

УДК 615.32:615.451.1:615.276

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОДИНАМІКИ ВОДНОГО ТА СПИРТОВОГО ЕКСТРАКТІВ ЛАСКАВЦЯ ЗЛОТИСТОГО

О.І.Набока, С.З.Хуарі, О.Ю.Кошова, А.В.Глуценко*

Національний фармацевтичний університет
Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації
Національного фармацевтичного університету*

Ключові слова: гепатит; гепатопротектори; мембраностабілізуюча дія; ласкавець золотистий

THE STUDY OF PHARMACODYNAMICS OF ALCOHOLIC AND AQUEOUS EXTRACTS FROM *BUPLEURUM AUREUM FISCH.*

O.I.Naboka, S.Z.Khouari, O.Yu.Koshevaya, A.V.Glushchenko*

National University of Pharmacy, Institute for Continuing Education of Pharmacy Professionals at the National University of Pharmacy*

Key words: hepatitis; hepatoprotectors; membrane-stabilizing action; Bupleurum aureum

Drug-induced liver injury has approximately 10 percent of adverse effects associated with pharmacotherapy. This issue is particularly important to pediatrics. The multifactorial pathogenesis of the liver injury identifies the prospects of finding new hepatoprotectors of the plant origin with a wide spectrum of the pharmacological activity. Bupleurum aureum (hare's ear) has long been used in folk medicine for the liver diseases treatment. This plant has a choleric, wound-healing, and tonic effect. Aqueous and alcoholic extracts of Bupleurum aureum contain a large amount of flavonoids (quercetin, isorhamnetin, rutin, narcissine), tannins and phytosterols. The aim of this study was to investigate the potential hepatoprotective and membrane-stabilizing effects of herbal extracts of the aerial part of Bupleurum Aureum on carbon tetrachloride-induced hepatitis in vivo. The study of pharmacodynamics of alcoholic and aqueous extracts from Bupleurum aureum Fisch. was carried out under conditions of the rats' acute experimental hepatitis caused by tetrachloromethane. It has been found that prophylactic introduction of extracts of the aerial part of Bupleurum Aureum to rats restores the bile secretion and synthetic function of the liver. It has been determined that the herbal extracts studied have hepatoprotective and membrane protective properties. High effectiveness and a wide spectrum of pharmacological properties of extracts of Bupleurum Aureum can be described by their chemical composition. The alcoholic extract of Bupleurum aureum has been found to possess the maximum efficiency. This extract is not inferior to found reference drugs "Silibor" and "Quercetine".

Однією з найважливіших проблем гепатології є ураження печінки ліками, які складають 10% від побічних реакцій, пов'язаних із застосуванням фармакологічних засобів. Особливо актуальною ця проблема є для педіатрії через недосконалість детоксикаційної системи печінки у дітей. Незважаючи на достатньо широкий арсенал гепатопротекторних засобів, проблема ефективної терапії уражень печінки залишається невирішеною. На сьогодні підвищується інтерес до лікарських рослин як джерела різноманітних біологічно активних речовин, які забезпечують широкий спектр фармакологіч-

ної активності засобу [7-9], що дозволяє впливати одразу на різні ланки патогенезу захворювань печінки. Однією з таких рослин є ласкавець золотистий (*Bupleurum aureum Fisch.*), який здавна застосовується в народній медицині для лікування захворювань печінки, виявляє жовчогінну, ранозагоювальну і тонізуючу дію. На кафедрі якості, стандартизації та сертифікації ліків ІПКСФ під керівництвом доцента Глуценко А.В. були розроблені водний та спиртовий екстракти з трави ласкавця золотистого, які містять флавоноїди (кверцетин, рутин, ізорамнетин, нарцисин), дубильні речовини та фітостерини. Аналіз

фітохімічного складу дозволяє припустити наявність у екстрактів антиоксидантної та гепатопротекторної дії [7, 9].

Метою даного дослідження стало вивчення мембранопротекторної та жовчогінної дії водного та 50% спиртового екстрактів ласкавця золотистого за умов гострого гепатиту.

Матеріали та методи

Досліди проведені на 46 щурах самцях масою 180-200 г. У період експериментів дослідні тварини знаходилися в стандартних санітарних умовах: при T° 19-24 $^{\circ}$ C, вологості не більше 50%, природному світловому режимі «день-ніч», на стандартному харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі. Усі маніпуляції з тваринами здійснювали згідно з санітарно-гігієнічними нормами та принципами «Європейської конвенції про за-

О.І.Набока – доктор біол. наук, професор, завідувач кафедри біології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

А.В.Глуценко – канд. фармацевт. наук, доцент кафедри стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

хист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Strasburg, 1986) відповідно до норм GLP [4].

Тварин поділили на 6 груп по 7 тварин у кожній: 1 група – негативний контроль (дистильована вода); 2 група – позитивний контроль (тетрахлорометан); 3 і 4 групи – відповідно водний та спиртовий екстракти ласкавця золотистого; 5 і 6 групи – препарати порівняння відповідно капсули «Силібор» та гранули «Кверцетин», які є аналогами за фармакологічною дією. Рослинні екстракти вводили у профілактичному режимі внутрішньошлунково один раз на день у дозі 5 мг/кг протягом 4-х діб. Капсули «Силібор» та гранули «Кверцетин» вводили в аналогічному режимі у дозах 100 мг/кг і 50 мг/кг відповідно. Після останнього введення досліджуваних засобів тваринам вводили внутрішньошлунково тетрахлорометан (ТХМ) у дозі 0,8 мл/100 г маси тварин у вигляді 50% олійного розчину [2]. Контролем служили тварини, яким вводили воду (негативний контроль). Через 24 год після введення ТХМ проводили дослідження жовчоутворювальної та синтетичної функції печінки тварин та визначали стан мембран еритроцитів, які є уніфікованою тест-системою для визначення мембранопротекторних властивостей засобів [3].

Жовчоутворювальну та синтетичну функції печінки тварин вивчали згідно з методичними рекомендаціями [2]. Для цього наприкінці експерименту щурів наркотизували розчином тіопенталу натрію у дозі 35 мг/кг. Жовч збирали годинними порціями протягом 3 год. Для визначення інтенсивності жовчовиділення розраховували швидкість секреції жовчі за три години спостереження в мг/хв \times 100 г⁻¹. Синтетичну функцію печінки оцінювали за вмістом жовчних кислот і холестерину в ній [3]. Піс-

ля збору жовчі тварин виводили з експерименту шляхом декапітації, вилучали й зважували печінку для визначення інтегрального показника стану загальнотрофічних процесів – масового коефіцієнта печінки.

Мембранопротекторні властивості досліджуваних екстрактів ласкавця золотистого вивчали за методом визначення спонтанного гемолізу еритроцитів за Ягером [1]. Даний метод заснований на вимірюванні концентрації позаеритроцитарного гемоглобіну, що надходить у сироватку крові внаслідок лізису мембран еритроцитів, викликаного перекисним окисненням ліпідів киснем повітря. Через 24 години після введення ТХМ у всіх тварин брали кров із хвостової вени, готували суспензію еритроцитів і визначали ступінь гемолізу у дослідних і контрольній групах ($\lambda = 540$ нм). Розрахунок проводили за формулою:

$$X = \frac{(E1 + E2)}{2E3} \times 100\%,$$

де: *E1* – екстинкція першої проби з робочим розчином; *E2* – екстинкція другої проби з робочим розчином; *E3* – екстинкція проби з дистильованою водою.

Отримані експериментальні дані статистично обробляли методами варіаційної статистики (вираховували середнє арифметичне та його стандартну похибку). При застосуванні методів математичної статистики був прийнятий рівень значущості $p < 0,05$. Для отримання статистичних висновків використовували параметричний критерій Ньюмана-Кейлса. Для проведення математичних розрахунків застосовували стандартний пакет статистичних програм «Statistica, v. 6,0» (StatSoft inc. USA).

Результати та їх обговорення

Отримані результати вивчення жовчосекреторної та синте-

тичної функції печінки наведені у табл. 1. Введення ТХМ викликало порушення функціонального стану печінки щурів з групи позитивного контролю. Спостерігали зниження швидкості секреції та порушення літогенних властивостей жовчі, про що свідчить достовірне підвищення холатохолестеринового коефіцієнта (ХХК) у 3,4 рази внаслідок підвищення вмісту холестерину у жовчі (табл. 1). Поряд з цим спостерігалось достовірне підвищення масового коефіцієнта печінки, що вказує на розвиток набряку та альтерації органу під впливом гепатотоксину.

Профілактичне введення водного та спиртового екстрактів не в однаковій мірі сприяло зниженню проявів гепатотоксичності ТХМ. Найбільш виражену захисну дію виявив спиртовий екстракт ласкавця золотистого. На тлі застосування засобу у щурів відновлювалася швидкість секреції жовчі, її літогенні властивості, про що свідчить нормалізація ХХК (табл. 1). Проте, масовий коефіцієнт печінки залишався на рівні тварин з групи позитивного контролю (табл. 1).

Менш виражену захисну дію визначено у водного екстракту ласкавця золотистого. Під впливом екстракту спостерігалася тільки невиразна тенденція до нормалізації досліджуваних показників (табл. 1).

Введення препаратів порівняння також чинило захисну дію на печінку тварин. Значення більшості досліджуваних показників не відрізнялися від значень тварин з групи негативного контролю (табл. 1). Проте найбільшу гепатопротекторну дію виявили капсули «Силібор», на тлі застосування якого відновлювалися як жовчогінна, так і секреторна функції печінки (табл. 1).

Отже, профілактичне застосування досліджуваних засобів сприяло зменшенню проявів гепатотоксичності ТХМ, відновленню жовчосекреторної та син-

Таблиця 1

Вплив водного та спиртового екстрактів ласкавця золотистого на функціональний стан печінки щурів за умов гострого гепатиту, викликаного тетрахлорометаном

Показники	Групи тварин					
	інтактний контроль	позитивний контроль	екстракт ласкавця золотистого, 5 мг/кг		гранули «Кверцетин» 50 мг/кг	капсули «Силібор», 100 мг/кг
			спиртовий	водний		
МКП, г/100 г	3,0±0,1	4,3±0,2*	4,4±0,2*	4,1±0,1*	4,0±0,3*	4,1±0,2*
Швидкість секреції жовчі, мл/100 г × год ⁻¹	1,00±0,07	0,60±0,05*	0,79±0,08	1,05±0,03**	0,67±0,06*/α	0,96±0,09**
Вміст жовчних кислот у жовчі, мг%/мл/100 г × год ⁻¹	532±35	353±45	486±61	728±72**	345±55	584±81
Вміст холестеролу у жовчі, мг%/мл/100 г × год ⁻¹	11,5±1,7	25,6±4,4*	21,8±1,6	17,3±3,3	13,7±2,8**	15,1±1,9**
Холато-холестероловий коефіцієнт	51±6	15±1*	26±6	55±15**	29±6	41±7

Примітки:

- 1) * – відмінності статистично значущі щодо групи інтактного контролю, $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса);
- 2) ** – відмінності статистично значущі щодо групи позитивного контролю, $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса);
- 3) α – відмінності статистично значущі щодо групи препарату порівняння капсул «Силібор», $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса).

тетичної функції печінки. Найбільш виразні гепатопротекторні властивості визначено у спиртового екстракту ласкавця золотистого, ефективність якого за виразністю дії не поступалася препаратам порівняння капсулам «Силібор» та гранулам «Кверцетин».

Результати з вивчення мембранопротекторної дії досліджуваних екстрактів наведені у табл. 2. Механізм гепатотоксичної дії ТХМ полягає в активації вільнорадикального окиснення ліпідів, що призводить до порушення структури і функції мембранного апарату клітини, змін функціональної активності мембранозв'язаних монооксигеназ в ендоплазматичному ретикулумі, пригнічення процесів трансформації ксенобіотиків та ендогенних метаболітів, зниження активності білоксинтетичних процесів [5, 6, 10]. Як показало проведене дослідження, введення ТХМ значно порушувало фізичні властивості мембран еритроцитів, збільшуючи лізис клітин майже у 2 рази (47,80±1,46% проти 24,74±1,40 в групі негативного контролю, табл. 2). Профі-

Таблиця 2

Вплив водного та спиртового екстрактів ласкавця золотистого на спонтанний лізис еритроцитів щурів за умов гострого гепатиту, викликаного тетрахлорометаном

Експериментальні групи	Виразність гемолізу, %	Активність, %
Негативний контроль	24,74±1,40	–
Позитивний контроль (CCl ₄)	47,80±1,46*	–
Водний екстракт ласкавця золотистого +CCl ₄	34,87±4,42*/**/α/β	27
Спиртовий екстракт ласкавця золотистого +CCl ₄	23,31±1,47**	51
Гранули «Кверцетин», 50 мг/кг+CCl ₄	27,76±2,57**	42
Капсули «Силібор», 100 мг/кг+CCl ₄	21,82±2,95**	54

Примітки:

- 1) * – відмінності статистично значущі щодо групи інтактного контролю, $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса);
- 2) ** – відмінності статистично значущі щодо групи позитивного контролю, $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса);
- 3) α – відмінності статистично значущі щодо групи препарату порівняння капсул «Силібор», $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса);
- 4) β – відмінності статистично значущі щодо групи препарату порівняння гранул «Кверцетин», $p < 0,05$ (за критерієм Ньюмена-Кейлса).

лактичне застосування водного та спиртового екстрактів ласкавця золотистого сприяло зниженню ступеня лізису еритроцитів у 1,4 і 2 рази у порівнянні з позитивним контролем. Мембранопротекторна активність водного екстракту ласкавця зо-

лотистого складала 27%, спиртового – 51% (табл. 2). Препарати порівняння гранули «Кверцетин» та капсули «Силібор» виявили практично однакову мембраностабілізуючу активність, яка складала 42% і 54% відповідно.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що при профілактичному введенні екстракту ласкавця золотистого виявляють гепатопротекторні властивості, а саме відновлюють

жовчосекреторну та синтетичну функцію печінки, а також виявляють мембранопротекторну дію. Найбільшу ефективність за умов гострого тетра-хлорометанового гепатиту ви-

явив 50% спиртовий екстракт ласкавця золотистого, який за виразністю дії не поступався препаратам порівняння гранулам «Кверцетин» та капсулам «Силібор».

ЛІТЕРАТУРА

1. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Кравченко В.М. та ін. Посібник до лабораторних і семінарських занять з біологічної хімії. – Х.: Основа, 1996. – 432 с.
2. Дроговоз С.М., Губський Ю.І., Скакун М.П. та ін. Експериментальне вивчення жовчогінної, холелітіазної та гепатопротекторної активності нових лікарських засобів / В кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. реком. за ред. чл-кор. НАМН України О.В. Стефанова. – К., 2001. – С. 334-351.
3. Мирошніченко В.П., Громашевская Л.Л., Касаткина М.Г., Козачек Г.А. // Лаб. дело. – 1978. – №3. – С. 149-153.
4. Надлежащая производственная практика лекарственных средств / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загоря, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. – К.: МОРИОН, 1999. – С. 508-545.
5. Скакун Н.П., Шманько В.В., Охримович Л.М. Клиническая фармакология гепатопротекторов. – Тернополь: Збруч, 1995. – 272 с.
6. Ahamed K.M.B., Krishna V., Chethan J.D. // European J. of Pharmacol. – 2010. – Vol. 631, №1-3. – P. 42-52.
7. Liu C.T., Chuang P.T., Wu C.Y. et al. // Phytother. Res. – 2006. – Vol. 20, №11. – P. 1003-1008.
8. Robak Jadwiga, Gryglewski Ryszara J. // Pol. J. Pharmacol. – 2000. – Vol. 48, №6. – P. 555-564.
9. Zhao W., Li J.J., Yue S.Q. et al. // Carbohydr. Polym. – 2012. – Vol. 89, №2. – P. 448-452.
10. Wang B.J., Liu C.T., Tseng C.Y. et al. // Food. Chem. Toxicol. – 2004. – Vol. 42, №4. – P. 609-617.

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОДИНАМІКИ ВОДНОГО ТА СПИРТОВОГО ЕКСТРАКТІВ ЛАСКАВЦЯ ЗЛОТИСТОГО

О.І.Набока, С.З.Хуарі, О.Ю.Кошова, А.В.Глуценко*

Національний фармацевтичний університет, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету*

Ключові слова: гепатит; гепатопротектори; мембраностабілізуюча дія; ласкавець золотистий

Ураження печінки ліками складають 10% від побічних реакцій, пов'язаних із застосуванням фармакологічних засобів. Особливо актуальною ця проблема є для педіатрії. Багатофакторність патогенезу уражень печінки визначає перспективність пошуку нових гепатопротекторів серед лікарських рослин, які виявляють широкий спектр фармакологічної дії. Однією з таких рослин є ласкавець золотистий (*Vipreum aureum* Fisch.), який здавна застосовується в народній медицині для лікування захворювань печінки, виявляє жовчогінну, ранозагоювальну та тонізуючу дію. Об'єктом дослідження стали водний та спиртовий екстракти з трави ласкавця золотистого, які містять флавоноїди (кверцетин, рутин, ізорамнетин, нарцисин), дубильні речовини та фітостерини, що дозволяє припустити наявність у екстрактів гепатопротекторної дії. На щурах з гострим тетрахлорометановим гепатитом проведено вивчення фармакодинаміки водного та спиртового екстрактів ласкавця золотистого. Встановлено, що за умов профілактичного введення екстракти ласкавця золотистого виявляють гепатопротекторні властивості, а саме відновлюють жовчосекреторну і синтетичну функцію печінки, а також виявляють мембранопротекторну дію. Профілактичне введення водного та спиртового екстрактів не в однаковій мірі сприяло зниженню проявів гепатотоксичності ТХМ. На тлі застосування засобу у щурів відновлювалася швидкість секреції жовчі, її літогенні властивості, про що свідчить нормалізація холестеринового коефіцієнта. Проте масовий коефіцієнт печінки залишався на рівні тварин з групи позитивного контролю. Найбільшу ефективність визначено у спиртового екстракту ласкавця золотистого, який за виразністю дії не поступався препаратам порівняння гранулам «Кверцетин» і капсулам «Силібор».

ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОДИНАМИКИ ВОДНОГО И СПИРТОВОГО ЭКСТРАКТОВ ВОЛОДУШКИ ЗЛОТИСТОЙ

О.И.Набока, С.З.Хуарри, Е.Ю.Кошова, А.В.Глуценко*

Национальный фармацевтический университет, Институт повышения квалификации специалистов фармации Национального фармацевтического университета*

Ключевые слова: гепатит; гепатопротекторы; мембраностабилизирующее действие; володушка золотистая

Лекарственные поражения печени составляют 10% от побочных реакций, связанных с применением фармакологических средств. Особенно актуальной эта проблема является для педиатрии. Многофакторность патогенеза поражений печени определяет перспективность поиска новых гепатопротекторов среди лекарственных

растений, которые проявляют широкий спектр фармакологической активности. Одним из таких растений является володушка золотистая (Vipreugit aureum Fisch.), которая издавна применяется в народной медицине для лечения заболеваний печени, оказывает желчегонное, ранозаживляющее и тонизирующее действие. Объектом исследования стали водный и спиртовой экстракты травы володушки золотистой, которые в своем составе содержат флавоноиды (кверцетин, рутин, изорамнетин, нарциссин), дубильные вещества и фитостерин, что позволяет предположить наличие у экстрактов гепатопротекторного действия. На крысах с острым тетрахлорметановым гепатитом проведено изучение фармакодинамики водного и спиртового экстрактов володушки золотистой. Установлено, что при профилактическом введении экстракты володушки золотистой оказывают гепатопротекторные свойства: восстанавливают желчсекреторную и синтетическую функцию печени, а также мембранопротекторное действие. Профилактическое введение водного и спиртового экстрактов в различной степени способствовало снижению проявлений гепатотоксичности тетрахлорметана (ТХМ). На фоне применения средства у крыс восстанавливалась скорость секреции желчи, ее литогенные свойства, о чем свидетельствует нормализация холатахолестеринового коэффициента. Однако, массовый коэффициент печени оставался на уровне животных из группы положительного контроля. Наибольшая эффективность была выявлена у спиртового экстракта володушки золотистой, который по выраженности действия не уступал препаратам сравнения гранулам «Кверцетин» и капсулам «Силибор».

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.
Тел. (57) 706-23-42. E-mail: elen_kosh@mail.ru.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 03.10.2014 р.