

Статья публикуется по материалам доклада на Научно-практической конференции “Новые химико-фармацевтические технологии”, состоявшейся 28 мая 2014 г. в РХТУ им. Д.И. Менделеева.

Публикация доступна для обсуждения в рамках функционирования постоянно действующей интернет-конференции “Бутлеровские чтения”. <http://butlerov.com/readings/>

Поступила в редакцию 26 июня 2014 г. УДК 615.244.

Гепатопротекторное действие нового сбора из растительного сырья в сравнении с препаратом «карсил» (экспериментальное исследование)

© Чехани^{1*} Нино Рамазовна, Павлова¹ Людмила Анатольевна,
Козин¹ Сергей Валерьевич, Теселкин² Юрий Олегович
и Гусейнов¹ Магомед Джамалудинович

¹ Лаборатория биологически активных соединений. НИИ Фармации. Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова. Ул. Трубецкая, д.8, стр.2. г. Москва, 119991. Россия. Тел.: (495) 708-39-71. E-mail: chehaninino@mail.ru, l-a-pavlova@yandex.ru, enfadado@yandex.ru, mag-com@mail.ru

² НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований. Отдел медицинской биофизики Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова. Ул. Островитянова, 1. г. Москва, 117997. Россия. E-mail: rsmu@rsmu.ru, teselkin-box@mail.ru

*Ведущий направление; +Поддерживающий переписку

Ключевые слова: четыреххлористый углерод, токсический гепатит, растительный сбор, гепатопротекторное действие.

Аннотация

В работе изучено гепатопротекторное действие нового сбора из растительного сырья на модели острого токсического гепатита у крыс, вызванного четыреххлористым углеродом. Гепатопротекторный эффект был доказан с помощью тиопенталового теста, а также биохимического и энзимологического исследования сыворотки крови крыс. По влиянию на продолжительность тиопенталового наркоза, активность печеночных ферментов и некоторые гепатозависимые биохимические показатели сыворотки крови заявляемый сбор практически не отличался от препарата сравнения карсила. Предполагается, что гепатопротекторное действие сбора обусловлено наличием в составе растительного сырья фенольных и полифенольных соединений, обладающих антиоксидантной активностью.

Введение

В настоящее время широко распространены патологии печени, вызванные вирусными и химическими агентами. С целью предохранения клеток печени от повреждающего воздействия различных факторов применяют гепатопротекторные препараты. В зависимости от химического состава и происхождения гепатопротекторы делятся на несколько групп: препараты, содержащие эссенциальные фосфолипиды; аминокислоты или их производные; витамины–антиоксиданты и витаминоподобные соединения; препараты животного и растительного происхождения [1].

В составе комплексной патогенетической терапии целого ряда заболеваний, в том числе связанных с повреждением гепатоцитов, широко используются гепатопротекторные средства на основе лекарственного растительного сырья [1-3]. Их преимуществом, наряду с достаточно высокой эффективностью, является высокая безопасность, низкая токсичность и минимальное проявление отрицательных побочных эффектов даже при длительном систематическом применении. В связи с этим представляется актуальной разработка новых эффективных и безопасных гепатопротекторных препаратов растительного происхождения.

В качестве гепатопротекторного средства нами предложен сбор, содержащий в своем составе листья малины обыкновенной (*Rubus idaeus* L.), листья смородины черной (*Ribes nigrum* L.), траву кипрея узколистного (*Chamerion angustifolium* L.) и траву таволги вязолистной (*Filipendula ulmaria* L.), применяющихся в народной медицине в качестве средств, обладаю-

щих противовоспалительным, иммуномодулирующим, антиоксидантным, холеретическим и т.д. действием. На основании анализа данных о химическом составе этих растений [4-6] и применении их в народной медицине [2] было сделано предположение, что гепатопротекторными свойствами будет обладать сбор, составленный из перечисленного выше растительного сырья, в соотношении 1:1:1:1 (в весовых частях).

Цель настоящего исследования – изучение гепатопротекторного действия сбора на модели острого токсического гепатита, вызванного введением четыреххлористого углерода.

Экспериментальная часть

Исследование лечебно-профилактического действия разработанного сбора проведено на модели CCl_4 -индуцированного токсического гепатита. В качестве препарата сравнения, обладающего гепатопротекторным действием, использовали карсил.

Исследование выполнено на 100 белых беспородных крысах-самцах массой 220-240 г, случайным образом распределенных по 4-м группам:

- интактная – 22 крысы, не подвергавшиеся каким-либо манипуляциям;
- контрольная – 22 крысы, получавшие только гепатотоксин;
- 1-я опытная – 28 крыс, получавших гепатотоксин на фоне применения настоя из сбора растительного сырья;
- 2-я опытная – 28 крыс, получавших гепатотоксин на фоне применения препарата сравнения карсила.

Животных содержали в стандартных условиях вивария на стандартном рационе. Животные 1-ой опытной группы в течение трех недель получали водное извлечение из заявленного сбора в условиях свободного запаивания (вместо воды). В среднем, одна крыса получала по 30 мл настоя в день. Животные 2-ой группы получали карсил (*Sopharma*, Болгария) в дозе 200 мг/кг внутривентрикулярно (через зонд) в виде водной взвеси как эталонный препарат с гепатопротекторной активностью. Животные контрольной и интактной групп получали воду *ad libitum*.

На 15-й день эксперимента у животных контрольной, а также 1-ой и 2-ой опытных групп вызывали токсический гепатит внутрибрюшинным введением CCl_4 в виде 25% раствора в оливковом масле однократно в дозе 0.2 мл/кг (в пересчете на CCl_4). После чего животные продолжали получать гепатопротекторы еще в течение 7 дней. Таким образом, в эксперименте было смоделировано лечебно-профилактическое применение гепатопротекторов.

Гепатопротекторное действие исследуемого сбора оценивали с помощью тиопенталовой пробы. Тиопентал вводили внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг и фиксировали продолжительность тиопенталового наркоза по показателю «бокового положения». Проба позволяет оценить скорость метаболизма тиопентала, осуществляемого цитохром Р-450-зависимой монооксигеназной системой гепатоцитов [7].

У животных всех групп, не подвергавшихся воздействию тиопентала, на 21 сутки от начала опыта, после декапитации проводили забор крови (без антикоагулянта) для определения ряда показателей, характеризующих сохранность печеночной ткани: холестерина, билирубина (общего, прямого, непрямого), аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ). Сыворотку крови отделяли от кровавого сгустка с помощью центрифугирования при 1500 г в течение 10 мин на центрифуге «*Scanspeed mini*» (США). Значения биохимических показателей в сыворотке крови определяли с использованием наборов фирмы «*Intermedica*» (США) согласно инструкции производителя на биохимическом анализаторе фирмы «*Biochem*» (США).

Результаты проведенного эксперимента обработаны с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

При любом пути поступления в организм CCl_4 вызывает тяжелые повреждения печени. Токсическое действие CCl_4 связано с образованием свободнорадикальных метаболитов, что приводит к активации процесса пероксидного окисления липидов (ПОЛ) биологических мембран и развитию оксидативного стресса [7-9].

Как видно из табл. 1, продолжительность тиопенталового наркоза у контрольных животных, подвергавшихся воздействию только гепатотоксина, была почти в 3 раза выше, чем у интактных животных ($p < 0.05$). Лечебно-профилактическое применение изучаемого сбора у крыс 1-ой опытной группы полностью предупреждало развитие CCl_4 -индуцированных изменений данного показателя, что свидетельствует о меньшем, по сравнению с контролем, пора-

жении печени и, в частности, о сохранившейся функции цитохром Р-450-зависимой монооксигеназной системы гепатоцитов. Следует отметить, что сравнение гепатопротекторного эффекта по этому показателю (продолжительность тиопенталового наркоза) не выявило достоверных различий между животными 1-ой и 2-ой опытных групп, получавших соответственно растительный сбор и карсил.

Табл. 1. Влияние изучаемого сбора и карсила на продолжительность тиопенталового наркоза у крыс, ($M \pm m$)

Группы животных	Количество животных в группе	Продолжительность тиопенталового наркоза, мин
Интактная	12	59.8 ± 6.3
Контрольная (CCl ₄)	12	168.1 ± 9.7*
Опытные:		
1-я (CCl ₄ + изучаемый сбор)	18	40.7 ± 4.8 ***
2-я (CCl ₄ + карсил)	18	46.9 ± 3.8**

Примечание: * – $p < 0.05$ по отношению к показателю интактной группы;

** – $p < 0.05$ по отношению к показателю контрольной группы.

В качестве высокоинформативных критериев оценки сохранности печеночной ткани и гепатопротекторной эффективности предлагаемого сбора были также использованы некоторые биохимические и энзимологические показатели сыворотки крови (табл. 2).

Так, у контрольных животных по сравнению с интактными животными наблюдалось значительное повышение уровня печеночных ферментов (АЛТ в 6.3 раза, АСТ в 9.7 раза), холестерина (в 1.9 раза), билирубина (общего – в 12.4 раза, прямого – в 20.1 раза, непрямого – в 10.2 раза), вызванное воздействием гепатотоксина. Обращает на себя внимание тот факт, что у крыс 1-ой и 2-ой опытных групп по сравнению с крысами интактной группы указанные сдвиги были выражены в меньшей степени. В частности, уровень АЛТ был выше в 1.8 и 1.6 раза, АСТ – в 4.2 и 3.6 раза, холестерина – в 1.3 и 1.2 раза, билирубина – общего в 8.3 и 8.1 раза, прямого – в 12 и 11.7 раза, непрямого – в 6.8 и 6.5 раза соответственно. Кроме того, следует отметить, что значения измеряемых показателей, полученных у животных 1-ой и 2-ой опытных групп, хотя и превышали значения аналогичных показателей у интактных животных ($p < 0.05$), тем не менее, были ниже, чем у контрольных животных ($p < 0.05$). При этом достоверных различий между значениями измеряемых показателей у крыс обеих опытных групп зарегистрировано не было.

Табл. 2. Влияние изучаемого сбора и карсила на биохимические и энзимологические показатели сыворотки крови крыс при экспериментальном CCl₄-индуцированном гепатите ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных			
	Интактная, (10 крыс)	Контрольная (CCl ₄), (10 крыс)	1-я (CCl ₄ + изучаемый сбор), (10 крыс)	2-я (CCl ₄ + карсил), (10 крыс)
АЛТ, МЕ	35.0 ± 3.6	220.5 ± 24.8*	63.1 ± 6.0***	54.3 ± 6.1***
АСТ, МЕ	136.8 ± 14.7	1326.8 ± 184.6*	570.3 ± 61.4***	487.4 ± 57.8***
Холестерин, моль/л	1.41 ± 0.05	2.68 ± 0.10*	1.89 ± 0.05***	1.75 ± 0.05***
Билирубин общий мкмоль/л	10.88 ± 0.34	134.68 ± 8.00*	90.10 ± 6.60***	87.6 ± 7.05***
Билирубин прямой мкмоль/л	3.18 ± 0.17	64.05 ± 2.05*	38.10 ± 3.08***	37.21 ± 3.11***
Билирубин не прямой мкмоль/л	7.70 ± 0.5	78.63 ± 7.07*	52.00 ± 3.93***	50.39 ± 3.92***

Примечание: * – $p < 0.05$ по отношению к соответствующим показателям интактной группы;

*** – $p < 0.05$ по отношению к соответствующим показателям контрольной группы.

Таким образом, заявленный сбор показал высокую гепатопротекторную эффективность по всем изученным показателям. Возможно, гепатопротекторное действие сбора обусловлено антиоксидантной активностью соединений, в большом количестве содержащихся в растительном сырье (флавоноиды, оксикоричные и фенолкарбоновые кислоты, кумарины и другие). Ранее нами было показано, что водные извлечения растений, входящих в состав заявленного

сбора, обладают антиоксидантными свойствами [10]. Поскольку усиление свободнорадикальных реакций играет важную роль в патогенезе экспериментального CCl_4 -индуцированного гепатита, можно предположить, что один из механизмов гепатопротекторного действия сбора заключается в его способности подавлять продукцию свободных радикалов и предупреждать развитие оксидативного стресса [8].

Выводы

1. Данные, полученные в эксперименте, свидетельствуют о наличии гепатопротекторных свойств у сбора, состоящего из листьев малины обыкновенной, листьев смородины черной, травы кипрея узколистного и травы таволги вязолистной. Гепатопротекторная активность сбора из растительного сырья не отличается от гепатопротекторной активности препарата сравнения – карсила.
2. Сбор, состоящий из листьев малины обыкновенной, листьев смородины черной, травы кипрея узколистного и травы таволги вязолистной может быть рекомендован как самостоятельное лечебно-профилактическое средство, а также в комплексной терапии в качестве средства с выраженной гепатопротекторной активностью.

Литература

- [1] Морозов С.Ю. Гепатопротекторы в практике врача-клинициста. *Рус. мед. журн.* №1. С.25-28.
- [2] Вайс Р.Ф., Финтельманн Ф. Фитотерапия. Руководство. М. 2004. С.108, 274-275.
- [3] Бунатян Н.Д., Герасимова О.А., Сахарова Т.С., Яковлева Л.В. Природные антиоксиданты как гепатопротекторы. *Экспер. и клин. фармакол.* 1999. №2. С.64-68.
- [4] Запрометов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М. 1993. 272с.
- [5] Казначеева Е.В., Савина А.А., Шемерянкина Т.Б. и др. Изучение состава фенольных соединений в сухом экстракте листа малины. *Вопр. биол. мед. и фарм. хим.* 2011. №3. С.3-5.
- [6] Лобанова А.А., Будаева В.В., Сакович Г.В. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья. *Хим. раст. сырья.* 2004. №1. С.47-52.
- [7] Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному и доклиническому изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ОАО «Издательство «Медицина». 2005. 832с.
- [8] Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Фирма «Слово». 2006. 556с.
- [9] Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов. *Успехи соврем. биол.* 1993. Т.113. Вып.4. С.442-455.
- [10] Чехани Н.Р., Теселкин Ю.О., Павлова Л.А. и др. Антиоксидантная активность растений, используемых в этномедицине Тувы. *Вестник РГМУ.* 2013. №6. С.66-69.