

ГЕПАТОЗАЩИТНАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО ЭКСТРАКТА

Е.В. Ферубко¹, С.М. Николаев², К.А. Пупыкина³, Т.Д. Даргаева¹

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (г. Москва),

²ФГБНУ «Институт общей и экспериментальной биологии» Сибирского отделения РАН (г. Улан-Удэ),

³ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ РФ (г. Уфа)

Hepatoprotective activity of complex plant extract

E.V. Ferubko¹, S.M. Nikolaev², K.A. Pupykina³, T.D. Dargaeva¹

¹All-Russian scientific research institute of Medicinal and Aromatic plants (Moscow, Russia),

²General and Experimental Institute of Biology, Siberian branch of RAS (Ulan-Ude, Russia),

³Federal state-funded educational institution of the higher education «The Bashkir state medical university» of the Ministry of Health of the Russian Federation (Ufa, Russia)

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты изучения гепатопротекторной активности комплексного растительного экстракта, полученного из следующих видов растительного сырья: корни и корневища девясила высокого, трава золотысячника обыкновенного, корни солодки уральской, плоды шиповника, плоды боярышника, в условиях модели тетрахлорметанового гепатита. Установлено, что курсовое введение *per os* экстракта в дозе 300 мг/кг белым нелинейным крысам с тетрахлорметановым повреждением печени оказывает гепатопротекторное действие, в некоторой степени превосходя эффект препарата сравнения карсила. Результаты проведенных исследований свидетельствовали, что при фармакотерапии токсического гепатита растительным экстрактом отчетливо снижаются в сыворотке крови уровни активности ферментов – маркеров синдрома цитолиза, значительно уменьшаются в этих условиях и проявления синдрома холестаза. Фармакотерапевтическое влияние экстракта при повреждении органов гепатобилиарной системы обусловлено наличием в нем комплекса биологически активных веществ и, прежде всего, соединений фенольной природы. Полученные результаты исследований аргументируют целесообразность применения растительного экстракта, содержащего биологически активные вещества фенольной природы, в комплексном лечении и профилактике заболеваний печени.

Ключевые слова: комплексный растительный экстракт, гепатопротекторная активность, тетрахлорметановый гепатит.

RESUME

The article presents the results of the study of the hepatoprotective activity of a complex plant extract obtained from the following types of raw plants: roots and rhizomes of elecampane, common grass, roots of Ural licorice, hips, fruits of hawthorn, in conditions of a tetrachloromethane hepatitis model. It was established that a course of *per os* intake of extract in a 300 mg / kg dose for white non-linear rats with tetrachloromethane damage to the liver has a hepatoprotective effect, somewhat superior to the effect of the comparator drug Carsil. The results of the study showed that pharmacotherapy of toxic hepatitis with plant extract clearly decreases levels of enzyme activity in serum - markers of cytolysis syndrome, manifestations of cholestasis syndrome also significantly decrease in these conditions. The pharmacotherapeutic effect of the extract in case of damage to the organs of the hepatobiliary system is due to the presence in it of a complex of biologically active substances and, above all, compounds of a phenolic nature. The results of the research substantiate the expediency of using a plant extract containing biologically active substances of a phenolic nature in the complex treatment and prevention of liver diseases.

Keywords: complex plant extract, hepatoprotective activity, tetrachloromethane hepatitis.

ВВЕДЕНИЕ

Поражения печени занимают ведущее место в структуре заболеваемости и смертности населения, прежде всего, вследствие увеличе-

ния числа алкогольных интоксикаций, неконтролируемого широкомасштабного применения лекарственных препаратов, загрязнения окружающей среды, в том числе воды и про-

дуктов питания, чужеродными химическими соединениями [1].

В связи с этим, актуальным является поиск средств, способных повышать резистентность печени к повреждающему действию токсинов и стимулировать процессы детоксикации [2]. Перспективными для разработки методов фармакологической коррекции указанных состояний являются средства растительного происхождения, отличающиеся широтой терапевтического действия, малой токсичностью и связанной с этим возможностью длительного применения без риска развития побочных реакций [3, 4].

Целью исследований явилось определение гепатопротекторной активности комплексного растительного экстракта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований служил экстракт сухой, полученный из следующих видов растительного сырья: корни и корневища девясила высокого (*Inula helenium* L.) – 250 г, трава золотысячника обыкновенного (*Centaureum erythraea* Rafn.) – 150 г, корни солодки уральской (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) – 150 г, плоды шиповника (*Rosa* sp.) – 250 г, плоды боярышника (*Crataegus* sp.) – 200 г.

Экстракт получен путем экстрагирования отдельных компонентов 70 % этиловым спиртом с последующим объединением полученных экстрактов. В полученном экстракте содержатся полисахариды, флавоноиды, каротиноиды, органические кислоты, витамины, макро- и микроэлементы, эфирные масла и другие природные соединения. Стандартизация экстракта осуществлена по сумме флавоноидов. Наличие указанного спектра биологически активных веществ предполагает потенциальную гепатопротекторную активность полученного экстракта.

Работа выполнена в соответствии с Федеральным законом «О лекарственных средствах», «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств». Эксперименты выполнены на 40 нелинейных крысах-самцах с исходной массой 180–200 г. Животных получали из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России и содержали в условиях вивария со свободным доступом к корму и воде. Фармакологические исследования проводили согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных»,

«Правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (Страсбург, 1986), Приказу МЗ РФ за № 708н от 23.08.2010 «Об утверждении правил лабораторной практики». Исследования одобрены Биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР (протокол № 4 от 15.09.2015 года).

Предварительно проводили оценку острой токсичности полученного экстракта на белых беспородных мышках-самцах при введении *per os* в виде водного раствора в диапазоне доз 25 мг – 1000 мг/кг. Установлено, что введение экстракта в указанных дозах мышам не приводило к их гибели на протяжении всего периода наблюдения (14 суток). Лишь при введении высоких доз экстракта (800–1000 мг/кг) отмечали ограничение двигательной активности, отказ от корма, учащенное мочеиспускание в первые 3–5 часов после введения экстракта, а к 18–20 часам вечера их поведение и внешний вид не отличались от интактных животных.

Предварительными исследованиями были определены экспериментально-терапевтические дозы исследуемого экстракта, соответствующие 100–350 мг/кг веса животного при его введении *per os*. Основные эксперименты проведены с использованием экспериментально подобранной дозы – 300 мг/кг, обеспечивающей наиболее выраженный фармакологический эффект.

Определение фармакотерапевтической эффективности многокомпонентного растительного экстракта приводили при внутрижелудочном (1 раз в день) курсовом применении экстракта в виде водного раствора в дозе 300 мг/кг в течение 10 дней при тетрахлорметановом гепатите у белых крыс, начиная со 2 дня после первого введения повреждающего агента.

Повреждение печени вызывали внутрижелудочным введением белым крысам 50 % масляного раствора тетрахлорметана в объеме 0,2 мл/100 г массы животного [5]. В качестве препарата сравнения использовали растительный гепатопротектор карсил в изоэффективной дозе 50 мг/кг массы крысы. Животные контрольной группы получали воду, очищенную в соответствующем объеме по аналогичной схеме. Исследования проводили через 7, 14, 21 и 28 суток от начала эксперимента. Функциональное состояние печени у животных оценивали по активности аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаргатаминотрансферазы (АСТ),

содержанию холестерина, β -липопротеидов, общего билирубина, прямого билирубина, непрямого билирубина и общего белка в сыворотке крови с использованием анализатора для клинической химии Clima MC-15. Определение тимоловой пробы проводилось по методу цветной реакции с диацетилмонооксидом.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ *Statistica 10.0* (США). Различия принимали значимыми при $P \leq 0,05$ [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучено влияние комплексного растительного экстракта на течение экспериментального гепатита у белых крыс, вызванного введением четыреххлористого углерода. Тетрахлорметан является наиболее известным гепатотоксином, применяемым для моделирования заболевания печени. Токсическое повреждение печени, вызванное длительным введением CCl_4 , является адекватной моделью цирротического поражения печени у человека [7].

Курсовое введение комплексного растительного экстракта в дозе 300 мг/кг на фоне тетрахлорметанового гепатита оказывает выраженное гепатопротекторное влияние, уменьшая выраженность нарушений функционального состояния печени животных (табл. 1).

Так, на 7-е сутки эксперимента у животных, получавших исследуемый экстракт (табл. 1), отмечается достоверное снижение активности АЛТ, АСТ (на 27 и 29 %, соответственно), по сравнению с данными у животных контрольной группы. Также на 7-е сутки установлено уменьшение показателей тимоловой и бромсульфалеиновой проб на 48 % и 35 %; концентрации β -липопротеидов – на 35 %, холестерина на – 47 % по сравнению с соответствующими показателями в контроле. Через 14 суток опыта у крыс опытной группы активность АЛТ, АСТ; показатели общего билирубина, β -липопротеидов, холестерина, тимоловой и бромсульфалеиновой проб достоверно значительно ниже аналогичных показателей у животных контрольной группы. При введении экстракта на 21-е сутки эксперимента показатель общего белка увеличился до $7,23 \pm 0,14$, т.е. приближался к показателю интактной группы. Достоверно значительно снизились показатели общего билирубина, прямого билирубина, непрямого билирубина на 34, 38 и 33 %, соответственно, по сравнению с контролем.

Результаты проведенных исследований свидетельствовали о том, что на 28-е сутки исследования при фармакотерапии токсического гепатита растительным экстрактом отчетливо снижаются в сыворотке крови у белых крыс уровни активности ферментов – маркеров синдрома цитолиза, значительно уменьшаются в этих условиях и проявления синдрома холестаза. Особо следует отметить, что введение исследуемого экстракта крысам с повреждением печени характеризовалось резким снижением коэффициента ретенции бромсульфалеина, показателей тимоловой пробы. В то время как в контрольной группе ряд показателей (АЛТ, АСТ, тимоловая проба) свидетельствуют о продолжающемся патологическом процессе. При этом эффективность изучаемого комплексного экстракта по некоторым показателям превосходила таковую у препарата сравнения.

При оценке состояния монооксигеназной системы печени на 7-е сутки эксперимента при токсическом гепатите было установлено, что использование экстракта в указанной дозе значительно повышает количество цитохрома P_{450} в микросомах печени (табл. 2).

Повышение на 54 % ключевого фермента монооксигеназной системы, ответственного за деинтоксикационную функцию печени, сопровождалось замедлением скорости инактивации этого фермента за счет стабилизации мембранных структур.

ОБСУЖДЕНИЕ

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что изучаемый экстракт при курсовом введении оказывает выраженное гепатозащитное действие, благодаря преимущественно стимулирующему дезинтоксикационную функцию печени свойству. Под влиянием многокомпонентного растительного экстракта с ранних сроков повреждения печени снижается активность ферментов, уменьшается выраженность воспалительной реакции, угнетается перекисное окисление липидов. Эти позитивные изменения в совокупности приводят к уменьшению тяжести патологического процесса.

Установлено, что курсовое введение *per os* экстракта в дозе 300 мг/кг белым нелинейным крысам с тетрахлорметановым повреждением печени оказывает гепатопротекторное действие, превосходящее по ряду показателей эффект препарата сравнения Карсил. По-

Таблица 1

Влияние многокомпонентного растительного экстракта на функциональную активность печени белых крыс при хроническом токсическом гепатите, вызванном тетрахлорметаном ($M \pm m$)

№	Основные биохимические показатели	Интактные крысы	Крысы с экспериментальным гепатитом (контроль)	Крысы с экспериментальным гепатитом при введении экстракта	Крысы с экспериментальным гепатитом при введении карсила
1	2	3	4	5	6
7 сутки					
1.	АЛТ, мкМ	0,68 ± 0,11	4,96 ± 0,08	3,60 ± 0,10*	4,00 ± 0,12*
2.	АСТ, мкМ	0,41 ± 0,05	3,20 ± 0,32	2,26 ± 0,12*	2,48 ± 0,18*
3.	Тимоловая проба, ед.	1,36 ± 0,19	7,28 ± 1,12	3,78 ± 0,30*	4,56 ± 0,50*
4.	β-липопротеиды, ед.	9,0 ± 0,25	14,7 ± 0,40	9,6 ± 0,30*	10,2 ± 0,35*
5.	Общий белок г/л	7,45 ± 0,11	6,12 ± 0,22	6,78 ± 0,19*	6,60 ± 0,26*
6.	Холестерин мг%	56,0 ± 2,00	108,0 ± 6,50	57,0 ± 3,30*	78,0 ± 4,50*
7.	Бромсульфалеиновая проба, %	2,43 ± 0,30	12,90 ± 0,50	8,40 ± 0,20*	9,00 ± 0,25*
7.	Общий билирубин мг%	0,69 ± 0,03	11,40 ± 0,40	10,50 ± 0,63	10,80 ± 0,60
8.	Прямой билирубин мг%	0,21 ± 0,02	5,38 ± 0,40	4,63 ± 0,30*	4,90 ± 0,35*
9.	Непрямой билирубин мг%	0,48 ± 0,17	5,02 ± 0,31	5,87 ± 0,32	5,90 ± 0,40
14 сутки					
1.	АЛТ, мкМ	0,68 ± 0,11	4,04 ± 0,18	3,04 ± 0,22*	3,43 ± 0,12*
2.	АСТ, мкМ	0,41 ± 0,05	2,40 ± 0,10	1,88 ± 0,09*	2,0 ± 0,18
3.	Тимоловая проба, ед.	1,36 ± 0,19	6,76 ± 1,00	4,55 ± 0,20	4,3 ± 0,20*
4.	β-липопротеиды, ед.	9,0 ± 0,25	18,2 ± 1,30	14,1 ± 0,68*	15,0 ± 0,85
5.	Общий белок г/л	7,45 ± 0,11	6,33 ± 0,10	6,55 ± 0,12	6,80 ± 0,15
6.	Холестерин мг%	56,0 ± 2,00	123,0 ± 11,00	87,6 ± 5,66*	87,0 ± 9,30*
7.	Бромсульфалеиновая проба, %	2,43 ± 0,30	11,60 ± 0,80	7,25 ± 0,42*	6,34 ± 0,23*
8.	Общий билирубин мг%	0,69 ± 0,03	4,89 ± 0,20	3,60 ± 0,20*	3,80 ± 0,12*
9.	Прямой билирубин мг%	0,21 ± 0,02	2,48 ± 0,10	1,26 ± 0,10	1,50 ± 0,09*
10.	Непрямой билирубин мг%	0,48 ± 0,17	2,50 ± 0,07	2,23 ± 0,30	2,20 ± 0,20
21 сутки					
1.	АЛТ, мкМ	0,68 ± 0,11	3,12 ± 0,14	2,62 ± 0,12*	2,75 ± 0,11*
2.	АСТ, мкМ	0,41 ± 0,05	1,69 ± 0,05	1,43 ± 0,20	1,57 ± 0,12
3.	Тимоловая проба, ед.	1,36 ± 0,19	6,80 ± 0,10	3,21 ± 0,06*	4,00 ± 0,12
4.	β-липопротеиды, ед.	9,0 ± 0,25	15,5 ± 0,50	12,8 ± 0,40*	14,2 ± 0,25
5.	Общий белок г/л	7,45 ± 0,11	6,52 ± 0,15	7,23 ± 0,14*	7,13 ± 0,12*
6.	Холестерин мг%	56,0 ± 2,00	101,0 ± 6,00	77,5 ± 3,70*	75,0 ± 2,50*
7.	Бромсульфалеиновая проба, %	2,43 ± 0,30	5,80 ± 0,60	3,20 ± 0,40*	3,00 ± 0,40*
8.	Общий билирубин мг%	0,69 ± 0,03	1,96 ± 0,09	1,30 ± 0,05*	1,50 ± 0,1
9.	Прямой билирубин мг%	0,21 ± 0,02	0,72 ± 0,04	0,45 ± 0,04*	0,50 ± 0,05
10.	Непрямой билирубин мг%	0,48 ± 0,17	1,24 ± 0,10	0,83 ± 0,02*	0,70 ± 0,07*
28 сутки					
1.	АЛТ, мкМ	0,68 ± 0,11	2,82 ± 0,24	1,50 ± 0,10*	1,70 ± 0,15*
2.	АСТ, мкМ	0,41 ± 0,05	1,18 ± 0,10	0,90 ± 0,05*	1,02 ± 0,08*
3.	Тимоловая проба, ед.	1,36 ± 0,19	3,22 ± 0,33	1,56 ± 0,30*	1,63 ± 0,30*
4.	β-липопротеиды, ед.	9,0 ± 0,25	9,6 ± 0,21	8,8 ± 0,10*	9,0 ± 0,25
5.	Общий белок г/л	7,45 ± 0,11	7,15 ± 0,16	7,21 ± 0,12	7,30 ± 0,15
6.	Холестерин мг%	56,0 ± 2,00	66,3 ± 3,10	55,9 ± 2,8*	57,0 ± 2,7*
7.	Бромсульфалеиновая проба, %	2,43 ± 0,30	–	–	–
8.	Общий билирубин мг%	0,69 ± 0,03	0,86 ± 0,04	0,79 ± 0,07	0,82 ± 0,05
9.	Прямой билирубин мг%	0,21 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,28 ± 0,02	0,30 ± 0,03
10.	Непрямой билирубин мг%	0,48 ± 0,17	0,69 ± 0,05	0,49 ± 0,03*	0,52 ± 0,04*

Примечание:

* Различия по сравнению с контролем значимы при $P \leq 0,05$.

Влияние экстракта на состояние монооксигеназной системы печени при экспериментальном CCl₄ гепатите у белых крыс (7 сутки)

№	Группы животных	Содержание цитохрома P ₄₅₀ в нмоль/мг белка	Процент инактивации цитохрома P ₄₅₀ к 30-минутной инкубации	Количество МДА в мкМ/мл сыворотки × мин.
1.	Интактная группа	0,79 ± 0,04	21,2 ± 2,0	3,99 ± 0,40
2.	Контрольная группа (CCl ₄ + H ₂ O)	0,39 ± 0,06	58,7 ± 1,3	5,76 ± 0,10
3.	Опытная 1 (CCl ₄ + экстракт)	0,60 ± 0,08*	18,1 ± 0,9*	3,89 ± 0,60*
4.	Опытная 2 (CCl ₄ + карсил)	0,53 ± 0,07*	18,1 ± 1,1*	4,49 ± 0,40

видимому, фармакотерапевтическое влияние экстракта при повреждении органов гепатобилиарной системы обусловлено наличием в нем комплекса биологически активных веществ и, прежде всего, соединений фенольной природы. Благодаря их доминирующему содержанию обеспечивается ингибирующее действие растительного экстракта на свободнорадикальное окисление липидов, стабилизация биологических мембран с последующим повышением функциональной активности печени [2, 8]. Полученные результаты исследований аргументируют целесообразность применения растительного экстракта, содержащего биологически активные вещества фенольной природы, в комплексном лечении и профилактике заболеваний печени.

ВЫВОДЫ:

1. Проведено экспериментальное изучение гепатопротекторной активности комплексного растительного экстракта, полученного из корневищ и корней девясила высокого, травы золотысячника обыкновенного, корней солодки уральской, плодов шиповника, плодов боярышника, в условиях модели тетрахлорметанового гепатита.

2. Показано, что курсовое введение *per os* многокомпонентного растительного экстракта в дозе 300 мг/кг белым нелинейным крысам с тетрахлорметановым повреждением печени оказывает гепатопротекторное действие, превосходящее по ряду показателей эффект от введения препарата сравнения (карсил).

ЛИТЕРАТУРА

- Ивашкин В.Т. Гастроэнтерология: национальное руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 704 с.
- Николаев С.М. Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний. – Улан-Удэ: Изд-во БГУ, 2012. – 286 с.
- Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология. Руководство для врачей. – Москва: МИА, 2000. – 976 с.

4. Лубсандоржиева П.-Н.Б. Разработка и стандартизация фитосредств для лечения и профилактики заболеваний органов пищеварения. – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2016. – 280 с.

5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

6. Боровиков В.П. Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA. – М.: Горячая линия. Телеком, 2014. – 288 с.

7. Буеверов А.О. Лекарственные поражения печени // Российский медицинский журнал. – 2012. – №3. – С.107–110.

8. Корсун В.Ф., Николаев С.М., Огренич М.А., Корсун Е.В., Бартанова Е.А., Султанбеков Б.А. Лекарственные растения и болезни печени: руководство по клинической фитотерапии. – М.: Практическая медицина, 2014. – 327 с.

Адрес автора

К.м.н. Ферубко Е.В., заведующая отделом экспериментальной и клинической фармакологии
eferubko@yandex.ru