

Е. В. Ферубко

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ НОВОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ

DOI 10.25789/YMJ.2020.70.28

УДК: 615;615.243;616.33;616.34

Исследовалась фармакологическая активность суммы фенольных соединений, выделенной из многокомпонентного экстракта «Гексафит», обладающего желчегонной активностью, и её роль в механизме действия данного экстракта. Установлено положительное влияние суммы фенольных соединений на холатообразующее, холатовыделительное, антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие экстракта «Гексафит» в экспериментах на лабораторных животных.

Ключевые слова: многокомпонентный растительный экстракт, сумма фенольных соединений, желчегонное действие.

The pharmacological activity of the sum of phenolic compounds isolated from the multicomponent extract "Hexafeet", which has choleric activity, and its role in the mechanism of action of this extract were studied. The positive effect of the sum of phenolic compounds on the cholate-forming, cholate-separation, antioxidant and membrane-stabilizing effect of "Hexafeet" extract in experiments on laboratory animals has been established.

Keywords: multicomponent plant extract, sum of phenolic compounds, choleric effect.

Введение. Заболевания органов пищеварения занимают ведущее место в общей структуре болезней человека и для них свойственны рецидивирующее течение, функциональный характер расстройств при органической природе патологии [14, 9].

Применение желчегонных средств растительного происхождения показано при хронических заболеваниях печени, желчного пузыря и желчевыводящих путей [11]. Арсенал лекарственных средств растительного происхождения, обладающих желчегонной активностью, невелик и представлен сборами, а также очищенными экстрактами в форме таблеток фламина, калефлона и хофитола, раствором хофитола для приема внутрь, таблетками аллохола и др. [4].

В этой связи расширение номенклатуры лекарственных средств, обладающих желчегонной активностью, является перспективным. Учитывая это обстоятельство, создание новых и эффективных лекарственных средств на основе рациональной растительной композиции является целесообразным [5, 12, 13].

На основании информационно-аналитического изучения литературы и данных предварительного фитохимического изучения растительного сырья нами был разработан экстракт сухой

под условным названием «Гексафит», обладающий желчегонной активностью, благодаря содержанию в нем БАВ, прежде всего фенольной природы [8].

В этой связи целью наших исследований явилось выяснение роли суммы фенольных соединений, выделенной из гексафита, для трактовки механизма его действия, в частности желчегонной активности.

Материалы и методы исследования. Объект исследований – сумма фенольных соединений, выделенная из экстракта «Гексафит».

Экстракт сухой, под условным названием «Гексафит», получен из следующих видов растительного сырья: цветки бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium* L.) – 300 г, цветки пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.) – 100 г, плоды шиповника (*Rosa* sp.) – 100 г, листья крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.) – 100 г, листья мяты перечной (*Mentha piperita* L.) – 50 г, корни солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L.) – 50 г.

Гексафит получен при совместном экстрагировании компонентов горячей (75-85 °C) водой. В нем содержатся полисахариды, флавоноиды, каротиноиды, органические кислоты, витамины, макро- и микроэлементы, эфирные масла и другие природные соединения. Доминирующими компонентами в полученном экстракте являются фенольные соединения, которые составляют 35-37%. Стандартизация экстракта «Гексафит» осуществлена по сумме флавоноидов в пересчете на лютеолин-стандарт и

изосалипурпозид-стандарт, при этом регламентируется содержание суммы флавоноидов не менее 4 % в первом случае и не менее 15 % во втором случае [8].

Сумма фенольных соединений, выделенная из гексафита, получена на полиамидном сорбенте фирмы «WOEL» илюированием спирто-водной смесью в возрастающей концентрации.

Работа выполнена в соответствии с Федеральным законом «О лекарственных средствах», с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств». Эксперименты проведены 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 Приказу МЗ РФ за № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», по нормам надлежащей лабораторной практики (GLP). Исследования одобрены Биоэтической комиссией института (протокол № 7 от 1 октября 2018 года).

Проводили изучение влияния суммы фенольных соединений гексафита на желчегонную функцию печени intactных крыс при однократном введении в дозах 100 мг/кг и 500 мг/кг.

Желчь у наркотизированных крыс (тиопентал натрия, 45 мг/кг) получали по общепринятой методике [7] с помощью полиэтиленовой канюли,

вставленной в общий желчный проток. О степени желчегонной активности суммы фенольных соединений, выделенной из гексафита, судили по скорости секреции и общему количеству выделенной желчи у крыс, которую собирали каждый час в течение 4 ч, а также по содержанию в желчи желчных кислот.

Определение антиоксидантной активности суммы фенольных соединений, выделенной из гексафита, проводили при внутрижелудочном (1 раз в день) курсовом применении в указанных дозах в течение 10 дней при тетрахлорметановом (CCl_4) гепатите у крыс, начиная со 2-го дня после первого введения повреждающего агента. Повреждение печени вызывали внутрижелудочным введением крысам 50 % масляного раствора тетрахлорметана в объеме 0,4 мл/100 г массы животного 1 раз в сутки в течение 4 дней [2]. Крысы контрольной группы получали воду, очищенную в соответствующем объеме по схеме введения, аналогичной введению суммы фенольных соединений, выделенной из гексафита. Исследования проводили через 7, 14 и 21 сут. от начала эксперимента. Для оценки свободнорадикального окисления липидов был использован метод хемилюминесцентного анализа липидов. Спонтанную хемилюминесценцию липидов печени, индуцированное свечение гомогената из этого органа регистрировали на специальной квантометрической установке, предназначенной для измерения слабых световых потоков [3]. Липиды из ткани печени экстрагировали по методу Folch J. с соавторами [10] хлороформ-метаноловой смесью, свежеприготовленной в соотношении 2:1 по объему.

Результаты исследований обрабатывали статистически с применением пакета программ Microsoft Office Excel 2007, Statistica 6.0. Вычисляли среднюю арифметическую (M), ошибку средней арифметической (m). Определение нормальности распределения переменных проводили на основании гистограмм распределения, величин асимметрии и эксцессов. Для оценки достоверности различий выборок, близких к нормальному распределению, применяли параметрический t -критерий Стьюдента. Различия между сравниваемыми значениями считали значимыми при уровне вероятности 95% и более ($p < 0,05$) [1].

Результаты и обсуждение. В целях уточнения механизма действия гексафита были проведены специальные опыты с введением intactным крысам

суммы фенольных соединений, выделенной из него. Изучалось влияние суммы фенольных соединений, выделенной из гексафита, на скорость секреции желчи (табл.1) и на содержание желчных кислот в желчи у intactных крыс (табл.2).

Предварительно крысы были распределены на 3 группы: контрольная, опытная 1-я и опытная 2-я, по 8 крыс в каждой группе. Сумму фенольных соединений гексафита крысам опытных групп вводили однократно *per os* в дозах 100 и 500 мг/кг. Крысам контрольной группы вводили в эквивалентном количестве воду, очищенную однократно *per os*.

Результаты показывают, что введение intactным крысам указанной суммы фенольных соединений сопровождалось ускорением секреции желчи. Данный специфический фармакологический эффект суммы фенольных соединений в дозе 500 мг/кг был более выраженным, чем при дозе 100 мг/кг. Продолжительность холеретической реакции в этих условиях была высокой (4-5 ч). Таким образом, установлено желчегонное действие суммы фенольных соединений, выделенной из гексафита.

Введение intactным крысам указанной суммы фенольных соединений сопровождалось повышением синтеза желчных кислот, благодаря этому содержание их в выделяемой желчи возросло почти в 2 раза по сравнению

с данными в контроле. Установленный фармакологический эффект суммы фенольных соединений в дозе 500 мг/кг был также более выраженным, чем при использовании ее в дозе 100 мг/кг. В результате проведенных экспериментов установлено холатообразующее и холатовыделительное действие изучаемой суммы фенольных соединений.

В последующем, в соответствии с задачами исследования, были проведены специальные опыты по оценке антиоксидантного действия суммы фенольных соединений гексафита. На модели токсического гепатита, вызванного введением тетрахлорметана крысам, изучали динамику свободнорадикального окисления липидов печени под влиянием суммы фенольных соединений.

Предварительно крысы были распределены на 4 группы: intactная, контрольная, опытная 1-я и опытная 2-я, по 24 крысы в каждой группе. Крысам опытной 1-й группы вводили в желудок через зонд сумму фенольных соединений гексафита в дозе 100 мг/кг 1 раз в сут. в течение 10 дней, начиная со 2-го дня после первого введения повреждающего агента. Крысам опытной 2-й вводили сумму фенольных соединений гексафита в дозе 500 мг/кг по аналогичной схеме. Животным контрольной группы вводили в эквивалентном количестве воду, очищенную по аналогичной схеме. Животные intact-

Таблица 1

Влияние суммы фенольных соединений гексафита на скорость секреции желчи у intactных крыс

Группа животных	Доза, мг/кг	Скорость секреции желчи в мг/мин на 100,0 г				
		1 ч	2 ч	3 ч	4 ч	5 ч
Контрольная	-	4,1±0,3	4,3±0,4	3,9±0,4	3,2±0,1	2,8±0,2
Опытная 1-я	100	3,6±0,2	4,9±0,4	5,6±0,5*	4,7±0,4*	3,4±0,2
Опытная 2-я	500	4,2±0,2	5,9±0,5*	6,4±0,5*	6,4±0,5*	5,2±0,3*

Примечание. В табл. 1-3 * – различия статистически значимы между данными контрольной и опытной групп при $p < 0,05$.

Таблица 2

Влияние суммы фенольных соединений гексафита на содержание желчных кислот в желчи у intactных крыс

Группа животных	Доза, мг/кг	Содержание желчных кислот за 1 ч, мг/100,0 г				Всего холатов за 4 ч, мг/100,0 г
		2 ч	3 ч	4 ч	5 ч	
Контрольная	-	1,50±0,4	1,35±0,3	0,80±0,4	0,61±0,1	4,26±0,3
Опытная 1-я	100	1,80±0,4	2,80±0,6*	2,19±0,5*	1,25±0,4*	8,04±0,5*
Опытная 2-я	500	2,46±0,4	2,56±0,5*	2,77±0,5*	2,08±0,2*	9,87±0,5*

ной группы служили дополнительным контролем.

Динамика изменения показателей хемилюминесценции липидов печени под влиянием суммы фенольных соединений экстракта при экспериментальном (CCI4) гепатите у белых крыс изучена на 7-е, 14-е и 21-е сут. (табл. 3).

ют резервные возможности печени, вследствие чего происходят функциональные и структурные перестройки, проявляющиеся повышением желчеобразовательного и желчевыделительного процессов, уменьшением выраженных расстройств обмена веществ и предотвращением грубых наруше-

Таблица 3

Динамика изменения показателей хемилюминесценции липидов печени (имп./с) под влиянием суммы фенольных соединений экстракта при экспериментальном (CCI₄) гепатите у крыс

Хемилюминесценция липидов печени в группах крыс				
Срок исследования, сут.	интактная	контрольная	сумма фенольных соединений гексафита в дозах, мг/кг	
			100	500
			опытная 1-я	опытная 2-я
7-е	51,5±3,8	153,6±15,4	113,3±10,3*	101,0±9,5*
14-е	49,2±5,9	168,2±6,2	112,2±7,2*	96,7±12,1*
21-е	47,5±3,2	75,0±9,0	62,4±7,4	63,2±3,1

Результаты проведенных исследований показали, что введение суммы фенольных соединений гексафита характеризуется выраженным торможением свечения липидов печени. На фоне её введения в дозе 100 мг/кг скорость радикальных реакций снижается на 15,2-33,3 % в зависимости от сроков исследования и развития патологического процесса в печени.

Более выраженный ингибирующий эффект на процессы свободнорадикального окисления липидов в поврежденном органе был обнаружен при применении суммы фенольных соединений гексафита в дозе 500 мг/кг. В сроки развития гепатита – 7-е, 14-е и 21-е сут. снижение уровня слабого свечения липидов печени составило 25,5; 42,6 и 15,8 % соответственно.

Таким образом, интенсивность свободнорадикального окисления липидов под влиянием суммы фенольных соединений, выделенной из экстракта «Гексафит», значительно снижается. Как известно, эта способность фенольных соединений обусловлена их мембраностабилизирующим и антиоксидантным действием [6].

Оказывая мембраностабилизирующее действие, сумма фенольных соединений, выделенная из гексафита, повышает функциональную активность гепатоцитов, мобилизу-

ет в структуре органов гепатобилиарной системы.

Заключение. Результаты последовательно проведенных серий экспериментов для выяснения роли фенольных соединений в механизме действия экстракта «Гексафит», в том числе в проявлении желчегонной активности, позволили сделать вывод о положительном влиянии суммы фенольных соединений, выделенной из гексафита, на проявление желчегонной, антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности экстракта «Гексафит».

Литература

- Боровиков В.П. Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA / В.П. Боровиков. – М.: Горячая линия. Телеком, 2014. – 288 с.
- Borovikov V.P. A popular introduction to modern data analysis in the STATISTICA system / V.P. Borovikov. – M.: Hot line. Telekom, 2014. – 288 p.
- Буеверов А.О. Лекарственные поражения печени / А.О. Буеверов // Российский медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 107-110.
- Bueverov A.O. Liver damage with drugs / A.O. Bueverov // Russian medical journal. – 2012. – № 3. – P. 107-110.
- Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю.А. Владимиров // Вестник РАМН. – 1988. – №7. – С. 43-50.
- Vladimirov Yu.A. Free radicals and antioxidants / Yu.A. Vladimirov // RAMN Herald. – 1988. – №7. – P. 43-50.

4. Государственный реестр лекарственных средств – URL <https://grls.rosminzdrav.ru/> (дата обращения: 07.01.2020).

State register of medicines. URL <https://grls.rosminzdrav.ru/> (accessed on 07.01.2020)

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.

Lubsandorzheeva P.-N.B. Development and standardization of herbal medicines for the treatment and prevention of digestive diseases / P.-N.B. Lubsandorzheeva. – Ulan-Ude: Izd-vo BNC SO RAN, 2016. – 280 p.

6. Николаев С.М. Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний / С.М. Николаев. – Улан-Удэ: Изд-во БГУ, 2012. – 286 с.

Nikolaev S.M. Phytopharmacotherapy and disease phytopharmacoprophylaxis / S.M. Nikolaev. – Ulan-Ude: Izd-vo BGU, 2012. – 286 p.

7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

Guidelines for preclinical studies of drugs. Part 1. – M.: Grif & Co, 2012. – 944 p.

8. Ферубко Е.В. Средство, обладающее желчегонной активностью, и способ его получения: Патент 2700681 Российской Федерации № 2700681 / Ферубко Е.В., Николаев С.М., Даргаева Т.Д. // Бюл. № 26. Заявл. 13.06.2019, опубл. 19.09.2019.

Ferubko E.V. Agent with choleretic activity and method for its preparation. Patent 2700681 of the Russian Federation / E.V. Ferubko, S.M. Nikolaev, T.D. Dargaeva // Bulletin № 26. Decl. 13.06.2019, publ. 19.09.2019.

9. Циммерман Я.С. Нерешенные и спорные проблемы современной гастроэнтерологии / Я.С. Циммерман. – М.: МЕДпресс-информ, 2013. – 224 с.

Cimmerman Ya. S. Unresolved and controversial issues of modern gastroenterology / Ya. S. Cimmerman. – M.: MEDpress-inform, 2013. – 224 p.

10. Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues / J. Folch, M. Less, A.G.H. Sloane-Stanley // Journal of Biological Chemistry. – 1957. – Vol. 226. – P. 497–509.

11. Hirschfield G.M. Pathogenesis of cholestatic liver disease and therapeutic approaches / G.N. Hirschfield, E.J. Heathcote, M.E. Gershwin // Gastroenterology. – 2010. – Vol. 139. – P. 1481–1496. doi: 10.1053/j.gastro.2010.09.004.

12. Medicinal plants with hepatoprotective activity in Iranian folk medicine / M.A. Samani, N. Kafash-Farkhad, N. Azimi [et. al.] // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2015. – Vol. 5. – P. 146–157.

13. Natural products: perspectives in the pharmacological treatment in gastrointestinal anisakiasis / A. Valero, M.C. Romero, M. Gomez-Mateos [et. al.] // Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. – 2015. – Vol. 8. – P. 612-617. doi: 10.1016/j.apjtm.2015.07.017.

14. Zhang A. Recent advances in natural products from plants for treatment of liver diseases / A. Zhang, H. Sun, X. Wang // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2013. – Vol. 63. – P. 570–577.