

## ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ

**Харченко Ю. А., Ерёменко С. В. Авдонина О. О.**

*ФГБОУ ВПО «Белгородская государственная сельскохозяйственная академия им В. Я. Горина», г. Белгород, Россия, (308503, Белгородский р-н, пос. Майский, ул. Вавилова 1.), e-mail: kharchenko70@rambler.ru*

Для профилактики и лечения различных заболеваний печени все шире используются антиоксиданты природного происхождения. Изучен побочный продукт, получаемый при производстве дигидрокверцетина, получивший название биофлавоноидный комплекс лиственницы. В состав препарата вошли: олигомер дигидрокверцетина, терпеновые углеводороды, эфиры смоляных кислот, фитостерины, биофлавоноиды (дигидрокемпферол, кемпферол, кверцетин, изорамнетин, ливинин, спириобифлавоноиды). На модели острого токсического гепатита белых крыс, вызванного введением четырёххлористого углерода, показаны высокие гепатопротекторные свойства биофлавоноидного комплекса лиственницы. Проведено сравнение фармакологического действия препарата с ларивитолом. Следует отметить более выраженное влияние биофлавоноидного комплекса лиственницы, что биофлавоноидный комплекс лиственницы и ларивитол положительно влияют на восстановление функции печени, проявляющееся нормализацией содержания уровня ферментов переаминирования и щелочной фосфатазы в сыворотке крови, повышением уровня альбуминов и восстановлением функции гепатоцитов.

**Ключевые слова:** токсический гепатит, ферменты переаминирования, биофлавоноидный комплекс лиственницы, ларивитол.

## HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES OF NEW DRUGS

**Kharchenko Y. A., Eryomenko S. V., Avdonina O. O.**

*FGBOU VPO "Belgorod State Agricultural Academy, VJ Gorin, "Belgorod, Russia (308 503, Belgorod district, the village. May, Vavilova str. 1.), e-mail: kharchenko70@rambler.ru*

For the prevention and treatment of various liver diseases are increasingly being used antioxidants of natural origin. The preparation consisted of an oligomer of dihydroquercetin, terpene hydrocarbons, esters of resin acids, phytosterols, bioflavonoids (digidrokempferol, kaempferol, quercetin, izoramnetin, listvinidin, spirobioflavonoidy). In the model of acute toxic hepatitis in white rats induced by administration of carbon tetrachloride, show high hepatoprotective properties of bioflavonoid complex of larch. A comparison of the pharmacological action of the drug with larivitol is conducted. A more pronounced effect bioflavonoid complex of larch should be noted. It is established that the bioflavonoid complex of larch l arivitol have positive effect on the recovery of liver function, manifested by normalization of enzyme levels transamination and alkaline phosphatase in serum, by increased levels of albumin and by restoring the function of hepatocytes.

**Key words:** chronic hepatitis, enzymes transamination, bioflavonoid complex of larch, larivitol.

### **Введение**

В патогенезе токсического поражения печени большое значение имеет непосредственное действие метаболизируемого вещества на её микросомальную систему с образованием свободных радикалов, индуцирующих аутокаталитическое перекисное окисление микросомальных липидов, что в дальнейшем приводит к выраженным функциональным и структурным изменениям гепатоцитов [2, 5].

Образование свободных радикалов и реактивных метаболитов является важным механизмом повреждения клеток и развития патологических процессов в организме. Выделяют следующие реактивные молекулы, играющие роль в развитии некротического

повреждения гепатоцитов: супероксидный радикал, гипохлорит, хлорамины, синглетный кислород, пероксирадикалы, гидроксильный радикал [4].

Для профилактики и лечения различных заболеваний печени все шире используются антиоксиданты. Они замедляют или полностью ингибируют процессы свободнорадикального окисления, действуют на стадии образования свободных радикалов, их связывания и разрушения, а также утилизации продуктов окисления, из которых образуются новые радикалы. Особое внимание уделяется антиоксидантам природного происхождения [7].

Перспективным источником биологически активных соединений с антиоксидантными и антирадикальными свойствами считается применение биофлавоноидов, обладающих малой токсичностью, широтой терапевтического действия, а также возможностью длительного применения без риска возникновения побочных реакций. Опубликованы многочисленные данные по гепатозащитному действию флавоноидов [3].

**Цель исследования** – изучить гепатопротекторные свойства биофлавоноидного комплекса лиственницы на модели острого токсического гепатита белых крыс и сравнить его действие с ларивитолом.

Для реализации указанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. вызвать токсический гепатит у белых крыс путём применения четырёххлористого углерода;
2. установить лечебные свойства биофлавоноидного комплекса лиственницы и сравнить его действие с ларивитолом.

#### **Материал и методы исследования**

Изучение гепатопротекторных свойств препаратов проводили на белых беспородных крысах обоего пола массой 180–200 г [1]. При этом по принципу аналогов было создано 4 группы животных – одна контрольная и три опытных – по 12 крыс в каждой. Условия содержания и кормления были одинаковы для всех групп животных.

Первая группа служила контролем (интактные крысы). Острый токсический гепатит у крыс второй, третьей и четвёртой опытных групп вызывали внутривентральным введением четырёххлористого углерода ( $CCl_4$ ) на вазелиновом масле из расчёта 0,4 мл на 100 г массы тела в течение трех суток однократно. Третьей опытной группе сразу после окончания введения четырёххлористого углерода в течение 14 суток применяли биофлавоноидный комплекс лиственницы из расчёта 1 г/кг массы тела, и четвёртой опытной группе в течение такого же периода времени применяли ларивитол из расчёта 0,5 г/кг массы тела. Схема опыта представлена в табл. 1.

Таблица 1. Схема опыта

Группы		Применяемый препарат
Контрольная	1	-
Опытные	2	CCl <sub>4</sub>
	3	Биофлавоноидный комплекс лиственницы + CCl <sub>4</sub>
	4	Ларивитол + CCl <sub>4</sub>

Все манипуляции (взвешивание, введение препаратов, декапитация) осуществляли с 9<sup>00</sup> до 12<sup>00</sup> ч с целью исключения суточных влияний на метаболизм.

Для оценки эффективности действия препаратов проводили клинический осмотр животных, измерение массы и контроль некоторых биохимических показателей сыворотки крови (аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, креатинин, общий билирубин, щелочная фосфатаза, общий белок и т.д.). Биохимические исследования выполняли по стандартным методикам с использованием биохимического анализатора.

Цифровой материал исследований подвергался математической обработке в описании Н. А. Плохинского [6] с вычислением средних арифметических (M), их среднестатистических ошибок (m) и критерия достоверности (p). Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

Ларивитол представляет собой сыпучую порошкообразную массу, содержит в своём составе биофлавоноидный комплекс лиственницы (20 мг/г), витамин А (500 МЕ/г), витамин Дз (250 МЕ/г) и витамин Е (0,2 мг/г) и сорбент аэросил. Препарат выпускает ЗАО «Петрохим» (Белгород).

Нами, совместно с учёными-химиками ЗАО «Петрохим», был изучен побочный продукт, получаемый при производстве дигидрокверцитина, который получил название биофлавоноидный комплекс лиственницы. В состав препарата вошли: олигомер дигидрокверцетина, терпеновые углеводороды, эфиры смоляных кислот, фитостерины, биофлавоноиды (дигидрокемпферол, кемпферол, кверцетин, изорамнетин, ливтинин, спиробифлавоноиды).

### **Результаты исследований**

Во время проведения опыта внешние признаки интоксикации (у животных второй группы) проявлялись на второй – третий день после введения четырёххлористого углерода: отмечались вялость, гиподинамия, нежелание принимать пищу, потеря веса и др. В дальнейшем симптомы интоксикации постепенно нарастали и достигали своего максимума к шестому дню, а затем они постепенно убывали. У животных 3-й опытной группы, которым вводился биофлавоноидный комплекс лиственницы после применения четырёххлористого

углерода, явления интоксикации наступали несколько позже (на 4 – 5 сутки) и были менее выраженными.

Действие ларивитола на организм крыс было менее выражено, и масса животных изменялась в меньшей степени за весь период проведения эксперимента. Данные таблицы 2 показывают, что проведение интоксикации крыс четырёххлористым углеродом существенно влияет на их рост и развитие. Следует отметить прирост живой массы крыс первой группы и её снижение в группах, получавших гепатопротекторы. Однако менее выраженное снижение массы с некоторым увеличением её к концу опыта зафиксировано в третьей группе.

Таблица 2. Динамика массы крыс

Масса крыс	Контрольная группа	Опытные группы		
	1	2	3	4
	интактные	CCl <sub>4</sub>	биофлавноидный комплекс лиственницы + CCl <sub>4</sub>	ларивитол + CCl <sub>4</sub>
До опыта	190,9±4,2	187,6±6,1	191,4±3,7	185,2±3,9
Через 10 суток	194,3±4,6	154,2±3,7	188,3±4,1	169,3±2,7
Через 20 суток	199,7±5,1	161,3±4,4	196,5±3,6	173,3±3,1

Биохимические исследования сыворотки крови животных представлены в табл. 3.

Таблица 3. Биохимические показатели крови крыс

Показатели	Контрольная группа	Опытные группы		
	интактные	CCl <sub>4</sub>	Биофлавноидный комплекс + CCl <sub>4</sub>	Ларивитол + CCl <sub>4</sub>
AST, ед/л	338,2±5,94	365,1±6,10*	329,1±6,96	362,8±7,70*
ALT, ед/л	92,8±4,57	124,6±5,12**	93,5±4,20	97,7±3,42
Альбумины, г/л	31,7±0,78	31,1±0,64	39,2±0,81*	31,6±1,2
Общий белок, г/л	61,7±1,22	62,0±0,94	62,2±0,81	61,2±0,83
Мочевина, ммоль/л	5,7±0,62	6,9±0,59	6,3±0,74	4,9±0,80
Креатинин, мг/дл	0,4±0,31	0,34±0,29	0,3±0,36	0,3±0,33
Билирубин, мг/дл	2,7±0,54	2,48±0,39	2,45±0,44	2,5±0,42
Холестерин, ммоль/л	1,49±0,13	1,2±0,12	1,3±0,15	1,38±0,11

Щелочная фосфатаза, ед/л	430,2±5,27	451,8±5,29*	427,6±5,74	431,5±6,17
-----------------------------	------------	-------------	------------	------------

\*\* –  $p \leq 0,01$ ; \* –  $p \leq 0,05$ .

Из представленных в таблице данных видно, что во второй группе под действием четырёххлористого углерода происходило существенное повышение таких показателей как аспаратаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза (на 7,9 и 34,3 % по сравнению с контролем). Возрастание активности аланинаминотрансферазы обычно рассматривается в качестве показателя степени токсического поражения печени и повреждения плазматической мембраны.

Следует отметить, что в третьей и четвертой опытных группах, где после введения четырёххлористого углерода, крысам применяли биофлавоноидный комплекс лиственницы и ларивитол, не было отмечено существенного повышения этих ферментов. Так, после 14-суточного скармливания биофлавоноидного комплекса лиственницы, уровень аспаратаминотрансферазы даже немного снизился (на 2,7 %), а аланинаминотрансферазы – возрос (на 0,8 %) по сравнению с интактными животными. Такая же картина наблюдалась и после применения ларивитола. Повышение ферментов переаминирования было незначительным (на 7,2 и 5,3 %), но, ни в одном из случаев разница с контролем не подтвердилась статистически.

Анализируя полученные результаты, следует отметить достоверное увеличение альбуминов в сыворотке крови крыс третьей опытной группы, где наряду с четырёххлористым углеродом использовали биофлавоноидный комплекс лиственницы (на 23,7 % по сравнению с контролем, при  $p < 0,05$ ). Увеличение уровня альбуминов следует оценить положительно, так как это указывает на качественное функционирование печени. Уменьшение концентрации альбумина в крови указывает на снижение его производства в печени. Кроме того, при гипоальбуминемии осмотическое давление плазмы крови снижается. Это приводит к нарушению равновесия в распределении внеклеточной жидкости между сосудистым руслом и межклеточным пространством.

Повышение активности щелочной фосфатазы во второй группе после введения четырёххлористого углерода (на 6,4 %) характерно для холестатического синдрома, обусловленного нарушением желчевыделительной функции гепатоцитов и поражением желчных канальцев (внутрипеченочный холестаза). После применения биофлавоноидного комплекса лиственницы уровень щелочной фосфатазы наоборот снизился (на 0,6 % по сравнению с контролем), а после скармливания ларивитола – повысился (на 0,3 %), но, ни в одном из случаев разница с контролем не подтвердилась статистически, что свидетельствует о высокой терапевтической эффективности обоих препаратов.

Изменения остальных показателей сыворотки крови животных не имели статистического подтверждения с контрольными показателями.

При проведении макроскопических исследований установлено токсическое поражение печени после введения  $CCl_4$ . При этом отмечались жировая дистрофия, изменение окраски и дряблая консистенция. Необходимо отметить, что после применения биофлавоноидного комплекса лиственницы и четырёххлористого углерода, печень животных не имела существенных патологических изменений и мало отличалась от печени интактных крыс из первой группы (таблица 4).

Таблица 4. Морфологическая характеристика печени исследуемых крыс

Характеристика печени крыс	Контрольная группа	Опытные группы		
	Интактные	$CCl_4$	Биофлавоноидный комплекс + $CCl_4$	Ларивитол + $CCl_4$
Размеры, см	2,4×2,8	4,4×6,3	2,9×3,2	3,1×4,0
Масса, г	6,30	9,56	6,62	6,68
Цвет	Красно-коричневый	Ярко красно-коричневый	Желтый	Желтый
Капсула	Плотная, гладкая, блестящая	Плотная, диффузно утолщена, блестящая	Плотная, дряблая, блестящая	Плотная, дряблая, блестящая
Патологические очаги	Без патологических очагов	Очаги некроза	Небольшое количество очагов некроза	Умеренное количество очагов некроза
Гистологическая картина	Без патологии. Строение печени не нарушено	Портальные тракты склерозированы, пограничные пластинки разрушены. Гепатоциты с явлениями зернистости и жировой	Некротические процессы и жировое перерождение долек печени, более выраженные вокруг центральной	В долях печени умеренное количество очагов некроза и жирового перерождения. Наиболее интенсивные

		дистрофии. Очаговый некроз гепатоцитов	вены. На периферии широкая полоса нормальных гепатоцитов	изменения в центральной части печеночных долек. На периферии узкая полоса нормальных гепатоцитов.
--	--	--	--	---

### **Обсуждение результатов исследований и выводы**

На модели экспериментального токсического гепатита белых крыс нами были изучены гепатопротекторные свойства биофлавоноидного комплекса лиственницы и проведено его сравнение с ларивитолом.

Поступление четырёххлористого углерода в организм крыс приводило к развитию цитолитического (повышение в сыворотке крови содержания аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы), холестатического (повышение активности щелочной фосфатазы и концентрации билирубина), гепатодепрессивного (снижение общего белка и альбуминов) синдромов поражения печени. Всё это свидетельствует об усилении процессов перекисного окисления липидов и ослаблении функционирования антиоксидантной системы организма. Это обусловлено образованием радикала  $CCl_3$  при метаболизме четырёххлористого углерода, что является пусковым звеном в механизме повреждающего действия яда. Образовавшиеся радикалы, взаимодействуя с липидами, стимулируют развитие перекисного окисления липидов и вызывают повреждение биологических мембран.

При острой интоксикации четырёххлористым углеродом в паренхиме печени отмечались некроз, жировая дистрофия гепатоцитов и выраженная воспалительная реакция.

Применение крысам биофлавоноидного комплекса лиственницы в дозе 1,0 г/кг массы тела на фоне экспериментального токсического гепатита оказывало выраженное гепатопротекторное действие, которое проявлялось уменьшением нарушений функционального состояния печени (ферменты переаминирования и щелочная фосфатаза находились в пределах физиологической нормы и их значения незначительно отличались от показателей интактных животных).

Использование ларивитола у подопытных животных четвёртой группы также оказывало гепатопротекторное действие, хотя и менее выраженное, но также приводило к

нормализации уровня печёночных ферментов в сыворотке крови и нормализации функции печени.

Таким образом, проведённые нами исследования свидетельствуют о высоком гепатопротекторном действии обоих препаратов с небольшим преимуществом биофлавоноидного комплекса лиственницы.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что биофлавоноидный комплекс лиственницы и ларивитол можно рекомендовать в качестве гепатопротекторов при токсическом поражении печени животных.

### Список литературы

1. Венгеровский, А. И. Доклиническое изучение гепатозащитных средств / А. И. Венгеровский, И. В. Маркова, А. С. Саратиков; Сибирский медицинский университет // Ведомости Фармакопейного Комитета: Приложение к журналу «Фарматека». – 1999. – № 2. – С. 9-12.
2. Голиков С. Н., Саноцкий И. В., Тиунов Л. А. Общие механизмы токсического действия // АМН СССР. – Л.: Медицина, 1986. – 280 с., ил.
3. Додонов Н. С. Влияние флавоноидов на перекисное окисление липидов и активность антиоксидантных систем при токсическом поражении печени: Дис. ... канд. фарм. наук. Самара, 2005. – 188 с.
4. Косарев В. В., Бабанов С. А. Токсические (токсико-аллергические) гепатиты // Consilium medicum. Гастроэнтерология. – 2009. – № 2. – С. 29-30.
5. Кравченко Л. В, Трусов Н. В., Ускова М. А, Аксенов И. В., Авреньева Л. И., Гусева Г. В., Васильева М. А., Селифанов А. В., Тутельян В. А. Характеристика острого токсического действия четырёххлористого углерода как модели окислительного стресса. // Токсикологический вестник. – 2009. – № 1. – С. 12-18.
6. Плохинский Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. – М.: Изд-во Московского университета, 1987. – 367 с.
7. Сергеева Е. О. Влияние флавоноидов на механизмы развития окислительного стресса при токсических поражениях печени: Дис. ... канд. фарм. наук. Пятигорск, 2007. – 202 с.

### Рецензенты

Скворцов В. Н., д.в.н., заведующий Белгородским отделом Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. Я. Р. Коваленко, г. Белгород.

Мерзленко Р. А., д.в.н., профессор, зав. кафедрой инфекционной и инвазионной патологии ФГБОУ ВПО «Белгородская государственная сельскохозяйственная академия им. В. Я. Горина», г. Белгород.