

УДК 615.9:615.322

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2022.56.49.004>

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА КРАСНЫХ ЛИСТЬЕВ ВИНОГРАДА КУЛЬТУРНОГО (*VITIS VINIFERA L.*)

С.В. Лемясева, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела токсикологии, ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва, lemyaseva.svetlana@yandex.ru

Л.В. Крепкова, канд. биол. наук, зав. отделом токсикологии, ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва, krepkova2011@yandex.ru

А.Н. Бабенко, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела токсикологии, ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва, alexandra.mogileva@gmail.com

М.В. Боровкова, старший научный сотрудник отдела токсикологии, ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва, borovkova_65@mail.ru

О.С. Кузина, старший научный сотрудник отдела токсикологии, ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва, oskt@list.ru

*В статье представлены результаты экспериментального изучения гиполипидемической активности сухого экстракта из красных листьев винограда культурного (*Vitis vinifera L.*). Показано, что исследуемый экстракт в дозе 500 мг/кг при введении в желудок нормолипидным крысам и с экспериментально воспроизведенной твиновой и алиментарной гиперлипидемией снижал содержание липидов и глюкозы в сыворотке крови подопытных животных. Полученные результаты позволяют рекомендовать его в составе комплексной терапии метаболического синдрома.*

Ключевые слова: виноград культурный, экстракт сухой, гиполипидемическая активность, метаболический синдром, модель гиперлипидемии

В настоящее время большое внимание уделяется проблемам диагностики и лечения

метаболического синдрома, который характеризуется нарушением обмена веществ. Эксперты ВОЗ оценивают данную ситуацию как «новую пандемию XXI века», охватывающую население индустриально развитых стран. Факторами, влияющими на возникновение метаболического синдрома, являются генетическая предрасположенность, избыточное питание, гиподинамия, гормональный дисбаланс у женщин и приобретенный андрогенный дефицит у мужчин. Метаболический синдром развивается в результате растущей распространенности ожирения, диабета 2-го типа, дислипидемии, гипертонии и сердечно-сосудистых заболеваний [1,2].

Для лечения метаболического синдрома назначают препараты, снижающие уровень глюкозы и липидов, а также рекомендуют физические нагрузки и диетотерапию [3–5].

Одними из перспективных средств для лечения метаболического синдрома могут быть

предложены лекарственные препараты растительного происхождения, в том числе капсулы, содержащие сухой экстракт из красных листьев винограда культурного (*Vitis vinifera* L.) (ВКЛКЭС). Ранее установлено, что ВКЛКЭС обладает венотонизирующим и ангиопротекторным действием и рекомендован в комплексной терапии лечения хронической венозной недостаточности [6,7].

Целью работы явилось изучение гиполипидемической и гипогликемической активности ВКЛКЭС на моделях экспериментально воспроизведенной гиперлипидемии с целью установления новых фармакологических свойств и определения возможности его применения при метаболическом синдроме.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом данного исследования являлся ВКЛКЭС, полученный в Центре химии и фармацевтической технологии ФГБНУ ВИЛАР, имеющий в составе вещества фенольной природы (флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, танины), ресвератрол, аминокислоты, макро- и микроэлементы, преобладающими по количеству содержанию из которых являются кальций и марганец. Исследуемый экстракт стандартизирован по сумме фенольных соединений в пересчете на рутин, содержание которого не менее 6% [8].

Исследования выполнены на 94 половозрелых крысах-самцах *Wistar*, согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012) и Правилам лабораторной практики в Российской Федерации. Проведены три серии эксперимента: на нормолипидных крысах и с экспериментально воспроизведенной гиперлипидемией, вызванной однократным внутрибрюшинным введением Твина-80, а также при пероральном введении холестерина 3% и мерказолила в дозе 10 мг/кг [9].

Животные были получены из питомника ФГБНУ ВИЛАР и содержались в контролируемых и стандартных условиях вивария. Эксперименты проводили с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986). Дизайн эксперимента был рассмотрен и одобрен биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР.

Первая серия эксперимента выполнена на 30 нормолипидных крысах с первоначальной массой тела 200–220 г, распределенных на три группы по 10 животных в каждой: I – контроль (вода); II – ВКЛКЭС, доза 100 мг/кг; III – ВКЛКЭС, доза 500 мг/кг (соответственно 10- и 50-кратная терапевтические). ВКЛКЭС вводили в желудок крысам в течение 30 дней в виде 2% и 5% водных растворов, приготовленных *ex tempore*. Контрольные животные получали воду в эквивалентных объемах.

Во второй серии эксперимента использовали 32 крысы с первоначальной массой тела 400–500 г, которых распределили на четыре группы по 8 животных в каждой: I группа являлась контролем (вода); II группа получала однократно внутрибрюшинно Твин-80 в дозе 200 мг на 100 г массы тела (модель патологии); животным III группы до введения Твина-80 в течение 14 дней вводили в желудок ВКЛКЭС в дозе 500 мг/кг; IV группа до введения Твина-80 в течение 14 дней получала ежедневно в желудок гиполипидемический препарат растительного происхождения «Вазоспонин»® в дозе 100 мг/кг (суточная терапевтическая доза).

В третьей серии эксперимента 32 крысы с первоначальной массой тела 200–220 г распределили на четыре группы по 8 животных в каждой: I группа – контроль (вода); II группа получала ежедневно внутрижелудочно холестерин 3% + мерказолил в дозе 10 мг/кг (модель патологии); III группе вводили внутрижелудочно ВКЛКЭС в дозе 500 мг/кг (50-кратная

суточная терапевтическая). IV группа получала препарат сравнения растительного происхождения «Вазоспонин»® в дозе 100 мг/кг. Исследуемый экстракт и препарат сравнения в виде водных растворов, приготовленных *ex tempore*, вводили за 1 час до введения холестерина 3% + мерказолила ежедневно в течение 28 дней. Холестерин 3% + мерказолил готовили из расчета: 30 мг холестерина и 1 мг мерказолила на 100 г массы тела, перемешивали с теплым растительным маслом, ранее прогретым при высокой температуре и охлажденным [10]. Все животные получали стандартный полнорационный экструдированный комбикорм для лабораторных крыс (ООО «Лабораторкорм», Россия).

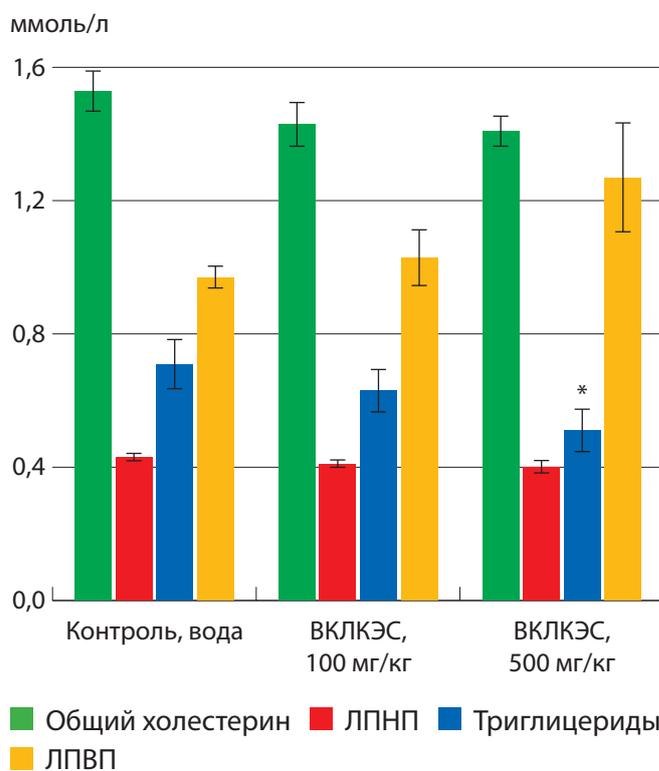
В конце каждой серии эксперимента у всех подопытных животных, предварительно лишенных корма на 8 часов, брали пробы периферической крови. Во второй серии опытов кровь брали через 8 часов после введения Твина-80. Исследование биохимических показателей (содержание общего холестерина, липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов и глюкозы) сыворотки крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе крови URIT-8030 фирмы Urit Medical Electronic (Китай) с использованием наборов фирмы Human (Германия). В третьей серии опытов после эвтаназии животных в CO₂-камере проводили некропсию пяти крыс из каждой группы, фиксировали печень в 10% формалине, делали гистологические срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином и исследовали с помощью светового микроскопа при увеличении ×100 и ×400.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента. Достоверность различий с контролем считали при $P < 0,05$. Статистические данные обрабатывали с помощью лицензионной программы Statistica version 13.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии опытов введение ВКЛКЭС в дозах 100 и 500 мг/кг в желудок нормолипидным крысам в течение 30 дней дозозависимо снижало содержание триглицеридов в сыворотке крови, статистически значимо (на 28%) при введении дозы 500 мг/кг, а также уровень общего холестерина и ЛПНП; повышало уровень ЛПВП в сыворотке крови крыс относительно контроля (рис. 1). Результаты этих исследований послужили основанием для дальнейшего изучения гиполипидемической активности ВКЛКЭС с использованием моделей твиновой и алиментарной гиперлипидемии.

Во второй серии опытов однократное внутрибрюшинное введение Твина-80 вызывало статистически достоверное увеличение содержания ЛПНП на 44%, триглицеридов – на 40%, глюкозы – на 14% и снижение содержания



Примечание: * достоверность различий с контролем, $P < 0,05$

РИС. 1. Показатели липидного обмена нормолипидных крыс, получавших ВКЛКЭС в течение 30 дней

ЛПВП на 22% в сыворотке крови крыс, а также некоторое повышение уровня общего холестерина относительно контроля.

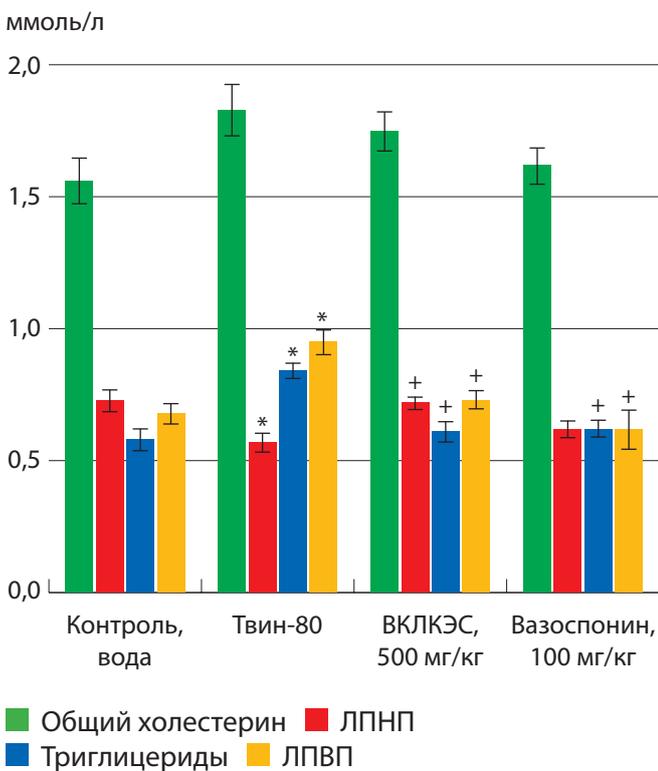
Профилактическое введение ВКЛКЭС в дозе 500 мг/кг, наиболее эффективной при введении нормолипидным крысам, и препарата сравнения «Вазоспонин»® в дозе 100 мг/кг в течение 14 дней до введения Твина-80 статистически значимо снижало содержание ЛПНП на 26%, триглицеридов на 23% и 35%, глюкозы на 20% и 15% соответственно, а также умеренно повышало уровень ЛПВП в сыворотке крови крыс по сравнению с моделью патологии и восстанавливало исследуемые показатели липидного обмена до уровня контроля. При этом гиполипидемическое действие было более выражено у препарата сравнения, а гипогликемическое – у исследуемого экстракта (рис. 2 и 3).

В третьей серии опытов внутрижелудочное введение холестерина 3% и мерказолила

вызывало статистически достоверное увеличение содержания общего холестерина в 1,2 раза и триглицеридов в 1,3 раза в сыворотке крови крыс, а также некоторое повышение содержания ЛПНП относительно контроля.

Введение ВКЛКЭС в дозе 500 мг/кг и «Вазоспонина»® в дозе 100 мг/кг в желудок крысам с моделью алиментарной гиперлипидемии статистически значимо снижало уровень общего холестерина на 21%, ЛПНП – на 46% и 40%, триглицеридов – на 31% и 34% соответственно в сыворотке крови по сравнению с аналогичными показателями у животных с моделью патологии. По биохимическим показателям ВКЛКЭС на указанной модели гиперлипидемии проявлял гиполипидемическую активность, соответствующую препарату сравнения «Вазоспону»® (рис. 4).

При гистологическом исследовании печени крыс с экспериментально воспроизведенной



Примечания: * достоверность различий модели патологии по сравнению с контрольной группой, $P < 0,05$; + достоверность различий опытных групп по сравнению с моделью патологии (Твин-80), $P < 0,05$

РИС. 2. Показатели липидного обмена в сыворотке крови крыс с твиновой моделью гиперлипидемии

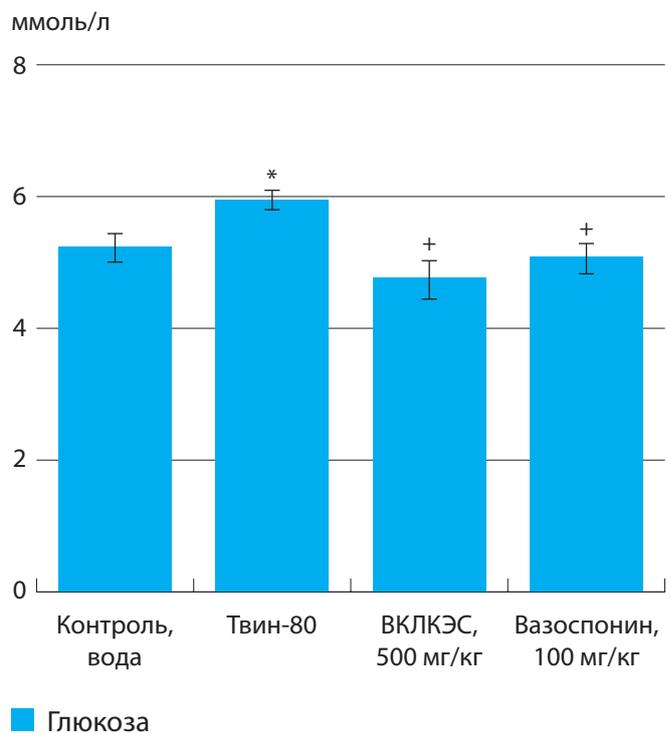
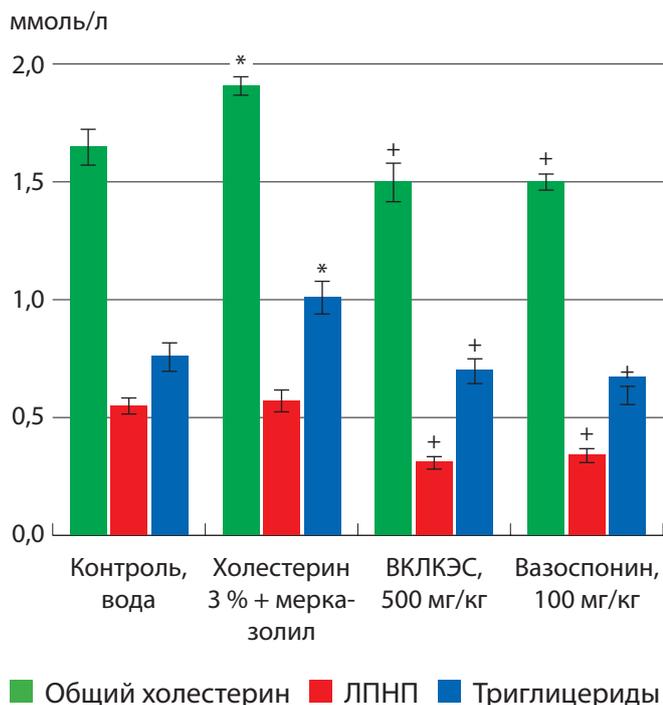


РИС. 3. Уровень глюкозы в сыворотке крови крыс с твиновой моделью гиперлипидемии



■ Общий холестерин ■ ЛПНП ■ Триглицериды

Примечания: * достоверность различий по сравнению с контрольной группой, $P < 0,05$;
+ достоверность различий по сравнению с моделью гиперлипидемии, $P < 0,05$

РИС. 4. Показатели липидного обмена в сыворотке крови крыс с алиментарной моделью гиперлипидемии

гиперлипидемией, вызванной внутрижелудочным введением холестерина и мерказолила, во всех случаях в гепатоцитах наблюдали начальные изменения по типу жировой капельной дистрофии по сравнению с контролем (рис. 5 и 6).

У крыс, получавших ВКЛКЭС в дозе 500 мг/кг, аналогичные изменения в гепатоцитах наблюдались лишь в одном случае из пяти (рис. 7).

Результаты, полученные в трех сериях опытов, установили, что ВКЛКЭС в дозе 500 мг/кг обладает гиполипидемическим и гипогликемическим действием. По гиполипидемической активности исследуемый экстракт соответствовал аналогичной активности растительного гиполипидемического средства «Вазоспонин»®.

Выявленный эффект, по-видимому, обусловлен наличием в исследуемом экстракте полифенолов, которые, по данным литературы, проявляют антиоксидантную, гипохоле-

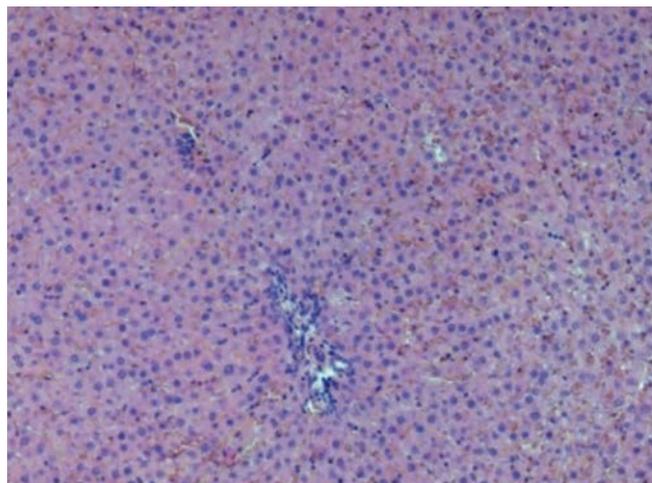


РИС. 5. Морфологическое строение печени крысы (контроль). Увеличение $\times 100$

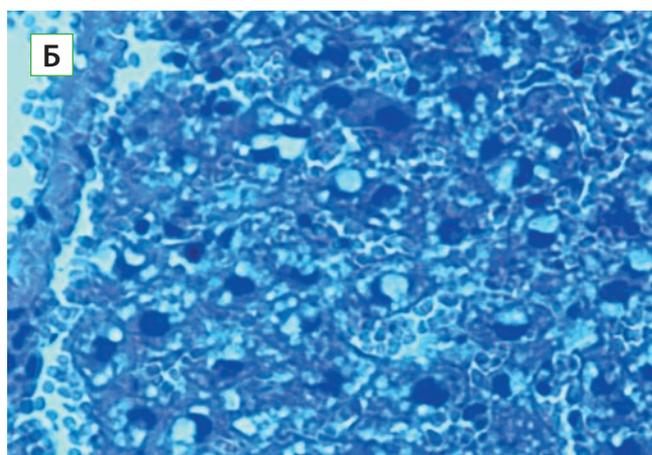
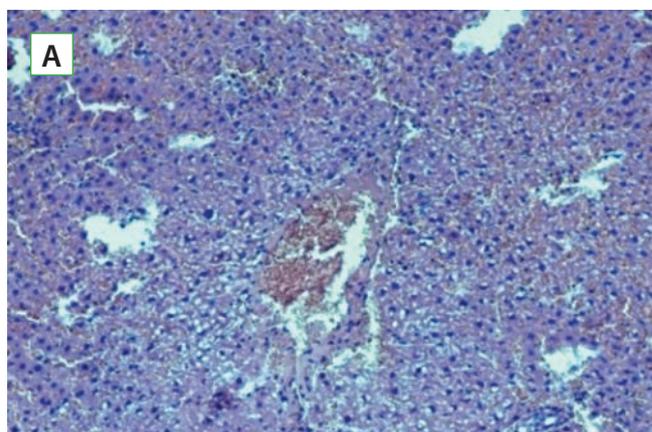


РИС. 6. Морфологическое строение печени крысы на модели алиментарной гиперлипидемии: увеличение А $\times 100$, Б $\times 400$

стеринемическую и антидиабетическую активность. Лекарственные средства, содержащие полифенолы, широко используются в терапии метаболического синдрома, сочетающего ги-

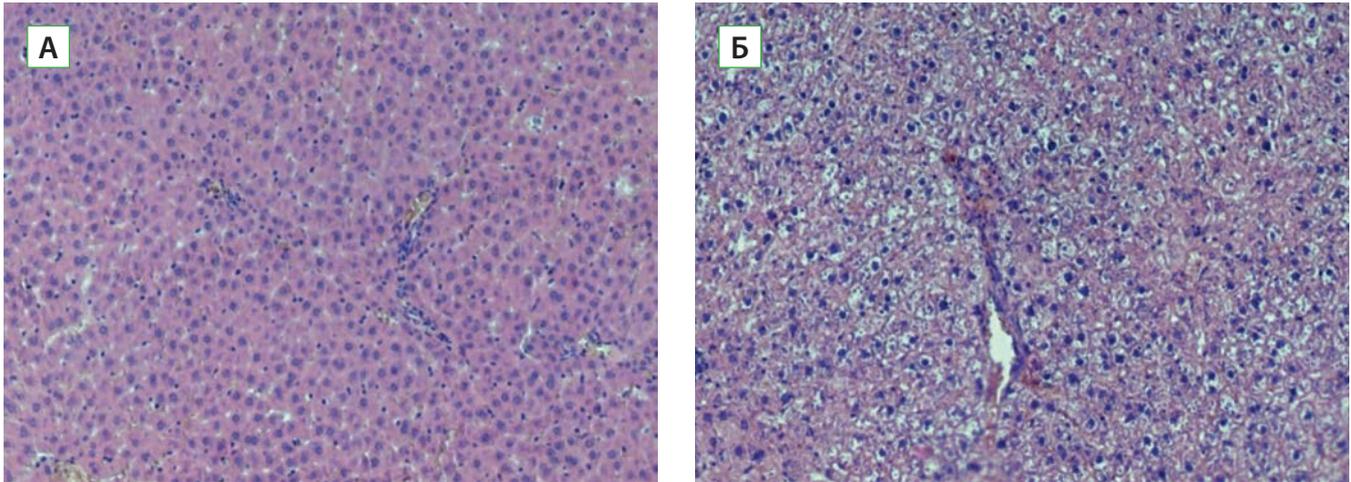


РИС. 7. Морфологическое строение печени крысы, получавшей ВЛКЭС в дозе 500 мг/кг: увеличение А $\times 100$, Б $\times 100$

пертонию, диабет, гиперлипидемию, а также сердечно-сосудистые заболевания и инсульт [11–15].

ВЫВОДЫ

Таким образом, результаты исследований, полученные на клинически здоровых крысах и с экспериментально воспроизведенной гиперлипидемией, вызванной введением Твина-80 и холестерина, свидетельствуют, что ВЛКЭС при введении в желудок в дозе 500 мг/кг обладает гиполлипидемическим и гипогликемическим действием и может быть рекомендован в комплексной терапии метаболического синдрома.

Исследования выполнены в соответствии с НИР ФГБНУ ВИЛАР по теме: «Направленный скрининг, оценка фармакологической активности и безопасности биологически активных веществ и фармацевтических композиций на их основе» (регистрационный номер темы 122022600102–6, шифр темы FGUU-2022-0010)

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Robert H. Eckel, Scott M. Grundy, Paul Z. Zimmet. *Метаболический синдром* // *The Lancet*. – V. 365(9468), 16–22 April 2005. – P. 1415–1428 (DOI: 10.1016/S0140-6736(05)66378-7).
2. Калашникова М.Ф. *Метаболический синдром: современный взгляд на концепцию, методы профилактики и лечения // Эффективная фармакотерапия. Эндокринология*. – 2013. – №6(55). – С. 52–63.
3. Беленков Ю.Н., Привалова Е.В., Каплунова В.Ю., Зекцер В.Ю., Виноградова Н.Н., Ильгисонис И.С., Шакарьянц Г.А., Кожевникова М.В., Лишута А.С. *Метаболический синдром: история развития, основные критерии диагностики // Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. – 2018. – №14(5). – С. 757–764.
4. Буторова М.С. *Метаболический синдром: патогенез, клиника, диагностика, подходы к лечению // Русский медицинский журнал*. – М., 2001. – Т. 9, – №2. – С. 56–59.
5. Бокарев И.Н. *Метаболический синдром // Клиническая медицина*. – 2014. – №8. – С. 71–76.
6. Лупанова И.А., Крепкова Л.В., Ферубко Е.В., Трумпле Т.Е., Бортникова В.В., Бабенко А.Н., Курманова Е.Н., Фатеева Т.В., Мизина П.Г., Сидельников Н.И. // *Новые лекарственные средства растительного происхождения ВИЛАР*. – М.: ФГБНУ ВИЛАР, 2021. – 160 с.

7. Крепкова Л.В., Бортникова В.В., Кузина О.С., Боровкова М.В., Джавахян М.А. Доклиническое изучение безопасности капсул, созданных на основе винограда листьев красных экстракта сухого // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018. – №11. – С. 45–50.
8. Дул В.Н., Даргаева Т.Д., Копытько Я.Ф., Сокольская Т.А. Изучение состава фенольных веществ красных листьев винограда культурного (*Vitis vinifera* L.) методом ВЭЖХ // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2014. – №3. – С. 33–36.
9. Лемясева С.В., Крепкова Л.В., Бортникова В.В., Бабенко А.Н., Кузина О.С., Дул В.Н. Исследование гиполипидемической активности винограда культурного (*Vitis vinifera* L.) листьев красных экстракта сухого // Сборник материалов юбилейной международной научной конференции ФГБНУ ВИЛАР. – М., 2021. – С. 574–578 (DOI: 10.52101/9785870191003_2021_574).
10. Поляков Л.М., Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М., Русских Г.С., Биушкина Н.Г., Клиникова М.Г., Мжельская М.М., Непомнящих Р.Д., Пичигин В.И., Южик Е.И. Показатели липидного обмена и белковый состав липопротеинов плазмы крови гипотиреодных крыс при экспериментальной гиперхолестеринемии // Фундаментальные исследования. – 2014. – №10 (часть 2). – С. 342–345.
11. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Пушино: Synchronbook, 2013. – 310 с.
12. Барабой В.А. Фенольные соединения виноградской лозы: структура, антиоксидантная активность, применение // Biotechnologia Acta. – 2009. – Т. 2. – №2. – С. 67–69.
13. Richard A. Dixon, De-Yu Xie, Shashi B. Sharma. Proanthocyanidins – A final frontier in flavonoid research? // New Phytol. 2005 Jan; 165(1): 9–28 (DOI: 10.1111/j.1469-8137.2004.01217).
14. Nassiri-Asl M., Hosseinzadeh H. Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (Grape) and its bioactive compounds // Phytother. Res. 2009; 23(9): 1197–1204 (DOI: 10.1002/ptr.2761).
15. Yu Nie, Stephen R. Stürzenbaum. Proanthocyanidins of Natural Origin: Molecular Mechanisms and Implications for Lipid Disorder and Aging-Associated Disease // Adv. Nutr. 2019 May 1; 10(3): 464–478 (DOI: 10.1093/advances/nny118).

NEW POSSIBILITIES FOR THE USE OF DRY EXTRACT OF VITIS VINIFERA L.

S.V. Lemyaseva, L.V. Krepkova, A.N. Babenko, M.V. Borovkova, O.S. Kuzina

All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

The results of experimental study of hypolipidemic activity of dry extract from red leaves of cultivated grapes (*Vitis vinifera* L.) are presented in the article. It was shown that the studied extract at a dose of 500 mg/kg when injected into the stomach of normolipid rats and with experimentally reproduced Twin and alimentary hyperlipidemia, reduced the lipid and glucose content in the blood serum of experimental animals. The obtained results allow to recommend it as a part of complex therapy of metabolic syndrome.

Keywords: dry extract, *Vitis vinifera* L., lipid-lowering activity, metabolic syndrome, hyperlipidemia model