

Арыстан Л.И.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ОКСИМА ПИНОСТРОБИНА

L.I. Arystan

THE STUDYING OF OXIME PINOSTROBIN HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY

УДК:618.001(616-617)

Изучено гепатопротекторное действие оксима пиностробина на моделях острого тетрахлорметанового гепатита и хронического алкогольного гепатоза. Установлено, что оксимпиностробина в дозе 50 мг/кг уменьшает проявления синдромов цитолиза, холестаза и мезенхимального воспаления, восстанавливает белоксинтетическую функцию печени.

Ключевые слова: оксимпиностробин, гепатопротекторное действие, экспериментальный гепатит, алкогольный гепатоз.

The hepatoprotective effect of the oxime pinostrobin was studied on model of acute tetrahlormetan hepatitis and chronic alcohol hepatitis. It was established, that 50 mg/kg oxime pinostrobin reduces the manifestations of cytolysis, cholestasis and mesenchymal inflammation syndromes, restores the protein-synthesizing function of the liver.

Key words: oxime pinostrobin, hepatoprotective effect, experimental hepatitis, alcohol hepatitis.

Болезни печени различной этиологии широко распространены во всем мире. По данным ВОЗ, количество людей с патологией печени составляет около 2 миллиардов, что в 100 раз превышает распространенность ВИЧ-инфекции [1].

Многофакторность патогенеза поражений печени требует, чтобы и защита осуществлялась на различных уровнях и структурах, что определяет перспективность поиска новых гепатопротекторов среди флавоноидов, для которых выявлено более 40 видов фармакологической активности [2].

Среди огромного разнообразия лекарственных растений большой интерес представляет род тополь (*Populus*), семейства ивовых (*Salicaceae* L.). Препараты из почек тополя обладают высокой противовоспалительной, антимикробной, и ранозаживляющей активностью, что связано с высоким содержанием биологически активных веществ: флавоноидов, гидроксикоричных кислот и терпеноидов. Одним из перспективных видов данного рода является тополь бальзамический (*Populus balsamifera* L.), который в значительных объемах произрастает на территории Казахстана [3,4].

В международном научно-производственном холдинге «Фитохимия» проведена серия исследований, посвященных химическому анализу флавоноидов почек тополя бальзамического и ряда их производных [4].

Среди соединений, выделенных из почек тополя бальзамического, перспективным для разработки новых лекарственных средств представляется индивидуальное соединение, относящееся к флаванонам - пиностробин (5-гидрокси-7-метоксифлаванон) и в особенности его оксимированное производное - оксимпиностробина.

По результатам компьютерного математического моделирования биологической активности пиностробина и его производных с помощью компьютерной системы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) наиболее вероятными для пиностробина и его производных являются мембраностабилизирующая, антиоксидантная, гепатопротекторная активность [5].

Цель исследования:

Проведение фармакологических исследований оксимапиностробина с целью изучения его гепатопротекторной активности.

Материалы и методы исследования

Острый СС14 -гепатит воспроизводили путём введения *peros* с помощью зонда 3 раза через день 50% раствора СС14 в вазелиновом масле в дозе 0,15 мл/100 г массы тела животного [6]. Оксимпиностробина исследовали в диапазоне доз 25, 50 и 100 мг/кг при пероральном введении в виде суспензии в 1% крахмальной слизи по лечебно-профилактической схеме: в течение 7 дней до СС14, а затем на фоне воспроизведения модели (5 дней). Оксимпиностробина вводили ежедневно в одно и то же время до кормления животных за 1 час до введения гепатотоксина. Препарат сравнения «Карсил» изучали в дозе 100 мг/кг.

Хроническую алкоголизацию проводили путем перорального введения 40% этилового спирта в дозе 14 мл/кг [7] в течение 60 дней. Лечебное действие оксимапиностробина изучали в дозах 50 и 100 мг/кг в сравнении с карсилом в дозе 100 мг/кг. Через сутки после 60-дневной алкоголизации начинали вводить исследуемые вещества в течение 21 дня на фоне приема этанола в вышеуказанных дозах. Затем проводили забой животных опытных и соответствующих контрольных групп. Контролем служили животные, которые продолжали получать только 40% этанол в дозе 14 мл/кг 21 день.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ «Statistica 6,0». Полученные результаты представлены в виде «среднее значение ± стандартная ошибка среднего значения». Нормальность распределения показателей оценивали с использованием критерия Shapiro-Wilk's W- test. Межгрупповые отличия оценивали непараметрическим критерием Mann-Whitney U-test [8].

Результаты исследований и их обсуждение

Оценка гепатопротекторного действия и оп-ределения эффективной терапевтической дозы оксимапиностробина на модели острого тетрахлорметанового гепатита

Тетрахлорметан является наиболее известным гепатотоксином, применяемым для моделирования

заболеваний печени. Он подвергается микросомальному окислению при участии дитохрома Р-450 с образованием электрофильных ацилирующих интермедиатов и свободных радикалов, способных индуцировать перекисное окисление липидов и модифицировать биомолекулы в результате ковалентного связывания с ними. Это сопровождается развитием тяжелого поражения печени с проявлениями различных клинико-биохимических синдромов.

Как видно из таблицы 1, при остром токсическом гепатите увеличивается абсолютная и относительная масса печени по сравнению с интактными животными, что говорит о развитии жировой дистрофии. При этом лечебно-профилактическое применение ОП в дозах 25, 50 и 100 мг/кг не препятствует росту массы печени.

Таблица 1

Влияние оксимапиностробина на абсолютную и относительную массу печени крыс при остром тетралорметановом гепатите

Группы животных	Масса животных, г	Абсолютная масса печени, г	Относительная масса печени, %
Интактные крысы, п=6	178,7 ± 3,6	7,9 ± 0,3	4,5 ± 0,2
Контроль (без лечения), п=6	184,3 ± 6,1	9,8 ± 0,6*	5,3 ± 0,3*
Группа сравнения (карсил), п=6	190,4 ± 5,5	10,4 ± 0,3*	5,5 ± 0,2*
ОП в дозе 25 мг/кг, п=5	176,5 ± 4,6	10,0 ± 0,3*	5,7 ± 0,3*
ОП в дозе 50 мг/кг, п=8	173,0 ± 5,0	9,5 ± 0,6*	5,5 ± 0,3*
ОП в дозе 100 мг/кг, п=7	179,4 ± 6,6	9,6 ± 0,5*	5,3 ± 0,2*

Примечание: * - p<0,05 по сравнению со значениями у интактных животных; + - p<0,05 по сравнению со значениями у животных контрольной группы.

Из таблицы 2 видно, что у крыс с острым токсическим гепатитом уменьшается содержание глюкозы в сыворотке (55,0 ± 3,3 мг/дл) по сравнению с интактными (66,0 ± 1,1 мг/дл), что свидетельствует о нарушении в печени процессов, связанных с углеводным обменом. Как известно, нарушение углеводного обмена при патологии печени заключается в уменьшении синтеза гликогена, нарушении его расщепления и образования глюкозы из веществ неуглеводной природы (глюконеогенез происходит только в печени), что обуславливает развитие гепатогенной гипогликемии.

ных крыс (60-73 мг/дл), что говорит о лечебно-профилактическом действии оксимапиностробина.

Увеличение концентрации мочевины в сыворотке крови опытных животных до 6,49 ± 0,41 ммоль/л против 5,05 ± 0,45 у интактных (таблица 2) свидетельствует о развитии печеночно-клеточной недостаточности. Введение Карсила и оксимапиностробина препятствует увеличению концентрации мочевины в сыворотке крови (таблица 2). Кроме того, оксимапиностробина стимулирует белково-синтетические процессы в клетках печени, о чем свидетельствует статистически достоверное повышение концентрации общего белка в сыворотке крови на фоне его применения (таблица 2).

Таблица 2

Влияние оксимапиностробина на биохимические показатели сыворотки крови крыс при остром тетралорметановом гепатите

Группы животных	Гемоглобин, г/л	Общий белок, г/л	Глюкоза, мг/дл	Мочевина, ммоль/л
Интактные крысы, п=6	123,0 ± 5,8	65,7 ± 2,7	66,0 ± 1,1	5,05 ± 0,45
Контроль (без лечения), п=6	121,6 ± 5,3	69,8 ± 3,5	55,0 ± 3,3*	6,49 ± 0,41*
Группа сравнения (карсил), п=6	121,8 ± 8,5	68,2 ± 2,7	57,6 ± 5,0	4,61 ± 0,53"
ОП в дозе 25 мг/кг, п=5	—	66,7 ± 3,1	73,5 ± 4,0 ⁺	5,74 ± 0,88
ОП в дозе 50 мг/кг, п=8	134,4 ± 8,4	74,9 ± 2,6*	60,9 ± 3,4 ⁺	5,34 ± 0,49 ⁺
ОП в дозе 100 мг/кг, п=7	117,5 ± 4,6	74,0 ± 2,7*	58,3 ± 2,6	5,91 ± 0,57

Примечание: * - p<0,05 по сравнению со значениями у интактных животных; + - p<0,05 по сравнению со значениями у животных контрольной группы.

В таблице 3 приводятся основные биохимические показатели, отражающие развитие цитолитического синдрома (повышение активности АЛТ и АСТ, снижение соотношения АЛТ/АСТ), синдрома холестаза (повышение активности ЩФ, содержания общего билирубина), мезенхимального воспаления (повышение тимоловой пробы).

нию концентрации общего билирубина в сыворотке крови опытных животных, в дозе 50 мг/кг снижает активность АЛТ, в результате чего несколько возрастает коэффициент де Ритиса. Применение оксимапиностробина в дозах 50 и 100 мг/кг также способствует уменьшению единиц мутности в тимоловой пробе.

Как видно из таблицы 3, развитие токсического гепатита сопровождалось значительным повышением АЛТ и АСТ, билирубина, ЩФ. Оксимапиностробина в дозах 25 и 50 мг/кг способствует сниже-

Таким образом, наилучшим действием в отношении устранения проявлений синдромов цитолиза, холестаза и мезенхимального воспаления обладает ОП в дозе 50 мг/кг. То есть оптимальной терапевти-

ческой дозой оксимапиностробина на модели острого тетрахлорметанового гепатита является доза в 50 мг/кг.

Таблица 3

Группы животных	Билирубин, мкмоль/л	АЛТ, мкмоль/(сл)	АСТ, мкмоль/(С'Л)	Коэффициент де Ритиса, АСТ/АЛТ	Щелочная фосфатаза, нмоль/(с«л)	Тимоловая проба, ед. помутнения S-H
Интактные крысы, п=6	10,39±1,13	0,074±0,038	0,151±0,014	1,595±0,261	5702±651	0,84±0,16
Контроль (без лечения), п=6	35,78±11,29*	1,402±0,118*	0,427±0,036 *	0,308±0,018*	755Ш016	1,43±0,35
Группа сравнения (карсил), п=6	44,62±14,84*	1,545±0,046*	0,440±0,035 *	0,285±0,022*	9734±1346	1,38±0,35
ОП в дозе 25 мг/кг, п=5	21,98±6,01**	1,514±0,051 *	0,504±0,023 *	0,333±0,012*	—	1,76±0,67
ОП в дозе 50 мг/кг, п=8	19,94±2,80**	1,203±0,103* +	0,407±0,029 *	0,346±0,021*	7947±985	1,30±0,32
ОП в дозе 100 мг/кг, п=7	38,25±6,20*	1,290±0,152*	0,426±0,029 *	0,359±0,043*	7808±666	1,13±0,24

Примечание: *- p<0,05 по сравнению со значениями у интактных животных; + - p<0,05 по сравнению со значениями у животных контрольной группы.

Изучение специфической гепатозащитной активности оксимапиностробина на модели хронического алкогольного гепатоза

Как известно, алкогольное поражение печени в большой степени обусловлено окислительной деградацией этанола, протекающей в этом органе [9] при участии алкогольдегидрогеназы и микросомальной монооксигеназной системы. Избыточное поступление этанола приводит к накоплению ацетальдегида и повышению образования свободных радикалов в микросомальных транспортных цепях, что приводит к усилению перекисного окисления липидов, истощению антиоксидантных ресурсов и повреждению биомембран свободными радикалами и продуктами перекисного окисления липидов, что и определяется понятием окислительного стресса.

Из таблицы 4 видно, что при хроническом алкогольном гепатозе увеличивается относительная мас-

са печени. При этом исследуемые вещества не препятствуют данному росту.

При хроническом алкогольном гепатозе в группе без лечения снижается белок-синтетическая функция печени, о чем свидетельствует снижение концентрации общего белка в сыворотке крови. Карсил и оксимапиностробина в дозе 100 мг/кг восстанавливают белок-синтетическую функцию печени.

Влияние оксимапиностробина на восстановление биохимических показателей основных патологических синдромов поражения печени в сыворотке крови крыс при остром тетрахлорметановом гепатите

Влияние оксимапиностробина на биохимические показатели основных патологических синдромов поражения печени в сыворотке крови крыс при хроническом алкогольном гепатозе

Все остальные биохимические показатели остаются в пределах нормальных значений (таблица 4).

Таблица 4

Группа	Отн. масса печени, %	НЬ, г/л	Белок, г/л	хл, мг/дл	Билирубин, мкмоль/л	Тимоловая проба, ед. S-H	АлАТ, мкмоль/с*л	АсАТ, мкмоль/с*л	АСТ/АЛТ
Интактные крысы, п=6	3,6±0,1	143±7	71,1±1,2	60,4±4,8	20,6±4,8	0,73±0,15	0,397±0,041	0,341 ±0,036	0,89±0,11
Контроль (без лечения), п=6	4,1±0,1*	140±5	65,3±0,5*	62,7±3,2	22,8±5,1	0,86±0,16	0,344±0,031	0,317±0,005	0,96±0,08
Группа сравнения (карсил), п=6	4,2±0,4*	129±6	72,0±1,0+	65,7±2,4	27,2±9,2	0,94±0,31	0,464±0,033	0,386±0,050	0,83±0,07
ОП в дозе 50 мг/кг, п=7	4,5±0,2*	124±6	65,8±1,3*	55,1±4,2**	23,1±5,7	1,19±0,23	0,467±0,041	0,311±0,014	0,70±0,06
ОП в дозе 100 мг/кг, п=6	4,3±0,1*	125±4	69,3±1,0+	64,9±3,9	24,8±7,0	0,81 ±0,13	0,477±0,019	0,320±0,035	0,68±0,08

Примечание: *- p<0,05 по сравнению со значениями у интактных животных; + - p<0,05 по сравнению со значениями у животных контрольной группы.

Выводы

1. Изучено гепатопротекторное действие оксимапиностробина на модели острого тетрахлорметанового гепатита. Наилучшим действием в от-

ношении устранения проявлений синдромов цитолиза, холестаза и мезенхимального воспаления обладает оксимапиностробина в дозе 50 мг/кг.

2. Изучено гепатопротекторное "действие оксимапиностробина на модели хронического алкогольного гепатоза. При хроническом алкогольном гепатозе в группе без лечения снижается белок-синтетическая функция печени, о чем свидетельствует снижение концентрации общего белка в сыворотке крови. Карсил и оксимапиностробин в дозе 100 мг/кг восстанавливают белок-синтетическую функцию печени.
3. Поляков В.В., Дудырина Е.Ф. Химическое изучение почек тополя бальзамического // В сб.: Физиолого-биохимические аспекты изучения лекарственных растений. - Новосибирск, 1998. - С.50-51.
4. Исследование взаимосвязи «структурно-биологическая активность в ряду растительных веществ и поиск новых фитопрепаратов: Отчет о НИР (заключит.) /РГКП «ИФХ МОН РК», Караганда (2005); Руков-ль Гуляев А.Е. №ГР 0103РК00174,- 56 с.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. - 2-е издание, перераб. и доп. - М.: ОАО «Издательство « Медицина», 2005 - 832 с.: ил.
7. Мансурова, И.Д. Особенности протекания хронической алкогольной интоксикации / И.Д. Мансурова. М.: Медицина, 1988. - 342 с.
8. Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. - Л.: Наука, - 1963,- 151 с.
9. Буеверов, А.О. Алкогольная болезнь печени / А.О. Буеверов // Consilium medicum. - 2002. - Приложение. С. 23-26.

Литература:

1. Дрогвоз, С.М. Современные подходы к терапии заболеваний гепатобилиарной системы / С.М. Дрогвоз, Е.Г. Щекина, А. Ушакова // Провизор. - 2008. - №8. -С. 19-22.
2. Плотников, М.Б. [идр.] Лекарственные препараты на основе диквертина. - Томск: Изд-во Том. Ун-та, 2005. - 228 с. Поляков, В.В., Адекенов С.М. Биологически активные соединения растений рода PopulusL. и препараты на их основе / В.В. Поляков, С.М. Адекенов. - Алматы: «Гылым», 1999. - 160 с.

Рецензент: д.м.н., профессор Мусаев А.И.