

УДК 615, 615.24; 616.3-008.1

<https://www.doi.org/10.34907/JRQAI.2020.94.17.004>

ИССЛЕДОВАНИЕ И РАЗРАБОТКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО СРЕДСТВА

Е.В. Ферубко, канд. мед. наук, заведующий отделом экспериментальной и клинической фармакологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва, eferubko@yandex.ru

Разработано многокомпонентное растительное средство под условным названием «Пентафит». В результате проведенных экспериментов установлено, что его курсовое введение *per os* в дозе 300 мг/кг нелинейным крысам с экспериментальными повреждениями печени оказывает антигепатотоксическое, гепатопротективное и мембраностабилизирующее действие.

Ключевые слова: антигепатотоксическое растительное средство, токсические поражения печени, доклинические исследования, антигепатотоксическое действие, гепатопротективная активность

Токсические поражения печени занимают ведущее место в структуре заболеваемости и смертности населения, прежде всего вследствие увеличения числа алкогольных интоксикаций, неконтролируемого широкомасштабного применения лекарственных препаратов, загрязнения окружающей среды, в том числе воды и продуктов питания, чужеродными химическими соединениями [1].

Рынок лекарственных препаратов растительного происхождения с доказанной антигепатотоксической активностью на сегодняшний день невелик, при этом проблема эффективной терапии далека от своего разрешения. Несмотря на использование достаточно активных профилактических мер и постоянно

совершенствующихся методов лечения, даже при комплексном применении высокоэффективных антигепатотоксических средств осложненные формы токсических гепатитов встречаются в 26–42% случаев, а у 15–25% больных существует проблема резистентности токсических гепатитов к самому современному терапевтическому воздействию [2].

В связи с этим актуальным является поиск средств, способных повышать резистентность печени к повреждающему действию токсинов и стимулировать процессы детоксикации [3].

Целью исследования является установление фармакологической активности при разработке оптимального способа получения средства, обладающего антигепатотоксической активностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила растительная композиция под условным названием «Пентафит», состоящая из корней и корневищ девясила высокого (*Inula helenium* L.), травы золототысячника обыкновенного (*Centáurium erythraea* Rafn.), цветков пижмы обыкновенной (*Anacétum vulgáre* L.), плодов шиповника (*Rosa* sp.) и плодов боярышника (*Crataegus* sp.).

Компоненты растительного сбора были подобраны с учетом многофакторных механизмов развития заболеваний гепатобилиарной

системы и соответствуют принципам фармакологической регуляции функций систем пищеварения [3–5].

По данным литературы, имеются сведения о противовоспалительном, спазмолитическом, желчегонном и гепатопротекторном действии биологически активных веществ, входящих в состав корней и корневищ девясила высокого, травы золототысячника обыкновенного, цветков пижмы обыкновенной, плодов шиповника и плодов боярышника [4–7]. В связи с вышесказанным в рамках поставленных задач исследование антигепатотоксической активности указанной растительной композиции является перспективным и прогнозируемым.

Для подтверждения антигепатотоксического эффекта, базируясь на данных о химическом составе, нами предложен следующий способ получения. Растительный сбор, содержащий 15% травы золототысячника обыкновенного, 10% цветков пижмы обыкновенной, 25% корневищ с корнями девясила высокого, 27,5% плодов шиповника, 22,5% плодов боярышника, трижды экстрагируют 45–55% спиртом этиловым при постоянном перемешивании при температуре 60–70°C в течение 2 часов. Объединенные извлечения упаривают в вакууме, очищают сепарированием и сушат.

В полученном экстракте содержатся полисахариды, флавоноиды, каротиноиды, органические кислоты, витамины, макро- и микроэлементы, эфирные масла и другие природные соединения. Стандартизация «Пентафита» осуществлена по сумме флавоноидов в пересчет на лютеолин-стандарт. Содержание суммы флавоноидов регламентируется не менее 1%. Наличие указанного спектра биологически активных веществ предполагает потенциальную антигепатотоксическую активность полученного экстракта. Способ получения средства, обладающего антигепатотоксической активностью, защищен патентом на изобретение №2689379 [8].

Работа выполнена в соответствии с федеральным законом «О лекарственных средствах» и Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Эксперименты выполнены на 120 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 №199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Дизайн исследований одобрен биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР (протокол № 7 от 1 октября 2018 года).

Гепатопротективную активность экстракта под условным названием «Пентафит» в подобранной ранее дозе 300 мг/кг и препарата сравнения карсила (АО «Софарма», Болгария) в изоэффективной дозе 50 мг/кг изучали в условиях модели хронического экспериментального тетрахлорметанового гепатита.

Для оценки антитоксической функции печени регистрировали продолжительность гексеналового сна по длительности нахождения крыс в боковом положении при внутрибрюшинном введении гексенала («МедПро Инк Лтд», Латвия) в дозе 60 мг/кг массы по рекомендации Гацура В.В. [9].

Повреждение печени вызывали внутрижелудочным введением крысам 50% масляного раствора тетрахлорметана (CCl₄) («Реахим», Россия) в объеме 0,4 мл на 100 г массы животного 1 раз в сутки в течение 4 дней [10].

О функциональной состоятельности монооксигеназной системы печени крыс судили

по количеству цитохрома P450 в микросомальной фракции печени. Содержание этого фермента измеряли на спектрофотометре Shimadzu (Япония) по методу Omura T. и Sato R. [11]. Микросомы из ткани печени животных выделяли по рекомендации Карузиной И.И., Арчакова А.И. [12]. Количество белка в микросомах определяли по методу Лоури [13]. Скорость инактивации восстановленного цитохрома P450 регистрировали при температуре 37°C через 3 минуты в течение 30 минут.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10,0 (США) [14]. Различия принимали значимыми при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение фармакотерапевтической эффективности «Пентафита» проводили при внутрижелудочном (1 раз в день) курсовом применении экстракта в виде водного раствора в ранее установленной экспериментально-терапевтической дозе 300 мг/кг в течение 10 дней при тетрахлорметановом гепатите у крыс, начиная со 2-го дня после первого введения повреждающего агента. В качестве препарата сравнения использовали растительный

гепатопротектор карсил в изоэффективной дозе 50 мг/кг.

Проведено изучение влияния «Пентафита» на длительность гексеналового сна у крыс с тетрахлорметановым гепатитом, результаты проведенных экспериментов представлены в табл. 1.

Предварительно нелинейные крысы были распределены на группы: интактная (20 крыс); контрольная (20 крыс); опытная 1 (20 крыс); опытная 2 (20 крыс). Животным опытной 1 вводили в желудок через зонд «Пентафит» в дозе 300 мг/кг в течение 10 дней при тетрахлорметановом гепатите у крыс, начиная со 2-го дня после первого введения повреждающего агента. Крысам опытной 2 вводили референтный препарат карсил в изоэффективной дозе 50 мг/кг по аналогичной схеме. Животным контрольной группы вводили в эквивалентном количестве воду очищенную по аналогичной схеме. Животные интактной группы служили дополнительным контролем.

Из табл. 1 следует, что при введении «Пентафита» продолжительность гексеналового сна у крыс сокращалась на 7-е и 14-е сутки опыта на 29% и 27% соответственно, что свидетельствовало о стимуляции исследуемым экстрактом детоксикационной функции печени в условиях модели тетрахлорметанового гепатита. Препарат сравнения карсил оказывал менее

Таблица 1

ВЛИЯНИЕ «ПЕНТАФИТА» НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ГЕКСЕНАЛОВОГО СНА У КРЫС ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ CCl_4 -ГЕПАТИТЕ, $M \pm M$

Группы животных	Продолжительность гексеналового сна, сек.	
	7 суток	14 суток
Интактная (H_2O), n=20	838±75	1103±78
Контрольная ($CCl_4 + H_2O$), n=20	1470±118	1294±55
Опытная 1 ($CCl_4 +$ «Пентафит» 300 мг/кг), n=20	1038±73*	943±70*
Опытная 2 ($CCl_4 +$ карсил 50 мг/кг), n=20	1268±212	1121±102

Примечание: здесь и далее: * – различия статистически значимы между данными контрольной и опытной групп при $P \leq 0,05$

выраженное действие, сокращая продолжительность гексеналового сна на 7-е и 14-е сутки опыта на 14%.

При тетрахлорметановом повреждении печени крыс введение «Пентафита» в экспериментально-терапевтической дозе 300 мг/кг оказывало благоприятное влияние на детоксицирующую функцию печени.

Проведено изучение влияния курсового введения «Пентафита» в экспериментально-терапевтической дозе 300 мг/кг на состояние монооксигеназной системы печени нелинейных крыс-самцов при токсическом гепатите, результаты проведенных экспериментов представлены в табл. 2.

Эксперименты проведены на нелинейных крысах, которые были распределены на группы: интактная (10 крыс); контрольная (10 крыс); опытная 1 (10 крыс); опытная 2 (10 крыс). Животным опытной 1 вводили в желудок через зонд «Пентафит» в экспериментально-терапевтической дозе 300 мг/кг в течение 7 дней при тетрахлорметановом гепатите у крыс, начиная со 2-го дня после первого введения повреждающего агента. Крысам опытной 2 вводили референтный препарат карсил в изоэффективной дозе 50 мг/кг по аналогичной схеме. Животным контрольной группы

вводили в эквивалентном количестве воду очищенную по аналогичной схеме. Животные интактной группы служили дополнительным контролем.

При оценке состояния монооксигеназной системы печени на 7-е сутки эксперимента при токсическом гепатите у крыс было установлено, что использование «Пентафита» в указанной дозе значительно повышало количество цитохрома P450 в микросомах печени.

Повышение на 54% ключевого фермента монооксигеназной системы, ответственного за детоксикационную функцию печени, сопровождалось замедлением скорости инактивации этого фермента за счет стабилизации мембранных структур. Препарат сравнения карсил также оказывал влияние на состояние монооксигеназной системы печени при токсическом гепатите. «Пентафит» снижал количество МДА в сыворотке крови крыс на 32%, что свидетельствует о его мембраностабилизирующей активности за счет содержания БАВ фенольной природы.

Таким образом, курсовое введение «Пентафита» в экспериментально-терапевтической дозе 300 мг/кг крысам с тетрахлорметановым гепатитом оказывает антигепатотоксическое и мембраностабилизирующее действие.

Таблица 2

ВЛИЯНИЕ «ПЕНТАФИТА» НА СОСТОЯНИЕ МОНООКСИГЕНАЗНОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ CCl₄-ГЕПАТИТЕ У КРЫС (7-Е СУТКИ)

Группы животных	Содержание цитохрома P ₄₅₀ в нмоль/мг белка	% инактивации цитохрома P ₄₅₀ к 30-минутной инкубации	Количество МДА в мкМ/мл сыворотки × мин.
Интактная (H ₂ O), n=10	0,79±0,04	21,2±2,0	3,99±0,40
Контрольная (CCl ₄ + H ₂ O), n=10	0,39±0,06	58,7±1,3	5,76±0,10
Опытная 1 (CCl ₄ + «Пентафит» 300 мг/кг), n=10	0,60±0,08*	18,1±0,9*	3,89±0,60*
Опытная 2 (CCl ₄ + карсил 50 мг/кг), n=10	0,53±0,07*	18,1±1,1*	4,49±0,40

ВЫВОДЫ

По результатам проведенных экспериментов установлено, что курсовое введение перорального полученного многокомпонентного средства под условным названием «Пентафит» в экспериментально-терапевтической дозе 300 мг/кг нелинейным крысам с экспериментальными повреждениями печени оказывает антигепатотоксическое, гепатопротективное и мембраностабилизирующее действие. Фармакотерапевтическое влияние «Пентафита» при токсическом повреждении печени обусловлено наличием в нем комплекса биологически активных веществ, прежде всего соединений фенольной природы [3,5].

Полученные результаты исследований аргументируют целесообразность применения полученного многокомпонентного средства «Пентафит», содержащего биологически активные вещества фенольной природы, в профилактике и комплексном лечении заболеваний печени.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ивашкин В.Т. Гастроэнтерология: национальное руководство / В.Т. Ивашкин – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 704 с.
2. Джавахян М.А. Анализ рынка современных средств гепатопротекторного действия / М.А. Джавахян, Ю.С. Канунникова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – №11. – С. 63–65.
3. Николаев С.М. Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний / С.М. Николаев. – Улан-Удэ: Изд-во БГУ, 2012. – 286 с.
4. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология. Руководство для врачей / С.Я. Соколов. – Москва: МИА, 2000. – 976 с.
5. Лубсандоржиева П.-Н.Б. Разработка и стандартизация фитосредств для лечения и профилактики заболеваний органов пищеварения / П.-Н.Б. Лубсандоржиева. – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2016. – 280 с.
6. Соколов С.Я. Справочник по лекарственным растениям / С.Я. Соколов, И.П. Замотаев. – М.: Медицина, 1990. – 510 с.
7. Вичканова С.А. Лекарственные средства из растений. Научное издание / С.А. Вичканова, В.К. Колхир, Т.А. Сокольская и др. – М: АДРИС, 2009. – 432 с.
8. Патент 2689379 РФ. Способ получения средства, обладающего антигепатотоксической активностью / Ферубко Е.В., Николаев С.М., Даргаева Т.Д. – №2019106135/19, заявл. 05.03.2019, опублик. 28.05.2019. – Бюлл. №16.
9. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М.: Медицина, 2000. – 352 с.
10. Венгеровский А.И. Методические рекомендации по изучению гепатопротективной активности лекарственных средств / А.И. Венгеровский, В.В. Удут, Д.В. Рейхарт // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – Москва: Гриф и К., 2012. – Часть первая. – 832 с.
11. Omura A.T., Sato R. The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. Solubilization, purification and properties / A.T. Omura, R. Sato // J. Biol. Chem. – 1964. – V. 239. – №7. – P. 2379–2385.
12. Карузина И.И. Выделение и свойства цитохрома P450 из микросом печени кроликов / И.И. Карузина, Г.И. Бачманова, Д.Э. Менгазетдинов и др. Биохимия. – 1979. – №6. – С. 1049–1057.
13. Авдеев В.Г. Методы определения концентрации белка / В.Г. Авдеев // Вопросы медицинской химии. – 1977. – №4. – С. 562–571.
14. Боровиков В.П. Популярное введение в современный анализ данных в системе Statistica / В.П. Боровиков. – М.: Горячая линия. Телеком, 2014. – 288 с.

RESEARCH AND DEVELOPMENT OF ANTIHEPATOTOXIC AGENT

E.V. Ferubko

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

A multicomponent plant agent under the conditional name «Pentafite» has been developed. As a result of the experiments carried out, it was found that its course administration per os at a dose of 300 mg/kg to nonlinear rats with experimental liver injuries has antihepatotoxic, hepatoprotective and membrane stabilizing effect.

Keywords: antihepatotoxic plant agent, toxic liver lesions, preclinical studies, antihepatotoxic action hepatoprotective activity