

УДК 577.121+615.324

ОЦЕНКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛИПИДНОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ТУНИКИ МОРСКОГО ГИДРОБИОНТА *HALOCYNTHIA AURANTIUM* (PALLAS, 1774)

© 2024 г. Н. Ф. Кушнерова* @, С. Е. Фоменко*, В. Г. Спрыгин*,
Т. В. Момот**, Е. С. Другова*, Л. Н. Лесникова*, В. Ю. Мерзляков*

*Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН,
ул. Балтийская, 43, Владивосток, 690041 Россия

**Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова МЗ РФ
(Сеченовский Университет), ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Москва, 119991 Россия

@E-mail: natasha50@mail.ru

Поступила в редакцию 11.09.2023 г.

После доработки 03.11.2023 г.

Принята к публикации 03.11.2023 г.

Изучены тератогенный и эмбриотоксический эффекты экстракта из туники асцидии *Halocynthia aurantium*, а также его применение в условиях, переохлаждения, перегревания, мышечной нагрузки, введении гексенала и вертикальной фиксации за дорсальную шейную складку. Стресс-вертикальная фиксация крыс сопровождалась увеличением в плазме крови уровня общих липидов, общего холестерина, коэффициента холестерин/фосфолипиды и снижением общих фосфолипидов, а также изменением количественных характеристик классов нейтральных и фосфолипидов. Проведена коррекция полученных изменений липидным экстрактом асцидии и коммерческим препаратом сравнения Омега-3. Липидный экстракт *H. aurantium* показал более высокую эффективность в восстановлении липидного состава плазмы крови при стрессе по сравнению с препаратом Омега-3 за счет более широкого спектра нейтральных и фосфолипидных классов, полиненасыщенных жирных кислот семейств n-3 и n-6. Туника асцидии может использоваться как сырье для получения препаратов со стресспротекторными и липидкорректирующими свойствами.

Ключевые слова: *Halocynthia aurantium*, липидный экстракт, переохлаждение, перегревание, мышечная нагрузка, эмбриотоксичность, тератогенность, стресс, плазма крови, липиды

DOI: 10.31857/S1026347024040022, **EDN:** VJDMO

Морские гидробионты являются перспективными сырьевыми источниками для фармацевтической промышленности. Изучение биологической активности субстанций, выделенных из морских гидробионтов, связано с нахождением в них липидных структур, в частности фосфолипидов, содержащих жирные кислоты, которые входят в семейства n-3 и n-6. На Дальнем Востоке РФ интенсивно изучаются препараты, получаемые из трепанга, кукумарии, двусторчатых моллюсков, морских звезд, панциря креветки и прочих гидробионтов. Так, в исследованиях Т.П. Новгородцевой и соавт. (Новгородцева и др. 2010) отмечалось присутствие в гепатопанкреасе камчатского краба жирных кислот семейства n-3 и 1-О-алкил-диацилглицерина, которые способствуют нормализации параметров иммунной, антиоксидантной, липидтранспортной и гепатобилиарной систем при высокожировой нагрузке. А.А. Артюков и соавт. (Артюков и др., 2012)

установили, что выделенный из панциря морского ежа *Scaphechinus mirabilis* пигмент нафтохиноновой природы (фармакологическая субстанция Эхинохром А) способствовал восстановлению липидного и углеводного обмена у больных диабетом 2 типа, обладал высокими антиоксидантными свойствами и может быть использован как средство для лечения и профилактики ишемической болезни сердца. В работе Н.М. Саниной и соавт. (Sanina et al., 2012) было доказано, что комплекс кукумариозидов из морского гидробионта *Cuscutaria japonica* с холестерином и моногалактозилдиацилглицерином в соотношении 3 : 2 : 6 может служить носителем субъединичных антигенов и являться высокоэффективным адъювантом. В исследовании (Hou et al., 2018) отмечалось, что спинохромы морских ежей обладают антиоксидантной, цитотоксической, кардиопротекторной активностью. Также была показана (Klimovich et al., 2018) эффективность смеси

оксигенированных каротиноидов (астаксантин, лютеин и зеаксантин) из морской звезды *Patiria pectinifera* при моделировании кожного канцерогенеза, аллергических и воспалительных патологий. Известны работы по изучению влияния экстрактов из морских водорослей Японского моря (*Saccharina* (= *Laminaria*) *japonica*, *Ulva lactuca*, *Sargassum pallidum*, *Ahnfelthia tobuchiensis*) в условиях экспериментальных моделей физического и химического стресса на лабораторных животных (крысы, мыши) (Фоменко и др., 2019; Кушнерова и др., 2022; Спрыгин и др., 2022).

Большой научный интерес вызывают гидробионты, которые в пищу не используются, в частности асцидия пурпурная — *Halocynthia aurantium*., по зоологической систематике относящаяся к типу хордовых (Chordata), подтипу оболочников (Tunicata), классу асцидий (Ascidiaceae), отряду складчатожабренных асцидий (Stolidobranchiata) (Явнов, 2010). Они распространены в дальневосточных и арктических морях на глубине от 4 до 400 метров. В заливе Петра Великого Японского моря присутствуют особи длиной от 6.5 до 27.5 см и массой от 52 до 950 г. Кожно-мускульный мешок (туника) имеет толщину от 2.4 до 5.0 мм (Матросова, Лескова, 2016). Асцидию часто находят в прилове рыбы. Перспективным направлением может быть ее разведение путем марикультуры (Bullard et al., 2013). В тунике асцидии присутствует широкий спектр биологически активных веществ: липидные структуры, белки, углеводы и др. Водно-спиртовый экстракт из туники в эксперименте на лабораторных животных (крысы) способствовал восстановлению лейкоцитарной формулы при лучевом поражении (Пономарева, 2018), экспериментальном стрессе (Фоменко и др., 2012). Биологически активные вещества из морских гидробионтов способствуют поддержанию репродуктивного здоровья (Hoang et al., 2022), обладают противоопухолевыми и антиоксидантными свойствами (Jo et al., 2010; Кривошапко, Попов, 2011), являются источниками аминокислот (Tabakaeva, Tabakaev, 2017) и стимуляторами иммунной системы (Моторя и др., 2009; Jang et al., 2022). В то же время данные о липидном экстракте, как о препарате с фармакологическими свойствами, выделенном из туники асцидии пурпурной, ограничены. Показана противовоспалительная активность жирных кислот из туники *H. aurantium*, которые подавляли воспаление, а производство PGE2 дозозависимо увеличивалось от их концентрации (Monmai et al., 2018). Туника может быть важным сырьевым источником для получения эйкозапентаеновой и докозагексаеновой жирных кислот, которые являются предшественниками противовоспалительных эйкозаноидов и докозаноидов и могут регулировать противовоспалительную активность (Lee et al., 2016). Такой многокомпонентный состав липидного экстракта, выделенного из туники

асцидии обусловил провести исследование спектра его фармакологических эффектов.

Цель работы — исследование липидного состава экстракта из туники асцидии пурпурной и изучение его некоторых фармакологических эффектов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы асцидии пурпурной (*Halocynthia aurantium*) собирали в летний период в б. Западная, о-в Попова, зал. Петра Великого (Японское море). Для исследования использовали 50 единиц особей. Тунику отделяли от внутренностей и подошвы, промывали водопроводной водой и сушили при температуре, не превышающей 50°C. Высушенную тунику измельчали на лабораторной мельнице до размеров 0.5–1.0 мм и экстрагировали смесью хлороформ : метанол (2 : 1 по объему) (Bligh, Dyer, 1959). Для получения величины общих липидов использовали весовой метод. Стандартизацию липидного экстракта проводили по значению общих липидов и дозу вводимого препарата рассчитывали в мг общих липидов на 1 кг массы животного (Новгородцева, 2010). Острую токсичность липидного экстракта (ЛД₅₀) определяли по методу Кербера (Миронов, 2012). Все исследования проводили на беспородных белых крысах-самцах массой 150 ± 5 г. Эксперименты по исследованию липидного экстракта асцидии в условиях беременности — на беспородных белых крысах-самках массой 150 ± 3 г. Животные были получены из питомника филиала “Столбовая” ФГБУН “Научный центр биомедицинских технологий” ФМБА России. Исследования на животных выполнены в соответствии с приказом Минздравсоцразвития России от 01.04.2016 № 199н “Об утверждении Правил лабораторной практики” и требованиями ГОСТ Р 53434-2009 “Принципы надлежащей лабораторной практики”. До начала эксперимента в течение 7 сут животных адаптировали в виварии: ежедневно осматривали внешнее состояние и в эксперимент брали животных без нарушений в состоянии здоровья. Далее крыс делили на экспериментальные группы. В режиме свободного доступа животных кормили ежедневно в назначенное время, а питьевую воду они получали без ограничений.

Исследование эмбриотоксического и тератогенного действия проводили в соответствии с руководством (Фисенко, 2000). В эксперимент отбирали половозрелых крыс-самок с правильным эстральным циклом, у которых в течение 1–2 недель исследовали вагинальные мазки. К этим крысам подсаживали самцов для спаривания. День обнаружения сперматозоидов во влагалище считали первым днем беременности. Разделили 20 беременных крыс-самок на 2 группы по 10 животных в каждой. Крысам 1-й группы (контроль) в течение 20 сут беременности

внутрижелудочно вводили физиологический раствор в дозе 1 г/кг массы животного. Животным 2-й группы в период беременности вводили внутрижелудочно липидный экстракт асцидии в дозе 1 г/кг массы животного. Крыс обеих групп декапитировали через 20 сут беременности (физиологическая беременность). Животных вскрывали и производили осмотр яичников, матки и плодов. Количество живых плодов, их масса и краниокаудальный размер характеризовало показатель эмбриотоксичности. Число плодов с пороками развития характеризовало тератогенную активность. Визуально учитывали пороки развития (глаза, конечности, хвост, передняя брюшная стенка).

Стрессовое воздействие, такое как бег по бесконечному канату, повышение или понижение температуры, интоксикация гексеналом исследовали по руководству А.Н. Миронова (Миронов, 2012). Животные при каждом стрессовом воздействии были разделены на 2 группы по 10 животных в каждой. Первая группа (контроль) — внутрижелудочно вводили физиологический раствор, вторая группа — внутрижелудочно вводили липидный экстракт асцидии в дозе 1 г/кг массы. Через 60 мин после введения физраствора или липидного экстракта, животных подвергали стрессовому испытанию.

Время бега мышей по бесконечному канату до полной усталости определяло актопротекторное действие. В камере термостата ТС-80-У4.2 исследовали устойчивость животных к перегреванию ($+42^{\circ}\text{C}$). Начинали измерение ректальной температуры за 1 час до начала перегревания и через 120 мин нахождения в термостате. Замеры ректальной температуры проводили медицинским термометром Литтл Доктор LD-300. От начала перегревания и до момента гибели животных оценивали продолжительность их жизни. В термостатированном рефрижераторе при температуре -8°C в течение 120 мин отмечали устойчивость крыс к переохлаждению. За 1 ч до охлаждения и через 120 мин нахождения в холодильной камере проводили измерение ректальной температуры. При внутрибрюшинном введении гексенала (гексеналовая интоксикация) в дозе 50 мг/кг оценивали продолжительность сна от его начала и до выхода животных из бокового положения (Миронов, 2012).

Следующий этап экспериментального исследования состоял в изучении воздействия липидного экстракта асцидии и препарата сравнения Омега-3 на показатели липидного обмена плазмы крови крыс в условиях стресс-вертикальной фиксации. Стресс моделировали путем фиксации животных за дорсальную шейную складку на 24 ч (Кушнерова и др., 2005). Препараты вводили внутрижелудочно через зонд непосредственно перед вертикальной фиксацией и через 6 ч после первого введения. В 1 г препарата “Омега-3” (Now Foods, USA) содержится 350 мг насыщенных жирных кислот,

350 мг моноеновых жирных кислот, 300 мг Омега-3 жирных кислот, представленных эйкозапентаеновой кислотой — 180 мг и докозагексаеновой кислотой — 120 мг. В исследовании были выделены четыре группы по 10 животных в каждой: первая группа — контроль (интактные); вторая группа — стресс (вертикальная фиксация); третья группа — стресс + липидный экстракт асцидии; четвертая группа — стресс + препарат Омега 3.

Для получения плазмы крови использовали общепринятый метод центрифугирования. Затем из плазмы крови выделяли экстракты общих липидов (Folch et al., 1957), в которых определяли величины отдельных классов фосфолипидов и нейтральных липидов. Содержание общих липидов, общих фосфолипидов, общего холестерина в плазме крови определяли с помощью диагностических наборов “Ольвекс диагностикум” (Россия). Анализ фосфолипидного состава липидного экстракта плазмы крови крыс проводили с помощью двумерной микротонкослойной хроматографии (МТСХ) на стеклянных пластинках 6х6 см с силикагелем марки “КСК” (Svetashev, Vaskovsky, 1972). Фосфолипиды делились на классы в системе растворителей (Vaskovsky, Terekhova, 1979), для проявления фосфолипидных классов на пластинке применяли молибденово-кислый реактив (Vaskovsky et al., 1975). Специфическое обнаружение классов фосфолипидов, в состав которых входила аминокислотная группа (фосфатидилэтаноламин, лизофосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин), обнаруживали 0.2% раствором нингидрина в ацетоне (Rouser et al., 1967), холиновая группа (фосфатидилхолин, лизофосфатидилхолин, сфингомиелин) — реактив Драгендорфа (Кейтс, 1975), гидроксильная группа (фосфатидилинозит) — периодатный реактив Шиффа (Кейтс, 1975). Величины индивидуальных классов фосфолипидов определяли спектрофотометрически с помощью универсального молибдатного реактива (Vaskovsky et al., 1975). Классы нейтральных липидов разделяли методом одномерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле (Amenta, 1964). Для идентификации пятен липидов использовали очищенные препараты отечественного производства (Реахим, Россия). Расчет величин отдельных классов нейтральных и фосфолипидов выражали в процентах от их общей суммы, соответственно.

Состав и величины жирных кислот в липидном экстракте из туники асцидии исследовали методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ). При переэтерификации липидов получали метиловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) (Carreau, Dubacq, 1978) и очищали их с помощью МТСХ. Исследование МЭЖК проводили на газовом хроматографе “ЛХМ-2000” (ОАО “Хроматограф”, Россия) с пламенно-ионизационным детектором, капиллярной колонкой HP-5-MS с 5% фенилметилсилоксаном

(30 м × 0.25 мм, “Agilent”, США). Газ-носитель – гелий, температура инжектора 180°C, скорость потока 50 мл/мин. МЭЖК идентифицировали путем сравнения времени удерживания с известными стандартами по значениям углеродных чисел (Christie, 1988). Результаты рассчитывали в процентах от суммы жирных кислот.

По окончании каждого эксперимента животных декапитировали под легким эфирным наркозом с соблюдением “Правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях” (Страсбург, 1986). Дизайн эксперимента был одобрен Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН (протокол № 19 от 12 апреля 2022 г.).

Полученные данные обрабатывали по статистической программе Instat 3.0 (Graph Pad. Software Inc. USA, 2005) со встроенной процедурой проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Статистическую значимость различий при межгрупповых сравнениях определяли с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни и параметрического t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Липидный экстракт из туники асцидии представляет собой маслообразную массу желто-коричневого цвета. В табл. 1 представлен липидный состав экстракта. Количество общих липидов составляло 35.48 ± 0.70 мг/г сухой ткани, что включало 49.0% (17.38 ± 0.26 мг/г сухой ткани) нейтральных липидов и 51.0% (18.1 ± 0.21% мг/г сухой ткани) фосфолипидов. В ряду нейтральных классов липидов по количеству преобладали триацилглицерины, воска и свободные жирные кислоты (от 17 до 23%). В состав липидного экстракта туники входит 8 классов фосфолипидов, что соответствует известным в литературе данным (Kostetsky et al., 2012). Отмечается высокий уровень фосфатидилхолина (ФХ), а значения фосфатидилэтаноламина (ФЭ), фосфатидилсерина (ФС) и дифосфатидилглицерина (ДФГ) находились в интервале от 10% до 12%. Эти классы фосфолипидов необходимы в метаболических реакциях организма. В общих липидах экстракта насыщенные жирные кислоты составляли 46.9%, ненасыщенные жирные кислоты – 53.1%, что согласуется с литературными данными (Sanina et al., 2001). Из индивидуальных ЖК по величинам преобладали пальмитиновая (16 : 0), стеариновая (18 : 0) и α-линоленовая (18 : 3 n-3) кислоты. В экстракте отмечается достаточно большое количество полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК): кислоты семейства n-3 составляли 32.59%, что в 3 раза превышало содержание ПНЖК семейства n-6 (9.92%).

Таблица 1. Количественный состав нейтральных липидов, фосфолипидов и жирных кислот в общих липидах туники асцидии пурпурной (M ± m, в % от общей суммы)

Биохимические параметры	Показатели
Нейтральные липиды, % от суммы всех классов	
Диацилглицерины	9.10 ± 0.92
Триацилглицерины	26.97 ± 1.45
Холестерин	4.35 ± 0.70
Свободные жирные кислоты	16.98 ± 1.20
Метилловые эфиры жирных кислот	7.26 ± 0.95
Жирные альдегиды	4.74 ± 1.10
Эфиры холестерина	6.71 ± 0.12
Воска	23.89 ± 2.60
Фосфолипиды, % от суммы всех классов	
Фосфатидилхолин	50.80 ± 1.34
Лизофосфатидилхолин	3.00 ± 0.12
Сфингомиелин	6.11 ± 0.40
Фосфатидилэтаноламин	10.53 ± 0.74
Лизофосфатидилэтаноламин	2.94 ± 0.08
Фосфатидилинозит	4.79 ± 0.52
Фосфатидилсерин	11.73 ± 2.41
Дифосфатидилглицерин	10.10 ± 1.95
Жирные кислоты, % от суммы всех жирных кислот	
12 : 0 (лауриновая)	1.10 ± 0.01
14 : 0 (миристиновая)	4.63 ± 0.99
16 : 0 (пальмитиновая)	23.80 ± 2.10
18 : 0 (стеариновая)	17.37 ± 2.00
16 : 1 n-9 (пальмитолеиновая)	5.70 ± 1.30
18 : 1 n-9 (олеиновая)	4.89 ± 0.40
18 : 2 n-6 (линолевая)	1.13 ± 0.10
20 : 3 n-6 (эйкозатриеновая)	1.20 ± 0.40
20 : 4 n-6 (арахидоновая)	4.69 ± 0.55
22 : 4 n-6 (докозатетраеновая)	2.90 ± 0.60
18 : 3 n-3 (α-линоленовая)	15.85 ± 0.20
20 : 5 n-3 (эйкозапентаеновая)	10.98 ± 0.55
22 : 6 n-3 (докозагексаеновая)	5.76 ± 0.54

На основании полученных результатов следует, что липидный экстракт из туники асцидии является источником биологически активных веществ и, в перспективе, может быть использован для получения эффективных лекарственных препаратов и биологически активных добавок.

При исследовании острой токсичности экстракта было определено, что она составляет 2350 мг/кг, поэтому данная субстанция может относиться к 4 классу токсичности (как малоопасная).

Результаты исследования по влиянию липидного экстракта асцидий на организм при физиологической беременности и стрессовом воздействии представлены в табл. 2, 3.

Таблица 2. Тестирование липидного экстракта асцидии при физиологической беременности и стрессовом воздействии ($M \pm m$)

Показатели	1 группа Контроль (физраствор)	2 группа Липидный экстракт асцидии
Количество плодов на 20-й день беременности (%): живых	84.0 $\pm$ 2.0	91.0 $\pm$ 2.31
с уродствами	16.0 $\pm$ 2.2	9.0 $\pm$ 1.71
Средняя масса живых плодов (г)	2.4 $\pm$ 0.02	2.8 $\pm$ 0.053
Средний краниокаудальный размер плодов (см)	3.1 $\pm$ 0.02	3.2 $\pm$ 0.031
Пол плодов:		
самцы	48 $\pm$ 2	44 $\pm$ 2
самки	52 $\pm$ 3	56 $\pm$ 3
Величина снижения ректальной температуры при переохлаждении (-8°C , 120 мин, град)	-2.12 ± 0.07	-1.82 ± 0.033
Величина прироста ректальной температуры при перегревании ($+42^{\circ}\text{C}$, 120 мин, град)	$+3.93 \pm 0.10$	$+3.82 \pm 0.15$
Величина продолжительности жизни при перегревании ($+42^{\circ}\text{C}$, мин)	127.31 $\pm$ 2.70	136.79 $\pm$ 2.751
Величина мышечной работы на бесконечном канате (мин)	27.24 $\pm$ 1.13	40.17 $\pm$ 1.523
Гексеналовый сон (мин)	25.74 $\pm$ 1.66	11.33 $\pm$ 1.723

Примечание: по сравнению с контролем ¹ – $p < 0.05$; ² – $p < 0.01$; ³ – $p < 0.001$.

Исследование эмбриотоксического и тератогенного эффектов

Введение липидного экстракта асцидии сопровождалось статистически достоверным ростом относительно контроля количества живых плодов на 8% ($p < 0.05$) (табл. 2). Средняя масса живых плодов была на 17% ($p < 0.001$) больше, чем в контроле. Средний краниокаудальный размер плодов у этой группы животных также был больше на 3% ($p < 0.05$). Количество плодов в зависимости от пола статистически достоверно не различалось, но тенденция к большему рождению самок, чем самцов, прослеживалась. При введении липидного экстракта асцидии также отмечалось снижение количества плодов с уродствами по сравнению с контролем в среднем на 44% ($p < 0.05$). Аномалии развития плодов были в виде крипторхизма и неполного окостенения грудины.

Переохлаждение. У животных обеих групп (контроль и опыт) под действием переохлаждения понижалась ректальная температура. При введении экстракта асцидии отмечалось сдерживание падения ректальной температуры на 14% ($p < 0.001$).

Перегревание. При нахождении в камере термостата у крыс обеих групп повысилась ректальная температура. Однако различия между группами были статистически недостоверные.

Время продолжительности жизни при перегревании. При введении липидного экстракта асцидии

отмечалось увеличение продолжительности жизни крыс в среднем на 7.4% ($p < 0.05$) по сравнению с таковой у контрольных животных.

Мышечная нагрузка. На установке бесконечный канат время бега животных после введения липидного экстракта асцидии увеличилось в среднем на 47% ($p < 0.001$) по сравнению с контролем.

Инттоксикация гексеналом (гексеналовый сон). Длительность сна у крыс в группе с введением экстракта из туники асцидии уменьшилась на 56% ($p < 0.001$) по сравнению с таковой в контроле.

Стресс-вертикальная фиксация. При исследовании биохимических показателей в плазме крови был отмечен рост количества общих липидов (ОЛ) на 39% ($p < 0.001$). Уровень общего холестерина был повышен в 1.4 раза ($p < 0.01$), а общих фосфолипидов снижен на 20% ($p < 0.001$) (табл. 3). Это обусловило увеличение в 1.8 раза ($p < 0.001$) значения соотношения холестерина/фосфолипиды. То есть, при стресс-вертикальной фиксации животных в плазме крови отмечалась выраженная дислипидемия. Значения индивидуальных классов нейтральных липидов достоверно отличались от контроля (табл. 3). Так, уровень триацилглицеринов (ТАГ) был повышен на 13% ($p < 0.001$). Значение свободных жирных кислот (СЖК) и холестерина (ХС) возросло в среднем на 15 и 19% ($p < 0.001$), соответственно. При этом отмечалось снижение величины эфиров холестерина (ЭХС) на 12% ($p < 0.001$). Под действием стресса происходит рассогласование значений фосфолипидных

Таблица 3. Биохимические показатели плазмы крови при воздействии стресса и его коррекции липидным экстрактом из туники асцидии и Омега 3 ($M \pm m$)

Показатели	1 группа Контроль	2 группа Стресс	3 группа Стресс + асцидия	4 группа Стресс + Омега 3
Общие липиды (г/л)	4.73 $\pm$ 0.13	6.58 $\pm$ 0.20 ³	4.68 $\pm$ 0.18 ^в	5.27 $\pm$ 0.151, ^{в, *}
Общие фосфолипиды (ммоль/л)	2.50 $\pm$ 0.05	2.00 $\pm$ 0.04 ³	2.57 $\pm$ 0.06 ^в	2.48 $\pm$ 0.04 ^в
Общий холестерин (ммоль/л)	2.90 $\pm$ 0.02	4.17 $\pm$ 0.04 ³	3.00 $\pm$ 0.05 ^в	3.36 $\pm$ 0.033, ^{в, ***}
Холестерин Фосфолипиды	1.16 $\pm$ 0.03	2.08 $\pm$ 0.02 ³	1.16 $\pm$ 0.03 ^в	1.35 $\pm$ 0.033, ^{в, ***}
Нейтральные липиды				
ТАГ	24.00 $\pm$ 0.28	27.11 $\pm$ 0.29 ³	23.80 $\pm$ 0.31 ^в	24.77 $\pm$ 0.26 ^{в, *}
СЖК	13.08 $\pm$ 0.25	15.00 $\pm$ 0.27 ³	13.20 $\pm$ 0.19 ^в	13.77 $\pm$ 0.17 ^{в, *}
ХС	15.00 $\pm$ 0.31	17.90 $\pm$ 0.30 ³	14.42 $\pm$ 0.18 ^в	15.61 $\pm$ 0.14 ^{в, ***}
ЭХС	18.11 $\pm$ 0.21	16.00 $\pm$ 0.20 ³	18.20 $\pm$ 0.21 ^в	17.47 $\pm$ 0.25 ^{в, *}
Остаточная фракция	29.81 $\pm$ 0.70	23.99 $\pm$ 0.44	30.38 $\pm$ 0.62	28.48 $\pm$ 0.49
Фосфолипиды				
ФХ	63.08 $\pm$ 0.70	57.86 $\pm$ 0.87 ³	63.65 $\pm$ 0.72 ^в	62.00 $\pm$ 0.69 ^в
ЛФХ	8.00 $\pm$ 0.20	10.20 $\pm$ 0.33 ³	7.88 $\pm$ 0.37 ^в	8.97 $\pm$ 0.16 ^{в, *}
СМ	8.92 $\pm$ 0.24	11.94 $\pm$ 0.24 ³	8.64 $\pm$ 0.11 ^в	9.38 $\pm$ 0.25 ^в
ФЭ	10.15 $\pm$ 0.63	8.37 $\pm$ 0.211	9.89 $\pm$ 0.14 ^в	9.66 $\pm$ 0.22 ^в
ЛФЭ	3.17 $\pm$ 0.14	4.95 $\pm$ 0.13 ³	2.92 $\pm$ 0.11 ^в	3.71 $\pm$ 0.11 ^{в, *}
ФИ+ФС	3.68 $\pm$ 0.13	4.45 $\pm$ 0.162	3.98 $\pm$ 0.13 ^а	3.84 $\pm$ 0.13 ^а
ДФГ	3.00 $\pm$ 0.05	2.23 $\pm$ 0.033	2.94 $\pm$ 0.07 ^в	2.44 $\pm$ 0.05 ^{в, *}

Примечание. Различия статистически достоверны при: 1, а, * – $p < 0.05$; 2, б, ** – $p < 0.01$; 3, в, *** – $p < 0.001$. Цифры – по сравнению с контролем; буквы – по сравнению со 2-й группой, звездочки – по сравнению с 3-й группой. ТАГ – триацилглицерины, СЖК – свободные жирные кислоты, ХС – холестерин, ЭХС – эфиры холестерина, ФХ – фосфатидилхолин, ЛФХ – лизофосфатидилхолин, СМ – сфингомиелин, ФЭ – фосфатидилэтаноламин, ЛФЭ – лизофосфатидилэтаноламин, ФС – фосфатидилсерин, ФИ – фосфатидилинозит, ДФГ – дифосфатидилглицерин. Остаточная фракция – Воски+углеводороды+метиловые эфиры жирных кислот.

классов в плазме крови. Снижен уровень фосфатидилхолина (ФХ) на 8% ($p < 0.001$), фосфатидилэтаноламина (ФЭ) – на 18% ($p < 0.05$) и дифосфатидилглицерина (ДФГ) – на 26% ($p < 0.001$). Следует отметить увеличение значения лизоформ фосфолипидов (ФЛ) – лизофосфатидилхолина (ЛФХ) – на 28% ($p < 0.001$) и лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ) – на 56% ($p < 0.001$). На фоне роста количества лизоформ отмечалось увеличение отношения ЛФХ/ФХ с 0.13 в контроле до 0.18 при стрессе, а ЛФЭ/ФЭ с 0.31 в контроле до 0.59 при стрессе. Уровень сфингомиелина (СМ) увеличился на 34% ($p < 0.001$), а сумма метаболически активных фосфолипидов (фосфатидилинозит и фосфатидилсерин – ФИ + ФС) – на 21% ($p < 0.01$).

Введение липидного экстракта асцидии и препарата сравнения Омега-3 сопровождалось тенденцией к снятию состояния дислипидемии, но степень нормализующего эффекта различалась. Так, при введении липидного экстракта асцидии

количество общих липидов в плазме крови снизилось на 29% ($p < 0.001$), а при введении Омега-3 – на 20% ($p < 0.01$). Значение общих фосфолипидов возросло в среднем на 29% ($p < 0.001$) (3 группа) и на 24% ($p < 0.05$) (4 группа). Уровень холестерина снизился на 28% ($p < 0.001$) и 20% ($p < 0.001$), соответственно, что обусловило снижение величины соотношения ХС/ФЛ на 44% ($p < 0.001$) при введении липидного экстракта асцидии и на 35% ($p < 0.001$) при введении Омега-3.

Результаты сравнения величин классов нейтральных липидов в плазме крови 3-й и 4-й групп относительно 2-й группы (стресс) показали, что введение препаратов сопровождалось снижением уровня ТАГ на 12% (3 группа, $p < 0.001$) и на 9% (4 группа, $p < 0.001$), СЖК – на 12% и 8% ($p < 0.001$), ХС – на 20% и 13% ($p < 0.001$) соответственно. Значения ЭХС в плазме крови крыс обеих групп возросли в среднем на 14% и 9% ($p < 0.001$) соответственно. Достоверные различия отмечались при сравнении

значений классов фосфолипидов в 3-й и 4-й группах со 2-й группой. Так, количество ФХ выросло в обеих группах в среднем на 7–10% ($p < 0.01–0.001$) при одновременном снижении ЛФХ на 23% и 12% ($p < 0.01–0.001$), а соотношение величин ЛФХ/ФХ составляло 0.12 и 0.14 соответственно. Величина сфингомиелина снизилась на 28% при ведении экстракта асцидии и на 21% ($p < 0.001$) при введении Омега-3. Также отмечалось увеличение уровня ФЭ на 15–18% ($p < 0.001$). Одновременно отмечалось снижение количества ЛФЭ на 41% (3 группа) и 25% (4 группа) ($p < 0.001$), что обусловило снижение ЛФЭ/ФЭ до 0.3 и 0.38 соответственно. В ряду метаболически активных классов фосфолипидов обращает на себя внимание снижение величины суммарной фракции ФИ+ФС в среднем на 11–14% ($p < 0.05$), а также увеличение уровня ДФГ на 32% в 3-й группе ($p < 0.001$) и на 9% ($p < 0.001$) в 4-й группе.

Следует отметить, что при введении препарата сравнения Омега-3 отмечались статистически достоверные различия с контролем. Это проявилось в повышенном уровне общих липидов на 11% ($p < 0.05$), ХС и соотношения ХС/ФЛ – в среднем на 16% ($p < 0.001$). Среди фосфолипидных классов обращают на себя внимание достоверные отличия от контроля в значениях ЛФХ (увеличение на 14%, $p < 0.01$), ЛФЭ (увеличение на 27%, $p < 0.001$) и ДФГ (снижение на 17%, $p < 0.001$). Таким образом, введение липидного экстракта асцидии и препарата Омега-3 при стрессе имело общую тенденцию к восстановлению величин фосфолипидных классов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основании полученных результатов следует, что у липидного экстракта асцидии отмечались низкие показатели острой токсичности, что дает возможность характеризовать его как безвредный препарат. Это обусловило отсутствие эмбриотоксического и тератогенного эффектов. Отмечалось большее количество живых плодов, их массы и размеров, чем в контрольной группе. Таким образом, фармакологический эффект липидного экстракта асцидии обусловлен участием липидных составляющих препарата в метаболических реакциях по поддержанию гомеостаза в материнском организме в период беременности. Исследования показали позитивный характер действия препарата в эмбриональный период. Предотвращение тератогенного эффекта обусловлено, по нашему мнению, присутствием в препарате основных структурных компонентов мембран (фосфолипидные классы) и метаболитов (нейтральные классы липидов) для построения органов и тканей растущего организма. Экспериментальные исследования по изучению фармакологических эффектов липидного экстракта из туники асцидии на моделях

перегревания, переохлаждения, мышечной нагрузки, гексеналовой интоксикации, входящих в стереотипный перечень факторов, используемых при изучении стресс-протекторных средств, показали ярко выраженное защитное действие препарата. По-видимому, биохимический механизм этого феномена обусловлен усилением энергетического обмена за счет присутствия энергетически богатых компонентов препарата (СЖК, ТАГ, ПНЖК). Присутствие в нем метаболически активных фосфолипидов (ФИ + ФС), а также ДФГ, необходимых для функционирования цепи переноса электронов в митохондриях, способствовало восстановлению метаболических путей получения энергии в цикле Кребса. В эксперименте с перегревом отмечается увеличение продолжительности жизни, которое обусловлено, по нашему мнению, сохранением метаболических реакций за счет входящих в экстракт метаболитов и ПНЖК семейства n-3 и n-6, являющихся биорегуляторами и предшественниками биологически активных эйкозаноидов. Кроме того известно, что ПНЖК n-3 и n-6 участвуют в индукции ферментов антиоксидантной системы глутатиона (глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза) (Nieto et al., 1998), что необходимо при стрессе для защиты от радикального повреждения мембран.

При проведении гексеналовой пробы предварительное введение экстракта асцидии животным значительно сокращало сон, что свидетельствует о сохранении антитоксической функции печени.

У животных 2-й группы “стресс-вертикальная фиксация” отмечалось формирование дислипидемии. Исследование показателей нейтральных классов липидов в плазме крови показало выраженную гипертриглицеринемию и гиперхолестеринемию, а также увеличение СЖК и снижение ЭХС. Полученные результаты обусловлены усилением липолитических процессов в жировой ткани, что связано с повышенным выбросом катехоламинов из надпочечников (Солин и др., 2013). Также известно интенсивное использование гликогена печени, что активирует путь получения энергии при β -окислении СЖК. Это приводит к образованию избытка ацетил-КоА и синтезу ХС. Также блокируется путь образования ФЛ из ТАГ, что обусловлено угнетением реакции этерификации. В результате в печени формируется жировой гепатоз за счет накопления ТАГ, а в крови и печени уменьшен уровень ЭХС (Момот и др., 2016.). Снижение значений основных структурных фосфолипидов (ФХ и ФЭ) вызвано как ростом активности фосфолипаз, так и переокислением жирных кислот, входящих в их состав. В результате происходит рост значений СЖК и лизосоединений (ЛФХ и ЛФЭ). Увеличение количества СМ, относящегося к группе холиносодержащих классов фосфолипидов, по нашему мнению, является замещающим

механизмом при снижении значения ФХ. Тот факт, что уменьшились значения ФС + ФИ и ДФГ, предполагает нарушение функционирования мембранных ферментов и транспортной функции.

Введение липидного экстракта асцидии и препарата сравнения Омега-3 имели общую тенденцию в нормализации липидного обмена. По-видимому, этот феномен обусловлен встраиванием в лизофосфолипиды ПНЖК Омега-3. Это привело к росту значений ФХ и ФЭ, снижение их лизосоединений, а также соотношения ЛФХ/ФХ и ЛФЭ/ФЭ. Следует отметить способность ПНЖК к этерификации холестерина и снижению активности фосфолипаз (Asztalos et al., 2016), что подтверждается увеличением значений ЭХС и общих фосфолипидов из ТАГ.

Эффективность липидного экстракта асцидии в наших экспериментах на животных имела преимущественные особенности перед коммерческим препаратом Омега 3. Известно, что выделенные из морских гидробионтов биологически активные субстанции в основном обусловлены присутствием в их составе n-3 ПНЖК. Так, в коммерческом препарате Омега-3, который промышленно производят из ценных пород рыб, присутствуют эйкозапентаеновая, докозагексаеновая и моноеновые жирные кислоты. В нашем исследовании в обоих препаратах содержание ПНЖК составляло 300 мг в 1 г общих липидов. В то же время, в липидном экстракте асцидии присутствует более широкий спектр липидных структур: 7 классов нейтральных липидов, являющихся метаболитами для биохимических реакций, 8 классов фосфолипидов и, наравне с моноеновыми жирными кислотами, входят ПНЖК семейства n-3, а также n-6. Это, по нашему мнению, может обеспечить более высокую биологическую активность экстракта, чем таковая у препарата Омега 3.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Липидный экстракт, выделенный из туники асцидии *H. aurantium*, содержащий в своем составе нейтральные и фосфолипидные классы, ПНЖК n-3 и n-6, обладает липидкорректирующим и стресс-протекторным эффектом. Экстракт асцидии по своему биологическому эффекту соответствует коммерческому препарату Омега 3, но по эффекту восстановления биохимических показателей в плазме крови имел преимущества в возможности нормализовать состояние дислипидемии, сохранять метаболические реакции синтеза ФЛ из ТАГ и поддерживать количественные значения нейтральных и фосфолипидных классов в плазме крови. Туника асцидии может использоваться как сырьевой источник для выделения биологически активной субстанции (экстракт) липидной природы, обладающей защитными свойствами при стрессовом воздействии, а также при коррекции нарушений липидного обмена.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были одобрены Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН (протокол № 19 от 12 апреля 2022 г.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках госзадания ФГБУН ТОИ ДВО РАН по теме “Эколого-биогеохимические процессы в морских экосистемах: роль природных и антропогенных факторов”, (0211-2021-0014). Регистрационный номер: 121-21500052-9.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Артюков А. А., Попов А. М., Цыбульский А. В., Кривошапко О. Н., Полякова Н. В. Фармакологическая активность эхинохрома А отдельно и в составе БАД «Тимарин» // Биомед. химия. 2012. Т. 58. № 3. С. 281–290.
<https://doi.org/10.18097/pbmc20125803281>
- Кейтс М. Техника липидологии. — Москва: Мир, 1975. 324 с.
- Кривошапко О. А., Попов А. М. Лечебные и профилактические свойства липидов и антиоксидантов, выделенных из морских гидробионтов // Вопр. питания. 2011. № 2. С. 4–8.
- Кушнерова Н. Ф., Спрыгин В. Г., Фоменко С. Е., Рахманин Ю. А. Влияние стресса на состояние липидного и углеводного обмена печени, профилактика // Гиг. и сан. 2005. № 5. С. 17–21.
- Кушнерова Н. Ф., Фоменко С. Е., Спрыгин В. Г., Другова Е. С., Момот Т. В., Лесникова Л. Н., Мерзляков В. Ю. Влияние липидного комплекса из морской зеленой водоросли *Ulva lactuca* Linnaeus, 1753 на биохимические показатели плазмы крови и печени при экспериментальной дислипидемии // Биол. моря. 2022. Т. 48. № 2. С. 123–132.
<https://doi.org/10.31857/S0134347522020073>
- Матросова И. В., Лескова С. Е. Некоторые черты репродуктивной биологии асцидии пурпурной *Halocynthia aurantium* (Pallas) // Науч. труды Дальрыбвтуза. 2016. № 39. С. 1–2.
- Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К. 2012.

- Момот Т. В., Кушнерова Н. Ф., Рахманин Ю. А. Профилактика нарушения биохимических показателей в крови крыс при экспериментальном стрессе // Гиг. и сан. 2016. № 7. С. 678–681.
<https://doi.org/10.18821/0016-9900-2016-95-7-678-681>
- Моторя Е. С., Пивненко Т. Н., Гажга А. К., Иванушко Л. А., Воронцов В. Н., Санина Н. М. Исследование иммуномодулирующей и мембранотропной активностей каротиноидов из туники асцидии *Halocynthia aurantium* // Тихоокеан. мед.ж. 2009. № 3. С. 28–32.
- Новгородцева Т. П., Гвозденко Т. А., Касьянов С. П., Кнышова В. В., Караман Ю. К. Использование биологически активной добавки к пище на основе липидов морских гидробионтов в эксперименте на крысах // Вопр. питания. 2010. Т. 79. № 2. С. 24–27.
- Пономарева Т. И. Оценка эффективности экстракта *Halocynthia aurantium* при экспериментальном лучевом поражении // В мире науч. открытий. 2018. Т. 10. № 4. С. 245–257.
<https://doi.org/10.12731/wsd-2018-4-245-257>
- Солин А. В., Корозин В. И., Ляшев Ю. Д. Влияние регуляторных пептидов на стресс-индуцированные изменения липидного обмена у экспериментальных животных // Бюл. exper. биол. и мед. 2013. Т. 155. № 3. С. 299–301.
- Спрыгин В. Г., Кушнерова Н. Ф., Фоменко С. Е. Влияние липидного комплекса из морской красной водоросли *Ahnfeltia tobuchiensis* на метаболические реакции печени при экспериментальном токсическом гепатите // Изв. РАН. Сер. биол. 2022. № 1. С. 5–14.
<https://doi.org/10.31857/S1026347022010140>
- Фисенко В. П. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2000. 398 с.
- Фоменко С. Е., Кушнерова Н. Ф., Добряков Е. Ю. Влияние экстракта из туники морского гидробионта асцидии пурпурной на липидный обмен печени при остром стрессе // Экспер. и клин. фармакол. 2012. Т. 75. № 6. С. 36–39.
- Фоменко С. Е., Кушнерова Н. Ф., Спрыгин В. Г. Использование экстрактов бурой водоросли *Sargassum pallidum* для профилактики стресс-индуцированных нарушений углеводно-липидного обмена в эксперименте // Экспер. и клин. фармакол. 2019. Т. 82. № 8. С. 22–26.
<https://doi.org/10.30906/0869-2092-2019-82-8-22-26>
- Явнов С. В. Атлас иглокожих и асцидий /под ред. В. А. Ракова. Владивосток: Русский Остров. 2010. 176 с.
- Amenta J. S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography // J. Lipid Res. 1964. V. 5. № 2. P. 270–272.
[https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)40251-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)40251-2)
- Asztalos I. B., Gleason J. A., Sever S., Gedik R., Asztalos B. F., Horvath K. V., Dansinger M. L., Lamon-Fava S., Schaefer E. J. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiovascular disease risk factors: a randomized clinical trial // Metab. Clin. Exp. 2016. V. 65. № 11. P. 1636–1645.
<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2016.07.010>
- Bligh E. G., Dyer W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Canad. J. of Biochem. and Physiol. 1959. V. 37. № 8. P. 911–917.
<https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Bullard, S. G., Davis, C. V., Shumway, S. E. Seasonal patterns of ascidian settlement at an aquaculture facility in the Damariscotte River, Maine // J. Shellfish Res. 2013. V. 32. P. 255264.
<http://dx.doi.org/10.2983/035.032.0202>
- Carreau J. P., Dubacq J. P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts // J. Chromatogr. A. 1978. V. 151. № 3. P. 384–390.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(88\)90040-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(88)90040-4)
- Christie W. W. Equivalent chain-lengths of methyl ester derivatives of fatty acids on gas chromatography A reappraisal // J. Chromatogr. A. 1988. V. 447. P. 305–314.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(88\)90040-4](https://doi.org/10.1016/0021-9673(88)90040-4)
- Folch J., Less M., Sloane-Stanley G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue // Biol. Chem. 1957. V. 226. P. 497–509.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
- Hoang T. H., Liang Q., Luo X., Tang Y., Jian G., Qin J. G., Zhang W. Bioactives From Marine Animals: Potential Benefits for Human Reproductive Health // Front. Mar. Sci. 2022. V. 9. № 872775.
<http://dx.doi.org/10.3389/fmars.2022.872775>
- Hou Y., Vasileva E. A., Carne A., McConnell M., Bekhit A. E. A., Mishchenko N. P. Naphthoquinones of the spinochrome class: occurrence, isolation, biosynthesis and biomedical applications // RSC Adv. 2018. V. 8. P. 32637–32650.
<http://dx.doi.org/10.1039/C8RA04777D>
- Jang A. Y., Kim J. E., Park W. J., Monmai C., Rod-In W., You S. G., Lee T. N. Immune-modulation effect of *Halocynthia aurantium* tunic lipid on RAW264.7 cells // Food sci. biotechnol. 2022. V. 31. № 1. P. 101–110.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10068-021-01017-4>
- Jo J-E, Kim K-H, Yoon M-H., Kim N-Y., Lee C., Yook H-S. Quality characteristics and antioxidant activity research of *Halocynthia roretzi* and *Halocynthia aurantium* // J. Korean Soc Food Sci Nutr. 2010. V. 39. № 10. P. 1481–1486.
<http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2010.39.10.1481>
- Klimovich A. A., Popov A. M., Styshova O. N., Artyukov A. A., Tsybulsky A. V. A comparative evaluation of the actions of different secondary metabolites of marine hydrobiotics on the redox status of tumor and immune cells // Biophysics. 2018. V. 63. № 5. P. 763–768.
<http://dx.doi.org/10.1134/S000635091805010X>
- Kostetsky E. Y., Velansky P. V., Sanina N. M. Phospholipids of the organs and tissues of echinoderms and tunicates

- from peter the great bay (Sea of Japan) // Russ J Mar Biol. 2012. V. 38. № 1. P. 64–71.
<https://doi.org/10.1134/S1063074012010099>
- Lee J. M., Lee H. J., Kang S. B., Park W. J. Fatty acid desaturases, polyunsaturated fatty acid regulation, and biotechnological advances // Nutrients. 2016. V. 8. № 1. P. 23.
<http://dx.doi.org/10.3390/nu8010023>
- Monmai C., Go S. H., Shin S., You S. G., Lee H., Kang S. B., Park W. J. Immune-enhancement and anti-inflammatory activities of fatty acids extracted from *Halocynthia aurantium* tunic in RAW264.7 cells // Mar. Drugs. 2018. V. 16. № 9. P. 309–323.
<https://doi.org/10.3390/md16090309>
- Nieto N., Fernandez M. I., Torres M. I., Rios A., Soares M. D. Dietary monounsaturated n-3 and n-6 long-chain polyunsaturated fatty acids affect cellular antioxidant defense system in rats with experimental ulcerative colitis induced by trinitrobenzene sulfonic acid // Gil. Dig. Dis. Sci. 1998. V. 43. № 12. P. 2678–2687.
<https://doi.org/10.1023/a:1026655311878>
- Rouser G., Kritchevsky G., Yamamoto A. Column chromatographic and associated procedures for separation and determination of phosphatides and glycolipids // Lipid Chromatographic Analysis. New York: Dekker, 1967. V. 1. P. 99–162.
- Sanina N. M., Kostetsky Ed. Y. Seasonal changes in thermotropic behavior of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in different organs of the ascidian *Halocynthia aurantium*. // Comp. Biochem. Physiol. 2001. Part B. V. 128. P. 295–305.
[https://doi.org/10.1016/s1096-4959\(00\)00328-6](https://doi.org/10.1016/s1096-4959(00)00328-6)
- Sanina, N.M., Kostetsky, E.Y., Shnyrov, V.L., Tsybul'sky, A.V., Novikova, O.D., Portniagina, O.Y., Vorobieva, N.S., Mazeika, A.N., Bogdanov, M. V. The influence of monogalactosyldiacylglycerols from different marine macrophytes on immunogenicity and conformation of prtein antigen of tubular immunostimulating complex // Biochimie. 2012. V. 94, № 4. P. 1048–1056.
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.01.009>
- Svetashev V. I., Vaskovsky V. E. A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids // J. Chromatogr. 1972. Vol. 67. № 2. P. 376–378.
[https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)91245-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)91245-2)
- Tabakaeva O. V., Tabakaev A. V. Amino acids and related compounds of the ascidian *Halocynthia aurantium* from the Sea of Japan // Chem. Nat. Compd. 2017. V. 53. № 4. P. 722–725.
<https://doi.org/10.1007/s10600-017-2099-8>
- Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y. Vasendin I. M. A universal reagent for phospholipid analysis // J. Chromatogr. 1975. V. 114. № 1. P. 129–141.
[https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)85249-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)85249-8)
- Vaskovsky V. E., Terekhova T. A. HPTLC of Phospholipid Mixtures Containing Phosphatidylglycerol // J. Sep. Sci. 1979. V. 2. № 11. P. 671–672.
<http://dx.doi.org/10.1002/jhrc.1240021107>

Evaluation of the pharmacological efficiency of the lipid extract from the tunic of the marine hydrobiont *Halocynthia aurantium* (Pallas, 1774)

© 2024 N. F. Kushnerova*, S. E. Fomenko*, V. G. Sprygin*, T. V. Momot**,
E. S. Drugova*, L. N. Lesnikova*, V. Y. Merzlyakov*

*V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute. FEB RAS, Vladivostok, 690041 Russia

**I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) of MH RF, Moscow, 119991 Russia
 @E-mail: natasha50@mail.ru

It was studied effect of the lipid extract isolated from the tunic of the marine hydrobiont *Halocynthia aurantium*. It was evaluated its administration during hypothermia, hyperthermia, muscle load and the introduction of hexenal as well as its embryotoxic and teratogenic effects. The impact of stress (vertical fixation of rats by the dorsal neck fold) was accompanied by an increase in plasma levels of total lipids, total cholesterol, cholesterol/phospholipid ratios and a decrease in total phospholipids, as well as by a change in the quantitative characteristics of classes of neutral and phospholipid. It was carried out a correction of the developed changes by a lipid extract of ascidia and a commercial reference preparation “Omega-3”. The lipid extract of *H. aurantium* showed a higher efficiency in restoring the lipid composition of the blood plasma under stress impact compared to the preparation “Omega-3” due to a wider range of neutral and phospholipid classes, polyunsaturated fatty acids of the n-3 and n-6 families. The tunica of ascidian can be used as a raw material for obtaining preparations with stress-protector and lipid-correcting properties.

Keywords: *Halocynthia aurantium*, lipid extract, hypothermia, hyperthermia, muscle load, embryotoxicity, teratogenicity, stress, blood plasma, lipids