

УДК 616-092

<https://www.doi.org/710.34907/JPQAI.2020.49.88.007>

ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА РЕПЕШКА ВОЛОСИСТОГО НА МОДЕЛИ ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

Е.Н. Курманова, научный сотрудник отдела экспериментальной и клинической фармакологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва, kurmanova1968@yandex.ru

Л.Б. Стрелкова, канд. мед. наук ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

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

О.П. Шейченко, канд. хим. наук, ведущий научный сотрудник отдела фитохимии и стандартизации ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

Изучено влияние репешка волосистого (*Agrimonia pilosa* Ledeb.) травы экстракта сухого на состояние печени крыс в условиях экспериментального токсического гепатита. Фармакологические свойства экстракта изучали при его внутрижелудочном введении лабораторным животным в течение 3 суток. Экспериментальный гепатит у крыс вызывали однократным введением подкожно 50% масляного раствора тетрахлорметана через час после последнего введения исследуемого вещества и препарата-референта карсила. Из печени животных выделяли микросомальную фракцию, определяли содержание микросомального белка, а также показатели скорости монооксигеназных реакций, катализируемых цитохромом P_{450} – p -гидроксилирования анилина, N -деметилирования диметиланилина, отражающие активность детоксицирующей микросомальной системы печени. С учетом всех исследуемых показателей оценивали гепатопротекторные и детоксицирующие свойства экстракта по сравнению с препаратом сравнения карсилом. В результате

проведенных исследований было установлено, что при лечении токсического гепатита экстрактом репешка волосистого в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг нормализуется содержание микросомального белка, а содержание и скорость анилирования и деметилирования цитохрома P_{450} возрастает в микросомах печени по сравнению с контролем. Таким образом, экстракт репешка волосистого в изученных дозах оказывает гепатозащитное действие в отношении детоксицирующих ферментных систем цитохрома P_{450} печени крыс в условиях модели тетрахлорметанового гепатита.

Ключевые слова: репешка волосистого травы экстракт сухой, экспериментальный токсический гепатит, гепатопротекторная активность, антитоксический эффект

Значительная распространенность заболеваний печени, особая тяжесть их течения, гепатотоксическое действие ряда лекарственных препаратов, недостаточная номенклатура отечественных гепатотропных средств,

применяющихся в медицинской практике, обуславливают актуальность поиска новых лекарственных препаратов, обладающих гепатопротекторным действием [1].

В настоящее время идет поиск источников новых эффективных биологически активных веществ из растительного сырья для создания на их основе лекарственных средств с широким спектром действия, малой токсичностью и связанной с этим возможностью их длительного применения [2].

Перспективным объектом для разработки новых лекарственных препаратов с целью профилактики и лечения поражений печени является род *Agrimonia* семейства розоцветных (*Rosaceae*). Представителем этого рода является репешок волосистый (*Agrimonia pilosa* Ledeb.). Экстракты из надземной части растения оказывают противовоспалительное, антимикробное, тонизирующее, мочегонное, кровоостанавливающее при маточных и легочных кровотечениях, вяжущее, противоглистное, противоопухолевое действия, регулируют функцию печени и желчного пузыря [3]. Химический состав надземной части репешка волосистого (травы) включает флавоноиды (рутин, кверцетин, кемпферол, гиперозид, лютеолин, лютеолин-7-глюкозид), фенолкарбоновые кислоты (кофейная, хлорогеновая, эллаговая) [4].

Цель исследования: изучение влияния репешка волосистого травы экстракта сухого на состояние печени крыс в условиях экспериментального токсического гепатита для создания нового лекарственного растительного препарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ФГБНУ ВИЛАР получен репешка волосистого травы экстракт сухой. В отделе экспериментальной и клинической фармакологии проведено его фармакологическое изучение. Исследовано влияние экстракта на состояние

печени крыс в условиях экспериментального токсического гепатита. Использована модель токсического гепатита, вызванного введением однократно подкожно крысам тетрахлорметана [5]. Исследования выполнялись согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Минздрава России №199н от 01.04.2016, Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики»), Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств (2012 г.) и в соответствии с федеральным законом от 12.04.2010 №61-ФЗ (ред. от 28.11.2018) «Об обращении лекарственных средств». Исследования одобрены биоэтической комиссией (протокол от № 4 от 24.09.2018). При проведении эксперимента на модели тетрахлорметанового гепатита использованы белые нелинейные крысы-самцы массой тела 200–250 г в количестве 50 особей. Производитель животных – Филиал «Андреевка» ФГБУН «НЦБТ» ФМБА России (Московская область). Животные содержались в виварии ФГБНУ ВИЛАР на стандартном рационе.

Фармакологические свойства экстракта репешка волосистого изучали при его внутрижелудочном введении лабораторным крысам. Подопытные животные были разделены на 5 групп по 10 особей: первая группа – интактные животные; вторая – контрольные животные, у которых воспроизводилась модель токсического гепатита; третья, четвертая и пятая группы – опытные животные, которые дополнительно получали экстракт репешка волосистого в дозах 50 мг/кг, 100 мг/кг и препарат сравнения карсил в дозе 100 мг/кг, суспендированные в 1% крахмальной взвеси. Экстракт и карсил предварительно вводили 1 раз в сутки в течение 3 суток опытным группам лабораторных животных, в это же время контрольные крысы получали эквивалентный объем 1% крахмальной взвеси. Экспериментальный гепатит у животных вызывали однократным

введением подкожно 50% масляного раствора тетрахлорметана в дозе 0,4 мл на 100 г массы животного через час после последнего введения исследуемого вещества и препарата-референта. Через 48 часов крысы подвергали эвтаназии в CO₂-камере и извлекали печень для дальнейшего исследования.

Из печени животных выделяли микросомальную фракцию с применением метода дифференциального центрифугирования [6]. В микросомальных фракциях печени экспериментальных групп животных определяли содержание микросомального белка [7], а также показатели скорости монооксигеназных реакций, катализируемых цитохромом P₄₅₀ – р-гидроксилирования анилина, N-деметилирования диметиланилина (ДМА), отражающие активность детоксицирующей микросомальной системы печени. С учетом всех исследуемых показателей оценивали гепатопротекторные и детоксицирующие свойства

экстракта репешка волосистого по сравнению с препаратом сравнения карсиллом.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10,0 (США). Выборка симметричная. Значимость различий между выборками с распределением, приближающимся к нормальному, оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Различия принимали значимыми при p≤0,05.

Работа проведена по теме: «Проведение доклинических исследований отдельных фракций, субстанций и лекарственных препаратов из лекарственного растительного сырья», шифр темы №0576-2019-0009.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения гепатопротекторных и детоксицирующих свойств экстракта

Таблица 1

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА РЕПЕШКА НА СОДЕРЖАНИЕ МИКРОСОМАЛЬНОГО БЕЛКА ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

Группы животных, n= 10	Содержание микросомального белка, мг белка / г печени, M±m	Опыт/ контроль, %	Содержание цитохрома P ₄₅₀ , нмоль цит. P ₄₅₀ / мг белка, M±m	Опыт/ контроль, %
Интактная	2,25±0,14	72	0,544±0,020	153
Контрольная (модель CCl ₄ гепатита)	3,11±0,11	100	0,355±0,018	100
Опытная 1 (экстракт репешка волосистого, 50 мг/кг)	2,10±0,13*	67	0,471±0,014*	133
Опытная 2 (экстракт репешка волосистого, 100 мг/кг)	2,08±0,09*	68	0,557±0,010	156
Опытная 3 (карсил, 100 мг/кг)	1,88±0,07*	60	0,784±0,022*	220

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

репешка волосистого в сравнении с референтным препаратом карсилом в экспериментах на животных с воспроизведенным CCl_4 гепатитом приведены в табл. 1 и 2.

В табл. 1 представлены результаты по влиянию экстракта репешка на содержание микросомального белка цитохрома P_{450} в суспензии микросом печени крыс при токсическом гепатите.

На основании полученных результатов было установлено, что при экспериментальном тетрахлорметановом остром гепатите в микросомах печени достоверно увеличилось содержание микросомального белка на 28%, но снизилось содержание цитохрома P_{450} на 53%. Не исключено, что на содержание белка в микросомах влияют компенсаторные механизмы токсического повреждения ткани

печени. Известно, что гепатит негативно воздействует на клетки печени вследствие образования продуктов перекисного окисления липидов, что оказывает влияние на содержание цитохрома P_{450} [1,2].

В результате проведенных исследований выявлено, что при лечении гепатита экстрактом репешка волосистого в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг нормализуется содержание микросомального белка, а содержание цитохрома P_{450} возрастает в микросомах печени на 33% и 56% соответственно по сравнению с контролем. При введении животным препарата карсила нормализуется содержание микросомального белка, а содержание цитохрома P_{450} увеличивается в 2,2 раза.

В табл.2 представлены результаты оценки влияния экстракта репешка волосистого

Таблица 2

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА РЕПЕШКА ВОЛОСИСТОГО НА АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМА P450 В МИКРОСОМАЛЬНЫХ ФРАКЦИЯХ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕПАТИТЕ

Группы животных, n=10	Активность цитохрома P_{450} , $M \pm m$			
	Гидроксилирование анилина нмоль НАДФН / нмоль цит. P_{450} в минуту	Опыт/ контроль, %	Деметилирование ДМА, нмоль НАДФН / нмоль цит. P_{450} в минуту	Опыт/ контроль, %
Интактная	1,84±0,04	127	1,67±0,05	123
Контрольная (модель CCl_4 гепатита)	1,45±0,03	100	1,35±0,04	100
Опытная 1 (экстракт репешка волосистого, 50 мг/кг)	1,68±0,04*	116	1,90±0,04*	141
Опытная 2 (экстракт репешка волосистого, 100 мг/кг)	1,75±0,05*	121	2,00±0,06*	148
Опытная 3 (карсил, 100 мг/кг)	1,92±0,03*	132	2,33±0,06*	172

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

ВЫВОДЫ

и препарата сравнения карсила на гепатопротекторную и детоксицирующую функцию микросом печени. Активность детоксицирующей микросомальной системы печени оценивали по скорости ферментативных реакций, катализируемых цитохромом P_{450} , а именно, по реакции деметилирования с субстратом I типа – диметиланилином и по реакции р-гидроксилирования с субстратом II типа – анилином.

Как видно из представленных данных, в контроле в результате токсического влияния тетрахлорметана на печень снижалась специфическая ферментативная анилингидроксилазная и деметилазная активность цитохрома P_{450} .

Введение животным экстракта репешка волосистого в дозе 50 мг/мл и 100 мг/мл на фоне острого токсического гепатита показало гепатозащитную активность экстракта из травы репешка волосистого в отношении детоксицирующих ферментных систем цитохрома P_{450} печени крыс. Установлено, что при лечении гепатита экстрактом репешка волосистого в дозе 50 мг/кг и 100 мг/кг скорость анилирования возрастает на 16% и 21% соответственно, а скорость деметилирования возрастает на 41% и 48% соответственно. Это свидетельствует о ферментативной активности центров деметилирования цитохрома P_{450} и индуцирующем влиянии БАВ, содержащихся в экстракте репешка волосистого, на монооксигеназную систему печени. В данном эксперименте препарат сравнения карсил (100 мг/кг) показал гидроксилазную и деметилазную активность, превышающую активность экстракта репешка волосистого.

Таким образом, сухой экстракт репешка волосистого в изученных дозах оказывает гепатопротекторное действие в отношении детоксицирующих ферментных систем цитохрома P_{450} печени крыс в условиях модели тетрахлорметанового гепатита, менее выраженное, чем у препарата сравнения – карсила.

Экспериментально установлено, что сухой экстракт травы репешка волосистого в условиях моделирования тетрахлорметанового гепатита у крыс обладает гепатопротекторными и детоксицирующими свойствами в дозах 50 и 100 мг/кг; при этом отмечен дозозависимый эффект экстракта. Установлен активирующий эффект сухого экстракта репешка волосистого в дозе 100 мг/кг на ферменты микросомальной системы детоксикации печени крыс цитохрома P_{450} .

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Ивашкин В.Т. Гастроэнтерология: национальное руководство / В.Т. Ивашкин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008, – 704 с.*
2. *Рейзис А.Р., Борзакова С.Н., Аксенова В.А. Лекарственно-индуцированные поражения печени – актуальная проблема современной медицины // Гастроэнтерология. 2010. – №3. – С. 49–54.*
3. *Ханина М.Г., Ханина М.А. Фармакогностическое исследование репейника волосистого // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции / Под ред. Е.Н. Вергейчика, Н.Н. Каревой. – Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2007, №62. – С. 119–122.*
4. *Дудко В.В., Дегиль Н.Ю., Сапрыкина Э.В., Краснов Е.А., Бабилов В.Ю. Гепатопротекторная активность экстракта травы репешка волосистого // Фармация. 2009, №3. – С. 41–43.*
5. *Полянских Л.С., Петросян М.А., Жесткова Н.В., Балашова Н.Н. Экспериментальные модели патологии печени // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2017, №2. – С. 41.*
6. *Карузина И.И., Бачманова Г.И., Менгазетдинов Д.Э., Мясоедова К.Н., Жихарева В.О.,*

- Кузнецова Г.И., Арчаков А.И. Выделение и свойства цитохрома P450 из микросом печени кроликов // Биохимия. 1979, №6. – С. 1049–1057.
7. Авдеев В.Г. Методы определения концентрации белка // Вопросы медицинской химии. 1977, №4. – С. 562–571.

EVALUATION OF HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF PILOSE AGRIMONY EXTRACT ON TOXIC HEPATITIS MODEL

E.N. Kurmanova, L.B. Strelkova, E.V. Ferubko, O.P. Sheichenko

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (FGBNU VILAR), Moscow, Russia

The effect of Pilose agrimony herb dry extract on the state of the rat liver in experimental toxic hepatitis was studied. The pharmacological properties of the extract were studied during its intragastric administration to laboratory animals for 3 days. Experimental hepatitis in rats was caused by a single subcutaneous injection of 50% oil solution of carbon tetrachloride an hour after the last administration of the test substance and the reference drug carsil. Microsomal fraction was isolated from the liver of animals, the content of microsomal protein was determined, as well as the rate of monooxygenase reactions catalyzed by cytochrome P₄₅₀ – p-hydroxylation of aniline, N-demethylation of dimethylaniline and the rate of conjugation reaction involving glutathione transferase, reflecting the activity of the detoxifying microsomal system of the liver. Taking into account all the studied parameters, the hepatoprotective and detoxifying properties of the extract were evaluated in comparison with the comparison drug carsil. As a result of the conducted research, it was found that the treatment of hepatitis with the extract of Pilose agrimony at doses of 50 mg/kg and 100 mg/kg normalizes the content of microsomal protein, and cytochrome P₄₅₀ content, anylation and demethylation rates in liver microsomes increased compared to control. Dry purified extract of Pilose agrimony in the studied doses has a hepatoprotective effect against detoxifying enzyme systems of cytochrome P₄₅₀ in the rat liver under the conditions of a model of carbon tetrachloride hepatitis.

Keywords: Pilose agrimony herb dry extract, experimental hepatitis, hepatoprotective effect, antitoxic effect