



УДК 612.111:547.458.81:547.115:591.149

## Гіпохолестеролемічна дія N–алкіламідованого альгінату

М. Мароунек<sup>1</sup>, З. Волек<sup>1</sup>, Т. Таубнер<sup>1</sup>, Д. Душкова<sup>1</sup>, Л.Г. Калачнюк<sup>2</sup>, В.В. Хомич<sup>2</sup>  
marounek.milan@vuzv.cz, lilikalachnyuk@gmail.com

<sup>1</sup>Інститут тваринництва, 104 00 Прага, Чеська Республіка;

<sup>2</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України,  
вул. Героїв Оборони, 15; Київ, 03041, Україна

Відомо, що в процесі травлення та всмоктування поживних речовин одна з ключових ролей належить полісахаридам (серед яких є й альгінова кислота), які мають здатність збільшувати в'язкість і утворювати гелі в тонкому кишечнику. Раніше ми вивчали фізіологічні ефекти пектину, целюлози і їх амідованих похідних, що засвідчили зростання гіпохолестеролемічної активності у щурів. Звідси, було вирішено дослідити гіпохолестеремічну дію N–алкіламідованого альгінату на лабораторних тваринах. Для цього самок щурів утримували на трьох раціонах, а саме: на контрольному (1) і двох дослідних (2 і 3), які містили холестерол (10 г/кг) і різну кількість N–алкіламідованого альгінату (0 і 40 г/кг, відповідно), окрім того, тваринам усіх груп згодовували також пальмову олію. N–алкіламідований альгінат вірогідно знижував рівень як холестеролу (загального і ЛПНЩ) у сироватці крові й печінці, так і гепатичних загальних ліпідів у щурів, яких утримували на холестерол–вмісному раціоні. У фекаліях тварин, які споживали N–алкіламідований альгінат, спостерігали збільшені концентрації жиру від 61 до 91 мг/г, в той час, як концентрація холестеролу, жовчних кислот і загальних стеролів зазнавала невірогідних змін.

Отже, зниження холестеролемії в щурів, що споживали N–алкіламідований альгінат, ймовірно, базується швидше на видаленні жиру з кишечника, ніж на перериванні циркуляції холестеролу в печінці.

**Ключові слова:** холестерол, жир, жовчні кислоти, N–алкіламідований альгінат, фекалії, щури.

## Гипохолестеролемическое действие N–алкиламидированного альгината

М. Мароунек<sup>1</sup>, З. Волек<sup>1</sup>, Т. Таубнер<sup>1</sup>, Д. Душкова<sup>1</sup>, Л.Г. Калачнюк<sup>2</sup>, В.В. Хомич<sup>2</sup>  
marounek.milan@vuzv.cz, lilikalachnyuk@gmail.com

<sup>1</sup>Інститут животноводства, 104 00 Прага, Чешская Республіка;

<sup>2</sup>Національний університет біоресурсів і природопользования України,  
ул. Героев Оборони, 15; Киев, 03041, Украина

Известно, что в процессе пищеварения и всасывания питательных веществ одна из ключевых ролей принадлежит полисахаридам (среди которых есть и альгиновая кислота), обладающим способностью увеличивать вязкость и образовывать гели в тонком кишечнике. Ранее мы изучали физиологические эффекты пектина, целлюлозы и их амидированных производных, которые продемонстрировали рост гипохолестеролемической активности у крыс. Отсюда, было решено исследовать гипохолестеролемическое действие N–алкиламидированного альгината на лабораторных животных. Для этого самок крыс содержали на трех рационах, а именно: на контрольном (1) и двух экспериментальных (2 и 3), содержащих холестерол (10 г/кг) и разное количество N–алкиламидированного альгината (0 и 40 г/кг, соответственно), кроме того, животным всех групп скармливали также пальмовое масло. N–алкиламидированный альгинат достоверно снижал уровень как холестерола (общего и ЛПНП) в сыворотке крови и печени, так и гепатических общих липидов у крыс, которых содержали на холестерол–содержащем рационе. В фекалиях животных, потреблявших N–алкиламидированный альгинат, наблюдали увеличенные концентрации жира от 61 до 91 мг/г, в то время, как изменения концентрации холестерола, желчных кислот и общих стеролов были недостоверными.

### Citation:

Marounek, M., Volek, Z., Taubner, T., Duškova, D., Kalachniuk, L., Khomych, V. (2016). Hypocholesterolemic activity of N–alkylamidated alginate. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj*, 18, 3(71), 59–62.

*Следовательно, снижение холестеролемии у крыс, потреблявших N-алкиламидированный альгинат, вероятно, базируется скорее на удалении жира из кишечника, чем на прерывании циркуляции холестерола в печени.*

**Ключевые слова:** холестерол, жир, желчные кислоты, N-алкиламидированный альгинат, фекалии, крысы

## Hypocholesterolemic activity of N-alkylamidated alginate

M. Marounek<sup>1</sup>, Z. Volek<sup>1</sup>, T. Taubner<sup>1</sup>, D. Dušková<sup>1</sup>, L. Kalachniuk<sup>2</sup>, V. Khomych<sup>2</sup>  
marounek.milan@vuzv.cz, lilkalachnyuk@gmail.com

<sup>1</sup> Institute of Animal Science, Přátelství 815, 104 00 Prague 22, Czech Republic;

<sup>2</sup> National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,  
Heroiv Oborony str., 15; Kyiv, 03041, Ukraine

*It is known that in the process of digestion and absorption of nutrients, one of the key roles belongs to polysaccharides (among which there are alginic acid), which have the ability to increase viscosity and form a gel in the intestine. Previously, we studied the physiological effects of pectin, cellulose and their amidated derivatives that have demonstrated growth of hypocholesterolemic activity in the rats. From here, it was decided to investigate the hypocholesterolemic effect of N-alkylamidated alginate on laboratory animals. That's why, female rats were fed according to three diets, namely the control (1) and two experimental (2 and 3), which contained cholesterol (10 g/kg) and different amounts N-alkylamidated alginate (0 and 40 g / kg, respectively), and all animals fed also palm oil. N-alkylamidated alginate significantly lowered the level of cholesterol (total and LDL) in serum and liver and of hepatic total lipids in the rats, which were on cholesterol-containing diet. In the faeces of animals that consumed N-alkylamidated alginate, it was observed increased concentrations of fat from 61 to 91 mg / g, while the concentration of cholesterol, bile acids and total sterols was not significantly changed.*

*Hence, decrease cholesterolemia in rats (that consumed N-alkylamidated alginate) is probably based more on the removal of fat from the intestine, rather than on the interruption of enterohepatic circulation of cholesterol.*

**Key words:** cholesterol, fats, bile acids, N-alkylamidated alginate, faeces, rats.

### Вступ

За структурною будовою альгінова кислота є полімером з'єднаних  $\alpha$ -1–4 глікозидним зв'язком залишків  $\beta$ -D-мануронової і  $\alpha$ -L-гулууронової кислот, який присутній у клітинних стінках бурих водоростей (Aspinall, 1970). Її широко застосовують у різних галузях промисловості, в тому числі харчовій, текстильній та фармацевтичній. У харчовій промисловості альгінат використовується як загусник для напоїв, морозива, а також як желатинуючий агент для желе (Nechaev et al., 2002). У тонкому кишечнику гелю-утворюючі полісахариди підвищують в'язкість і впливають на процес травлення та всмоктування поживних речовин. Альгінова кислота сприяла зростанню виділення жиру та зниженню екскреції жовчних кислот у об'єктів з видаленим товстим кишечником (Sandberg et al., 1994). У чоловіків з надмірною вагою альгінова кислота знижувала поглинання холестеролу і глюкози (Rahman et al., 2008), тому її було рекомендовано в якості харчової добавки для підтримки здоров'я і боротьби із окремими захворюваннями серцево-судинної системи (Brownlee et al., 2005). За присутності альгінової кислоти в раціоні щурів у сироватці крові спостерігали значне зниження рівня холестеролу як і загального, так і ліпопротеїнів низької щільності (Wang et al., 2003). Фізіологічні ефекти альгінової кислоти і пектину є схожими. Пектин – полімер, мономером якого є залишки D-галактууронової кислоти (з'єднані  $\alpha$ -1–4 глікозидними зв'язками) із метоксильованими в тій чи іншій мірі карбоксильними групами (Aspinall, 1970). Наявність пектину в раціоні знижувала концентрацію холестеролу в плазмі крові і печінці щурів, хомяків і мурчаків (Judd and Truswell, 1985; Fernandez, 1995; Terpstra et al., 1998). Дослідження дії пектину з цитрусових і октадецилпектина-

мідю на щурів, утримуваних на раціоні, до якого входила пальмова олія і холестерол продемонстрували різний ефект амідованого пектину із ступенями заміщення (30% і 50%): перший збільшував у сироватці крові холестерол ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) за рахунок інших холестеролових фракцій, а другий вірогідно знижував рівень загального холестеролу в сироватці крові без зниження концентрації холестеролу ЛПВЩ (Marounek et al., 2007). Пектин впливав на збільшення ваги сліпої кишки, але не змінював гомеостаз холестеролу. Заміна гідрофільного пектину на його гідрофобне похідне (октадецилпектинамід) значно збільшила гіпохолостеролемічну активність (Marounek et al., 2007), поряд з цим гіполіпідемічний ефект спостерігався в досліді з амідованою целюлозою (Marounek et al., 2014). Тому метою даної роботи було вивчення гіпохолостеролемічної активності N-алкіламидованого альгінату, отриманого в результаті реакції з октадециламіном.

### Матеріал і методи досліджень

N-алкіламидований альгінат отримували з комерційно доступної альгінової кислоти (Sigma-Aldrich), яку спершу естерифікували метанолом, а далі отриманий метилестер був амінодезалкоксильований N-октадециламіном згідно попередньо описаної процедури (Synpysya et al., 2004).

Вісімнадцять самок щурів породи Wistar окремо утримувалися на основному раціоні впродовж 4-х тижнів. Потім щури були розділені на 3 групи (контрольну – 1 та дослідні – 2 і 3) по 6 тварин у кожній. Дослідні раціони 2 і 3 були доповнені холестеролом (10 г/кг) і N-алкіламидованим альгінатом у концентраціях 0 і 40 г / кг, відповідно. Тваринам 1, 2 і 3 груп давали пальмову олію (Aarhus Karlshamn Sweden AB

(Prague), у кількостях 60, 50 і 50 г/кг, відповідно) і целюлозу (60, 60 і 20 г/кг, відповідно). Корм для щурів (880 г/кг, містив грубий протеїн, клітковину, жир і холестерол у концентраціях 220, 46, 31 і 0,24 г/кг, відповідно) та воду давали вволю.

Фекалії збирали протягом останніх п'яти днів досліду, зважували, об'єднували і зберігали до проведення аналізу при  $-40^{\circ}\text{C}$ . У кінці експерименту щури отримували 4 г корму до їх декапітації, яку проводили після наркозу за допомогою інгаляції ізофлурану (Togrex Chiesi CZ, Ltd., Prague). Для отримання сироватки відбирали змішані зразки крові у тварин зразу ж після їх декапітації. У щурів після їх лапаротомії вирізали печінки, які згодом різали на шматочки та зберігали до їх аналізу при  $-40^{\circ}\text{C}$ .

У сироватці крові визначали холестерол (загальний і в ЛПНЩ), триацилгліцероли, активність аспартат- і аланін-амінотрансфераз (відповідно АсАТ і АлАТ), користуючись комерційними комплектами (Erba-Lachema, Ltd., Brno, Czech Rep.). Ліпіди (загальні в печінці і фекаліях), фекальні нейтральні стероли та жовчні кислоти визначали згідно роботи (Tuma et al., 2014).

Ефективність лікування оцінювали з використанням однофакторного дисперсійного аналізу, який був розрахований за допомогою програмного забезпечення Statistica 10 (StatSoft, Inc., Tulsa, U.S.A.). Вірогідні відмінності між групами ( $P < 0,05$ ) визначали за допомогою тесту Тьюки.

## Результати та їх обговорення

Споживання тваринами холестерольних добавок призводило до вірогідного зростання концентрації холестеролу в сироватці крові, печінці і фекаліях, а також до збільшення концентрацій холестеролу ЛПНЩ, фекального копростанолу, загальних нейтральних стеролів, жовчних кислот і загальних стеролів (табл. 1 і 2). У щурів, утримуваних на раціоні з холестерольною добавкою, додавання N-алкіламідованого альгінату вірогідно знижувало концентрацію холестеролу як загального, так і ЛПНЩ у сироватці крові, та холестеролу і загальних ліпідів у тканинах печінки.

Вживання щурами N-алкіламідованого альгінату вірогідно підвищувало активність амінотрансфераз у сироватці крові; однак підвищені активності істотно не відрізнялися від таких показників у тварин, що утримувалися на раціоні (1, контрольному). У щурів, яких годували згідно холестерол-вмісного раціону, споживання N-алкіламідованого альгінату вірогідно збільшувало у фекаліях концентрацію загальних нейтральних ліпідів, але не підвищувало концентрації холестеролу, копростанолу, жовчних кислот і загальних стеролів. У той же час спожитий N-алкіламідований альгінат вірогідно збільшував концентрацію жиру в калі щурів.

З наших результатів випливає, що N-алкіламідований альгінат є ефективним гіпохолестеролемічним агентом. Однак, це не узгоджується з обмеженим ефектом N-алкіламідованого альгінату на фекальну екскрецію холестеролу і жовчних кислот.

Таблиця 1

### Біохімічні показники сироватки крові та концентрація холестеролу і жиру в печінці щурів за дії N-алкіламідованого альгінату

| Раціон                              | 1                    | 2                  | 3                 |
|-------------------------------------|----------------------|--------------------|-------------------|
| Холестерол (г / кг)                 | 0                    | 10                 | 10                |
| N-алкіламідований альгінат (г / кг) | 0                    | 0                  | 40                |
| У сироватці крові                   |                      |                    |                   |
| Загальний холестерол (мкмоль/мл)    | $2,05 \pm 0,21^a$    | $3,30 \pm 0,82^b$  | $1,63 \pm 0,15^c$ |
| ЛПНЩ-холестерол (мкмоль/мл)         | $0,42 \pm 0,12^a$    | $1,65 \pm 0,83^b$  | $0,38 \pm 0,15^a$ |
| Триацилгліцероли (мкмоль/мл)        | $0,72 \pm 0,17$      | $1,10 \pm 0,71$    | $0,65 \pm 0,26$   |
| АсАТ (нкатал / мл)                  | $3,07 \pm 0,87^{ab}$ | $2,75 \pm 0,21^a$  | $3,69 \pm 0,60^b$ |
| АлАТ (нкатал / мл)                  | $0,95 \pm 0,17^a$    | $0,78 \pm 0,13^a$  | $1,19 \pm 0,21^b$ |
| У печінці                           |                      |                    |                   |
| Холестерол (мкмоль / г)             | $6,37 \pm 0,43^a$    | $29,23 \pm 3,72^b$ | $6,26 \pm 0,43^a$ |
| Загальні ліпіди (мг / г)            | $44,2 \pm 4,6^a$     | $77,5 \pm 13,2^b$  | $44,5 \pm 5,7^a$  |

<sup>a-c</sup>Значення в одному ряду з різними надрядковими символами вірогідно відрізняються ( $P < 0,05$ )

Таблиця 2

### Концентрації холестеролу, копростанолу, жовчних кислот і жиру у фекаліях щурів за дії N-алкіламідованого альгінату

| Раціон                                 | 1                   | 2                      | 3                    |
|--|---------------------|------------------------|----------------------|
| Холестерол (г / кг)                    | 0                   | 10                     | 10                   |
| N-алкіламідований альгінат (г / кг)    | 0                   | 0                      | 40                   |
| Загальний холестерол (мкмоль/г)        | $11,11 \pm 0,30^a$  | $61,46 \pm 6,26^b$     | $66,96 \pm 8,27^b$   |
| Копростанол (мкмоль/г)                 | $3,32 \pm 0,45^a$   | $13,90 \pm 5,43^b$     | $20,39 \pm 5,07^c$   |
| Загальні нейтральні стероли (мкмоль/г) | $19,45 \pm 0,63^a$  | $84,11 \pm 4,24^b$     | $95,38 \pm 10,42^c$  |
| Жовчні кислоти (мкмоль/г)              | $5,99 \pm 0,70^a$   | $13,12 \pm 1,64^b$     | $11,11 \pm 1,05^b$   |
| Загальні стероли (мкмоль/г)            | $25,44 \pm 0,64^a$  | $97,23 \pm 5,51^b$     | $106,48 \pm 10,49^b$ |
| Жир (мг / г)                           | $48,18 \pm 25,05^a$ | $61,31 \pm 20,83^{ab}$ | $90,83 \pm 12,61^b$  |

<sup>a-c</sup>Значення в одному ряду з різними надрядковими символами вірогідно відрізняються ( $P < 0,05$ )

Гіпохолестеролемічний ефект N-алкіламідованого альгінату, таким чином, відрізняється від амідованих пектинів, незважаючи на те, що два модифіковані полісахариди є полімерами на основі уронових кислот. Ефект амідованого пектину базується на перериванні ентерогепатичної циркуляції холестеролу (Marounek et al., 2013), в той час як ефект N-алкіламідованого альгінату – на видаленні жиру з кишечника через фекалії. Насичений жир може мати більший вплив на рівень холестеролу в сироватці крові, ніж на той, що надійшов з кормом (Lichtenstein et al., 2015). У відповідь на меншу доступність жиру виведення жовчних кислот було невірогідно нижчим у щурів, які утримувалися на раціоні, що містив N-алкіламідований альгінат, ймовірно, через знижений синтез жовчних кислот у печінці.

### Висновки

Амідований альгінат понижує холестеролемію у щурів, але в той же час має обмежений вплив на фекальну екскрецію холестеролу і жовчних кислот. Спостережуваний у даних дослідженнях гіпохолестеролемічний ефект N-алкіламідованого альгінату швидше базується на виведенні жиру з кишечника, ніж порушенні циркуляції холестеролу в печінці. Останнє твердження потребує подальших досліджень впливу амідованих полісахаридів на травні процеси тварин.

Попередні результати були представлені у вигляді стендової доповіді на сесії конференції «Полісахариди. Наука про вуглеводи». Дослідження проводилося за підтримки чеського дослідницького проекту MZE 0002701404.

### Бібліографічні посилання

Aspinall, G.O. (1970). Polysaccharides. Oxford: Pergamon Press.  
 Nechaev, A.P., Kochetkova, A.A., Zajcev, A.I. (2002). Pishhevye dobavki. M.: Kolos, Kolos-Press (in Russian).  
 Sandberg, A.S., Andersson, H., Bosaeus, I. (1994). Alginate, small bowel sterol excretion, and absorption of nutrients in ileostomy subjects. Amer. J. Clin. Nutr. 60(5), 751–756.

Paxman, J.R., Richardson, J.C., Dettmar, P.W., Corfe, B.A. (2008). Alginate reduces the increased uptake of cholesterol and glucose in overweight male subjects: a pilot study. Nutr. Res. 28(8), 501–505.  
 Brownlee, I.A., Allen, A., Pearson, J.P. (2005). Alginate as a source of dietary fiber. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 45(6), 497–510.  
 Wang, W., Yoshie, Y., Suzuki, T. (2003). Effect of alginate viscosity on digestibility and lipid metabolism in rats. Nippon Suisan Gakk. 69(1), 72–79.  
 Judd, P.A., Truswell, A.S. (1985). The hypocholesterolaemic effects of pectins in rats. Br. J. Nutr. 53(3), 409–425.  
 Terpstra, A.H.M., Lapre, J.A., De Vries, H.T., Beynen, A.C. (1998). Dietary pectin with high-viscosity lowers plasma and liver cholesterol concentration and plasma cholesteryl ester transfer protein-activity in hamsters. J. Nutr. 128(11), 1944–1949.  
 Fernandez, M.L. (1995). Distinct mechanisms of plasma LDL lowering by dietary fiber in the guinea pig: specific effects of pectin, guar gum, and psyllium. Lipid Res. 36(11), 2394–2404.  
 Marounek, M., Volek, Z., Synytsya, A., Čopíková, J. (2007). Effect of pectin and amidated pectin on cholesterol homeostasis and cecal metabolism in rats fed a high-cholesterol diet. Physiol. Res. 56(4), 433–442.  
 Marounek, M., Voljek, Z., Tuma, J. (2014). Gipolipidemichnyj efekt amidovanoi' celjulozy. Naukovyj visnyk LNUVMBT im. S.Z. G'zhyc'kogo, L'viv. 16, 3(60), 205–212 (in Ukrainian).  
 Synytsya, A., Čopíková, J., Marounek, M. (2004). N-octadecylpectinamide, a hydrophobic sorbent based on modification of highly methoxylated citrus pectin. Carb. Polym. 56(2), 169–179.  
 Tuma, J., Volek, Z., Synytsya, A. (2014). Hydrophobically modified celluloses as novel cholesterol-lowering polymers. Bioresources. 9, 4266–4273.  
 Marounek, M., Volek, Z., Dušková, D. (2013). Dose-response efficacy and long-term effect of the hypocholesterolemic effect of octadecylpectinamide in rats. Carb. Polym. 97(2), 772–775.  
 Lichtenstein, A.H., Kennedy, E., Barrier, P. (1998). Dietary fat consumption and health. Nutr. Rev. 56(5), 3–19.

Стаття надійшла до редакції 19.09.2016