профиля				
6	Интактная <sup>(1)</sup>	ОХС(мг/дл) M±σ	ТГ(мг/дл) M±σ	ЛПВП(мг/дл) M±σ	ЛПНП (мг/дл) M±σ	КА M±σ
		74,1 ± 0,3*	49,0±0,6*	43,3±0,5*	28,4±0,4	0,71±0,02*
6	Контроль <sup>(2)</sup>	98,4±0,5	57,1±0,4	36,4±0,5	49,3±0,5	1,70±0,03
6	Препарат сравнения <sup>(3)</sup>	82,4±0,6*	44,2±1,4*	39,4±0,4*	43,7±0,5	1,09±0,02*
6	Препарат сравнения <sup>(4)</sup>	83,4±0,4*	47,7±0,2*^	41,4±0,3*	42,3±0,3	1,01±0,02*^
6	Чеснок/ Амарант <sup>(5)</sup>	80,8±0,5*^# - 17,9%	46,4±0,5*^# - <b>18,7%</b>	40,7±0,4*^# + 11,8%	42,6±0,5 - 13,6%	<b>0,98±0,02*^</b> <b>-42,4%</b>
6	Чеснок/ ЛМ <sup>(6)</sup>	81,5±0,6*# -17,2%	46,2±0,8*^# <b>19,1%</b>	41,0±0,4*# <b>+1</b> <b>2,6%</b>	42,8±0,4 -13,2%	0,99±0,02*^ -41,7%
6	Чеснок/ ОМ <sup>(7)</sup>	82,9±0,3* - 15,8%	48,9±0,4*^# - 14,4%	40,1±0,3* + 10,2%	43,2±0,5 - 12,4%	1,07±0,01*# -31,7%
6	Хитозан/ Амарант <sup>(8)</sup>	79,1±0,4*^# - <b>19,6%</b>	48,8±0,4*^# - 14,5%	39,3±0,5*^# + 8,0%	42,3±0,5 - <b>14,2%</b>	1,01±0,03*^ -40,6%
6	Хитозан/ ЛМ <sup>(9)</sup>	80,2±0,5*^# - 18,5%	65,8±0,5*^# + 15,2%	39,2±0,3*^# + 7,7%	42,6±0,4 - 13,6%	1,05±0,02* -38,2%
6	Хитозан/ ОМ <sup>(10)</sup>	82,1±0,7*# - 16,6%	66,1±0,7*^# + 15,8%	38,7± 0,3*# + 6,3%	43,4±0,4 - 12,0%	1,12±0,03*# -34,1%
6	Альгинат/ Амарант <sup>(11)</sup>	81,2±0,3*^# - 17,5%	65,2±0,4*^# + 14,2%	38,4±0,4*^# + 5,5%	42,5±0,4 - 13,8%	1,11±0,02*# -34,7%
6	Альгинат/ ЛМ <sup>(12)</sup>	82,0±0,2*# - 17,0%	65,7±0,4*^# + 15,1%	38,7±0,2*# + 6,3%	43,3±0,5 - 12,2%	1,12±0,01*# -34,1%
6	Альгинат/ ОМ <sup>(13)</sup>	82,0±0,3*# - 16,7%	66,3±0,5*^# +16,1%	38,6± 0,5*# + 6,0%	43,8±0,4 - 11,2%	1,13±0,02*# -33,5%
6	Пектин/ Амарант <sup>(14)</sup>	79,5±0,4*^# - 19,2%	64,4±0,4*^# + 12,8%	39,1±0,3*^# + 7,4%	42,8±0,3 - 13,2%	1,04±0,01*^ -38,8%
6	Пектин/ ЛМ <sup>(15)</sup>	80,7±0,4*^# - 18,0%	65,1±0,3*^# + 14,0%	38,9±0,2*^# + 6,9%	43,0±0,2 - 12,8%	1,07±0,01*^# -31,7%
6	Пектин/ ОМ <sup>(16)</sup>	82,3±0,4*# - 16,4%	66,2± 0,3*^# + 15,9%	38,3±0,4*# + 6,9%	43,0±0,6 - 12,8%	1,15±0,02*# -32,4%

Различия по отношению к контролю \* ( $p < 0,001$ ), по отношению к группе сравнения 3 ^ ( $p < 0,01$ ), 4 # ( $p < 0,01$ ).

Процентные значения, указанные в ячейках, отражают насколько повысился или понизился (+/-) тот или иной показатель по отношению к контролю.

По окончании эксперимента, у сочетаний изучаемых веществ был выявлен различный липид-корректирующий эффект.

Согласно данным, представленным таблице 2, сочетание пектин/оливковое масло имеет самый высокий КА (1,15±0,02), тогда как комбинация чеснок/ амарантовое масло - самый низкий (0,98±0,02) КА, при уровне значимости  $p < 0,001$  относительно интактной и контрольной групп.

Таблица 3 - Влияние парного сочетания чеснока, растительных масел и пищевых волокон на липидный профиль у крыс при твиновой модели ГЛП

Твиновая модель гиперлипидемии						
Крысы N	Группа	Показатели липидного профиля				
		ОХС(мг/дл) M±σ	ТГ(мг/дл) M±σ	ЛПВП(мг/дл) M±σ	ЛПНП(мг/дл) M±σ	КА M±σ
6	Интактная <sup>(1)</sup>	74,1±0,3*	49,0±0,6*	43,3±0,5*	28,4±0,4*	0,71±0,02*
6	Контроль <sup>(2)</sup>	114±0,3	75,4±0,4	38,5±0,5	61,5±0,3	1,97±0,03
6	Препарат сравнения <sup>(3)</sup>	93,8±0,2* -17,7%	58,4±0,4* -22,5%	41,9±0,3* +8,8%	53,5±0,5* -13,0%	1,24±0,01* -37,1%
6	Препарат сравнения <sup>(4)</sup>	96,2±0,2*^ -15,6%	62,6±0,2*^ -17,0%	44,0±0,1*^ +14,3%	51,3±0,4*^ -16,6%	1,18±0,01*^ -40,1%
6	Чеснок/ Амарант <sup>(5)</sup>	91,2±0,4*^# <b>- 20,0%</b>	59,0±0,5*^# - 21,8%	43,1±0,3*^# <b>+ 12,0%</b>	52,2±0,3*^# - 15,1%	<b>1,11±0,02*^</b> <b>-43,7%</b>
6	Чеснок/ ЛМ <sup>(6)</sup>	92,3±0,3*^# - 19,0%	59,3±0,4*^# - 21,4%	43,2±0,3*^# <b>+ 12,2%</b>	52,5±0,3*^# - 14,6%	1,14±0,02*^# -42,1%
6	Чеснок/ ОМ <sup>(7)</sup>	93,1±0,4*^# - 18,3%	63,8±0,2*^# - 15,4%	42,2±0,3*# + 9,6%	53,3±0,5*# - 13,3%	1,20±0,02* -39,1%
6	Хитозан/ Амарант <sup>(8)</sup>	90,9±0,2*^# <b>- 20,3%</b>	63,3±0,3*^# - 16,1%	41,5±0,4*# + 7,8%	52,5±0,4*^# - 14,6%	1,19±0,03* -39,6%
6	Хитозан/ ЛМ <sup>(9)</sup>	92,2±0,2*^# -19,1 %	64,6±0,2*^# -14,3 %	41,5±0,3*# +7,8 %	53,5±0,3*# - 13,0%	1,22±0,01* -38,1%
6	Хитозан/ ОМ <sup>(10)</sup>	93,8±0,2*# - 17,7%	65,8±0,4*^# - 12,7%	40,1±0,5*^# + 4,2%	53,8±0,2*# - 12,5%	1,34±0,03*^# -32,0%
6	Альгинат/ Амарант <sup>(11)</sup>	93,0±0,3*^# - 18,4%	45,2±0,3*^# <b>-40,1%</b>	41,7±0,8*# + 8,3%	53,2±0,2*# - 13,5%	1,23±0,04* -37,6%
6	Альгинат/ ЛМ <sup>(12)</sup>	93,6±0,3*# - 17,9%	65,3±0,1*^# -13,4%	40,9±0,4*^# + 6,2%	53,8±0,2*# -12,5%	1,29±0,03*^# -34,5%
6	Альгинат/ ОМ <sup>(13)</sup>	94,7±0,4*^# - 16,9%	66,2±0,2*^# - 12,2%	40,7±0,2*^# + 5,7%	54,3±0,2*^# - 11,7%	1,32±0,02*^# -33,0%
6	Пектин/ Амарант <sup>(14)</sup>	91,4±0,3*^# - 19,8%	64,0±0,2*^# - 15,1%	41,6±0,3*# + 8,1%	53,2±0,1*# - 13,5%	1,19±0,01* -39,6%
6	Пектин/ ЛМ <sup>(15)</sup>	92,8±0,2*^# - 18,6%	64,8±0,4*^# - 14,1%	41,2±0,1*# +7,0%	53,7±0,2*# - 11,1%	1,24±0,01*# -37,1%
6	Пектин/ ОМ <sup>(16)</sup>	94,3±0,2*^# -17,3%	66,0±0,1*^# - 12,5%	40,7±0,4*^# + 5,7%	54,3±0,2*^# - 11,7%	1,31±0,02*^# -33,5%

\* — различия по отношению к контролю ( $p < 0,001$ ); ^ — по отношению к препарату сравнения 3 ( $p < 0,01$ ); # — к препарату сравнения 4 ( $p < 0,01$ ); процентные значения, указанные в ячейках, отражают насколько повысился или понизился (+/-) тот или иной показатель по отношению к контролю.

Исследование выявило наибольшее приближение показателей к таковым у здоровых особей при использовании сочетаний чеснок/ хитозан, хитозан/ амарантовое масло. Это позволило рассматривать данные сочетания в качестве

наиболее перспективных гипополипидемически. Сочетания пектин/оливковое масло и хитозан/оливковое масло имели самые высокие показатели атерогенности ( $КА=1,31\pm 0,02$ ) и ( $КА=1,34\pm 0,03$ ), соответственно, тогда как комбинация чеснок/амарантовое масло имела самый низкий коэффициент ( $КА=1,11\pm 0,02$ ) при уровне значимости  $p<0,01$  по отношению к препаратам сравнения.

**В пятой главе представлены результаты исследования гипополипидемических свойств и безопасности сочетанного применения порошка чеснока, амарантового масла и хитозана. По окончании эксперимента было выявлено, что сочетанное применение чеснока, амарантового масла и хитозана в наиболее оптимальной степени статистически значимо снижало концентрацию атерогенных показателей липидного профиля плазмы крови животных.**

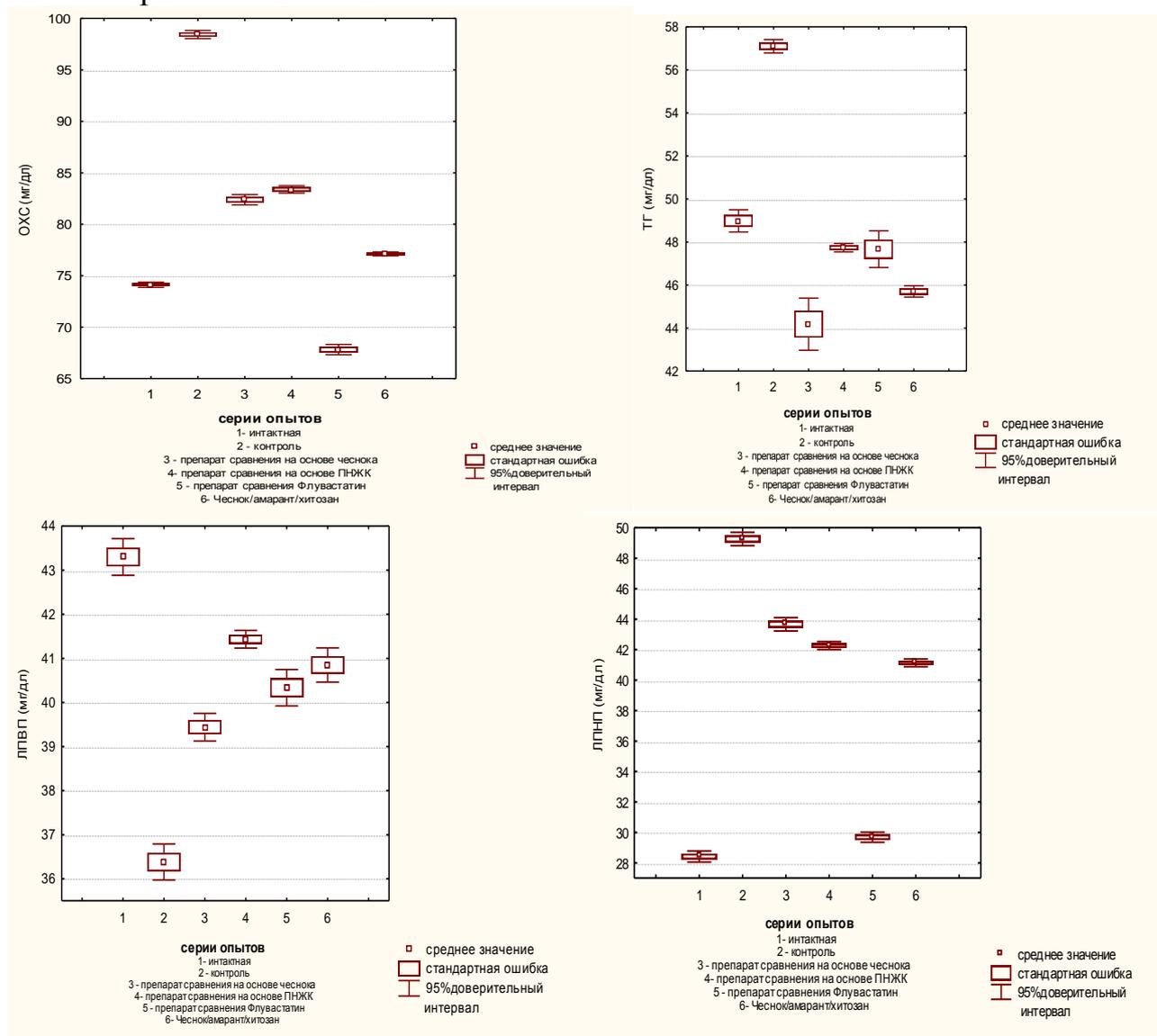


Рис. 1, 2, 3, 4. Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на показатели липидного профиля у крыс при витаминной модели ГЛП.

Сочетание порошок чеснока, амарантовое масло, хитозан статистически значимо снижало показатели ОХС (- 21,7 %), ТГ (- 20 %) и ЛПНП (- 16,5 %), достоверно повышает уровень антиатерогенного ХС ЛПВП (+ 12,3 %) при уровне значимости  $p < 0,001$  относительно здоровых животных и группы контроля, при  $p < 0,01$  относительно препарата сравнения на основе чеснока, и  $p < 0,05$  относительно групп препаратов сравнения 4, 5 на алиментарной модели ГЛП.

Таблица 4 - Влияние сочетанного применения чеснока, амарантового масла и хитозана на липидный профиль у крыс при твиновой модели ГЛП

Твиновая модель гиперлипидемии						
Крысы	Группа	Показатели липидного профиля				
		ОХС (мг/дл) M±σ	ТГ(мг/дл) M±σ	ЛПВП(мг/дл) M±σ	ЛПНП(мг/дл) M±σ	КА M±σ
5	Интактная (1)	74,1±0,3*	49,0±0,6*	43,3±0,5*	28,4±0,4*	0,71±0,02*
6	Контроль (2)	114,2±0,3	75,4±0,4	38,5±0,5	61,5±0,3	1,97±0,03
6	Препарат сравнения (3)	93,8±0,2*# ' ° -17,9%	58,4±0,4*# ' ° - 22,6%	41,9±0,3*# ' ° + 8,9%	53,5±0,5*# ' ° - 12,9%	1,24±0,01* # ' ° -37,1%
6	Препарат сравнения (4)	96,2±0,2*^ ' ° -15,8%	62,6±0,2*^ ' ° -17,0%	44,0±0,1*^ ' ° +14,3%	51,3±0,4*^ ' ° -16,6%	1,19±0,01* ^ ' ° -39,6%
6	Препарат сравнения (5)	78,0±0,4*^# ' ° -31,7%	64,5±0,5*^# ' ° -14,5%	43,3±0,9*^ ' ° +12,5%	36,8±0,5*^# ' ° -40,1%	0,80±0,05* ^# ' ° -59,4%
6	Чеснок/Амарант/Хитозан (6)	87,9±0,2*^# ' ° - 23,0%	59,7±0,4*^# ' ° - 20,9%	43,3±0,2*^ ' ° + 12,6%	51,6±0,3*^ ' ° - 16,0%	1,03±0,01* ^# ' ° -47,7%

\* – достоверность по отношению к контролю ( $p < 0,001$ ); ^ – достоверность по отношению к препарату сравнения 3 ( $p < 0,05$ ); # – достоверность по отношению к препарату сравнения 4 ( $p < 0,05$ ); ° – достоверность по отношению к препарату сравнения 5 ( $p < 0,05$ ); ' – достоверность по отношению к интактной группе ( $p < 0,001$ )

Полученные данные указывают на усиленный гиполипидемический эффект от сочетанного применения порошка чеснока, амарантового масла и хитозана при холестериневой нагрузке.

Таблица 5 - Результаты исследования острой токсичности нового гиполипидемического комплекса (чеснок/амарантовое масло/ хитозан) при пероральном введении

Группа	Доза препарата (мг/кг)	Количество крыс (шт.)	Из них пало	Клиника интоксикации
контроль – 1	-	5	-	Отсутствует
2	1500	5	-	Отсутствует
3	4900	5	-	Отсутствует
4	7400	5	-	Отсутствует

Из таблицы 5 следует, что новый гиполипидемический состав относится к IV классу токсичности химических веществ, т.е. к малоопасным веществам, где пероральная полулетальная доза (ЛД50) составляет более 5000 мг/кг.

**В шестой главе представлено сравнительное изучение механизма действия нового состава порошок чеснока/ амарантовое масло/ хитозан.**

При оценке влияния нового комплекса на показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ: содержание МДА и ДК) и антиоксидантной защиты организма (АОЗ: активность каталазы) на витаминной и твиновой моделях (см. *Материалы и методы*) было выявлено, что сочетание чеснока, амарантового масла и хитозана обладает существенной антиоксидантной активностью.

Таблица 6 - Антиоксидантная емкость нового комплекса (M±m), N=6

Витаминная диета			
Группы Животных	МДА, мкМ/мл мин	ДК, ед. ОП/мл.	Каталаза, мКат/мл
Интактная <sup>(1)</sup>	3,03±0,02*	5,9±0,1*	0,61±0,02*
Контрольная (ГЛП + Н20) <sup>(2)</sup>	5,01±0,13	6,8±0,1	0,31±0,03
Пробукол <sup>(3)</sup>	3,47±0,39* -30,7%	4,9±0,2*^ -27,9%	0,38±0,02*^ +22,6%
Опытная <sup>(4)</sup> (ГЛП+ компл.)	3,43±0,03* -31,5%	5,11±0,11*^ -28,4%	0,52±0,02*^# +36,7%
Твиновая диета			
Группы Животных	МДА, мкМ/мл мин	ДК, ед. ОП/мл.	Каталаза, мКат/мл
Интактная <sup>(1)</sup>	3,29± 0,02*	5,89±0,11*	0,60±0,02*
Контрольная (ГЛП + Н20) <sup>(2)</sup>	5,88±0,14	7,06±0,21	0,27±0,02
Пробукол <sup>(3)</sup>	3,88±0,17* -34%	3,92±0,23* -44,5%	0,33±0,03* +22,2%
Опытная <sup>(4)</sup> (ГЛП+ компл.)	3,00±0,17*^# -33,5%	5,20±0,17*^# -27,3%	0,55±0,01*^# +37,0%

\* – достоверность по отношению к контролю ( $p < 0,001$ ); ^ – достоверность по отношению к препарату сравнения 3 ( $p < 0,05$ ); # – достоверность по отношению к интактной группе ( $p < 0,001$ ); процентные значения, указанные в ячейках, отражают насколько повысился или понизился (+/-) тот или иной показатель по отношению к контролю.

Полученные в рамках работы результаты выявили у чеснока эмульгирующие свойства и позволили выдвинуть гипотезу о ранее незаявленном механизме гипополидемического действия этого продукта.

Таблица 7 - Количество жирных капель в 1 мм<sup>3</sup> эмульсии чеснока в оливковом, льняном и амарантовом маслах – данные получены при помощи камеры Горяева

Показатель	N	ДИСПЕРСНОСТЬ ЭМУЛЬСИИ (млн жир. капель/ мм <sup>3</sup> )	
		M±σ (млн жир. капель/ мм <sup>3</sup> )	Пределы (млн жир. капель/ мм <sup>3</sup> )
чеснок/льняное масло <sup>1</sup>	5	14,40 млн±1,71 млн	12,10 млн-16,80 млн
чеснок /амарант <sup>2</sup>	5	18,15 млн±2,97 млн	13,98 млн-21,65 млн
чеснок/ оливковое масло <sup>3</sup>	5	10,90 млн±1,96 млн	8,97 млн-13,62 млн

Примечание:  $p_{1-2} = 0,016$ ,  $p_{1,2-3} = 0,009$ , критерий Крускала-Уоллеса

Эмульгирующие свойства чеснока разнятся в зависимости от использованного масла.

Из таблицы 7 и последующей 8 следует, что наибольшие эмульгирующие свойства чеснок показал в амарантовом и льняном, наименьшие - в оливковом масле.

Таблица 8 - Процентное соотношение жировой фазы эмульсии чеснока в оливковом, льняном и амарантовом маслах – данные получены при помощи метода количественного определения

Показатель	N	КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ (%)	
		M±σ (%)	Пределы (%)
чеснок/амарант <sup>1</sup>	5	98,4±0,7	97,3-99,0
чеснок/льняное масло <sup>2</sup>	5	96,7±0,7	95,8-97,45
чеснок/оливковое масло <sup>3</sup>	5	94,7±0,5	94,1-95,3

Примечание:  $p_{1,2}=0,016$ ,  $p_{1,2,3}=0,009$

**В обсуждении полученных результатов** рассматриваются возможные механизмы развития витаминной и твиновой модели экспериментальной гиперлипидемии. Анализируются данные, свидетельствующие о нарушении показателей липидного профиля крови (ОХС, ТГ, ЛПНП, ЛПВП) что, вероятно, является причиной развития дислипидемии, оксидативного стресса и формирования атеросклеротической бляшки. Описываются возможные механизмы гипополипидемического действия порошка чеснока, амарантового, льняного и оливкового масел, а также хитозана, альгината и пектина, равно как и их сочетаний. В качестве сравнения приводятся данные ранее проведенных исследований. Анализируются данные, свидетельствующие о понижении уровней атерогенных липидов и повышении содержания антиатерогенных при использовании нового состава на основе чесночного порошка, амарантового масла и хитозана, а также безопасности этого комплекса. Предложены возможные механизмы гипополипидемического и антиатерогенного действия полученного состава, основанные на нормализация баланса между продуктами ПОЛ и активностью АОЗ (антиоксидантный), эмульгирующих свойствах чеснока и сорбционных свойствах пищевых волокон.

## **ВЫВОДЫ**

1. При сравнительном изучении гипополипидемических свойств порошка чеснока, амарантового, льняного и оливкового масел, а также хитозана, альгината и пектина было выявлено, что порошок чеснока статистически значимо лучше снижал ТГ (-23,6%, -22,8%), хитозан статистически значимо лучше снижал ОХС (-19,1%, -20,8%), а амарантовое масло статистически значимо лучше снижало ЛПНП (-14,4%, -15,0%) и повышало ЛПВП (+13,5%, +12,5%) при уровне значимости  $p < 0,001$  по отношению к контролю.
2. При сравнительном изучении гипополипидемических свойств парных сочетаний порошка чеснока с амарантовым, льняным и оливковым маслами, а также сочетаний названных масел с пектином, альгинатами и хитозаном, были выявлены перспективные относительно гипополипидемического эффекта сочетания: порошок чеснока/ амарантовое масло ( $KA=0,98 \pm 0,02$ ,  $1,11 \pm 0,02$ ), хитозан/ амарантовое масло ( $KA=1,01 \pm 0,03$ ,  $1,19 \pm 0,03$ ), при уровне значимости  $p < 0,001$  относительно контроля. Менее перспективными гипополипидемически были сочетания альгинат/ льняное масло ( $KA=1,12 \pm 0,01$ ,  $1,29 \pm 0,03$ ),

альгинат/оливковое масло ( $KA=1,13\pm 0,02$ ,  $1,32\pm 0,02$ ) и пектин/оливковом масле ( $KA=1,15\pm 0,02$ ,  $1,31\pm 0,02$ ), при уровне значимости  $p<0,001$  относительно контроля.

3. При изучении гиполипидемических свойств комплекса веществ на основе порошка чеснока, амарантового масла и хитозана было выявлено, что данное средство достоверно снижает уровни ОХС (-21,7%, -23,0%), ТГ (-20%, -20,9%), ЛПНП (-16,5%, -16,0%) и достоверно повышает уровень ЛПВП (+12,3%, +12,6%) при уровне значимости относительно контроля  $p<0,001$ .

4. При изучении безопасности комплекса веществ на основе чеснока, амарантового масла и хитозана была выявлена его малая токсичность, а препарат отнесен к IV классу (мало опасные).

5. При изучении антиоксидантной активности комбинации (чеснок/амарантовое масло/хитозан) было выявлено, что данное сочетание обладает выраженным антиоксидантным действием. Эффект выражался в снижении показателя ДК ( $5,11\pm 0,11$ ,  $5,20\pm 0,17$ ), снижении показателя МДА ( $3,43\pm 0,03$ ,  $3,00\pm 0,17$ ), и повышении активности каталазы ( $0,52\pm 0,02$ ,  $0,55\pm 0,01$ ).

6. При сравнительном изучении эмульгирующих свойств порошка чеснока в амарантовом, льняном и оливковом маслах у чеснока были выявлены выраженные эмульгирующие свойства. Статистически значимые лучшие эмульгирующие свойства средство проявляло в системе амарантовое масло/вода и льняное масло/вода (количество жира в данной эмульсии составляет  $98,39\pm 0,67\%$  и  $96,7\pm 0,7\%$ , соответственно от количества используемого масла).

7. При сравнительном изучении сорбционных свойств пектина, альгината и хитозана было выявлено, что сорбционные свойства хитозана превосходят подобные у альгинатов, и практически не уступают аналогичным у пектинов (данные свойства хитозана для ТГ составили  $4,38\pm 0,59$ , а для ЖК  $3,21\pm 0,06$ ).

## **НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Результаты исследования позволяют рекомендовать:

1. Поликомпонентный состав на основе чеснока, амарантового масла и хитозана для проведения дальнейших доклинических и последующих клинических испытаний с целью возможного включения в комплексную программу профилактики и терапии лёгких форм гиперлипидемий;

2. Поликомпонентный состав (чеснок, амарантовое масло, хитозан) для дальнейшей разработки оптимальных лекарственных форм на его основе, и последующего изучения связанных с данным поликомпонентным составом фармакокинетических показателей.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации:**

1. Мухаммед А.А., Курынина К.О., Павлова Л.А., Максимов М.Л., Пищевые волокна в комплексной терапии атеросклероза // **Справочник врача общей практики.** - 2013. - №6. - С. 64-69.

2. Мухаммед А.А., Максимов М.Л., Статины: побочные эффекты// **Терапевт.** – 2013. - №7. – С. 78-84.
3. Мухаммед А.А., Курынина К.О., Павлова Л.А., Максимов М.Л., Омега-3 ПНЖК в лечении и профилактике атеросклероза// **Врач скорой помощи.** – 2013. - №9. – С. 19-26.
4. Мухаммед А.А., Максимов М.Л., Исследование гипополидеических свойств чеснока, растительных масел на примере оливкового, льняного и амарантового, а также пищевых волокон на примере пектина, альгината и хитозана// **Вестник новых медицинских технологий (Электронный журнал)** – 2014 - №1. – DOI: 10.12737/4786
5. Мухаммед А.А., Максимов М.Л., Павлова Л.А., Лечение и профилактика атеросклероза препаратами чеснока: инновационное применение традиции// **Инновации и инвестиции.** – 2013. - №3. - С. 206-213
6. Мухаммед А.А., Павлова Л.А., Курынина К.О., Максимов М.Л., Профилактика и лечение атеросклероза. Место Омега-3 полиненасыщенных жирных кислот// **Ветеринарный врач.** – 2013. - №6. – С. 78-84.
7. Мухаммед А.А., Максимов М.Л., Павлова Л.А., Недостатки статинов как стимул для создания гипополидеических препаратов природного происхождения// **Материалы XIV-й международной научно-практической конференции «Современные проблемы гуманитарных и естественных наук».** - Москва. – 2013. –Т. 2. - С. 256-257.
8. Мухаммед А.А., Павлова Л.А., Максимов М.Л., Сочетанное применение чеснока, источников ПНЖК и пищевых волокон в профилактике и лечении атеросклероза // **Материалы II-ой Международной научной Интернет-конференции «Медицина в XXI веке: тенденции и перспективы».** - Казань. – 2013. –Т. 2. - С. 73-74.
9. Мухаммед А.А., Павлова Л.А., Максимов М.Л., Эмульгирующая способность чеснока как обоснование лекарственной формы в виде эмульсии и одного из механизмов гипополидеического действия препаратов на его основе// **Материалы XV-й международной научно-практической конференции «Современные проблемы гуманитарных и естественных наук».** - Москва. – 2013. - С. 440-442.
10. Мухаммед А.А., Павлова Л.А., Максимов М.Л., Эмульгирующая и адсорбционная способность компонентов как обоснование лекарственной формы на их основе, и механизмов их гипополидеического действия // **Материалы XV-ого Международного конгресса «Здоровье и образование в XXI Веке»** - Москва. – 2013. – Т. 15 [1-4]. - С. 390-395.
11. Мухаммед А.А., Максимов М.Л., Павлова Л.А., Механизмы гипополидеического действия эмульсии на основе чеснока, амаранта и хитозана // **Материалы II-ого Молодежного международного форума медицинских наук «MedWAYS» при ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. Сеченова** - Москва. – 2013. - С. 188-189.
12. Мухаммед А.А., Максимов М.Л., Антиоксидантные свойства гипополидеического комплекса на основе чеснока, амарантового масла и хитозана // **Материалы XII Международной научно-практической конференции «Прогрессивные процессы мирового научного знания в XXI веке»** - Казань. – 2014. - С. 184-186.
13. Мухаммед А.А., Максимов М.Л., Исследование острой токсичности гипополидеического комплекса на основе чеснока, амарантового масла и хитозана // **Материалы XII Международной научно-практической конференции «Прогрессивные процессы мирового научного знания в XXI веке»** - Казань. – 2014. - С. 187-188.

- 14. Мухаммед А.А., Максимов М.Л.,** Сорбирующие свойства пектина, альгината и хитозана по отношению к жирным кислотам и триглицеридам// *Материалы I Международной научно-практической конференции «Научный поиск» - Москва. – 2014. - С. 5-7.*
- 15. Мухаммед А.А., Максимов М.Л.,** Антиоксидантный эффект и острая токсичность гиполипидемического комплекса на основе чеснока, амарантового масла и хитозана// *Материалы XXVI Международной заочной научно-практической конференции «Научная дискуссия: вопросы медицины» - Москва. – 2014. - С.129 - 133.*
- 16. Мухаммед А.А., Максимов М.Л.,** Сравнительное исследование гиполипидемических свойств отдельного применения чеснока, масел амарантового, льняного и оливкового, а также хитозана, пектина и альгината на модели твиновой гиперлипидемии у крыс// *Материалы XIX Международной научно-практической конференции "Современные проблемы гуманитарных и естественных наук" - Москва. – 2014. - С.226-229.*
- 17. Мухаммед А.А., Максимов М.Л.,** Гиполипидемические свойства отдельного применения чеснока, масел амарантового, льняного и оливкового, а также хитозана, пектина и альгината при витаминной модели экспериментально индуцированной гиперлипидемии у крыс// *Материалы XIX Международной научно-практической конференции "Современные проблемы гуманитарных и естественных наук" - Москва. – 2014. - С.224 -226.*
- 18. Мухаммед А.А., Максимов М.Л.,** Влияние парного сочетания масел амарантового, льняного и оливкового с порошком чеснока, а также с хитозаном, пектином и альгинатом на липидный спектр крови крыс при алиментарной модели экспериментальной гиперлипидемии// *Материалы Международной научно-практической конференции «Современная медицина: актуальные вопросы и перспективы развития» - Уфа. – 2014. - С.81-84.*
- 19. Мухаммед А.А., Максимов М.Л.,** Сравнительное изучение параметров сорбции пищевых волокон на примере пектина, хитозана и альгината относительно жирных кислот и триглицеридов// *Материалы Международной научно-практической конференции «Современная медицина: актуальные вопросы и перспективы развития» - Уфа. – 2014. - С.84-85.*
- 20. Мухаммед А.А., Максимов М.Л.,** Гиполипидемические свойства парных сочетаний масел амарантового, льняного и оливкового с порошком чеснока, а также с хитозаном, пектином и альгинатом на модели твиновой гиперлипидемии у крыс// *Материалы V Международной конференции:«Современные концепции научных исследований» - Москва. – 2014. - С.-. (принято в печать)*

## **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АОА	Антиокислительная активность
АОЗ	Антиоксидантная защита организма
АС	Атеросклероз
ГЛП	Гиперлипидемия
ДК	Диеновые конъюгаты
ИБС	Ишемическая болезнь сердца
ЖК	Жирные кислоты
ЛПНП	Липопротеины низкой плотности
ЛПВП	Липопротеины высокой плотности

МДА	Малоновый альдегид
НЖК	Ненасыщенные жирные кислоты
ОХС	Общий холестерин
ПВ	Пищевые волокна
ПОЛ	Перекисное окисление липидов
СН	Сердечная недостаточность
ССЗ	Сердечно-сосудистые заболевания
ССС	Сердечно-сосудистая система
ТГ	Триацилглицериды
ФР	Факторы риска
ХС	Холестерин