

УДК 615.322:615.244:615.015.21

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА КУКУРУЗЫ СТОЛБИКОВ С РЫЛЬЦАМИ СУХОГО И ЕГО СМЕСЕЙ С ЭНТЕРОСОРБЕНТАМИ

Дворникова Л.Г., Турецкова В.Ф., Мазко О.Н., Золовкина А.Г., Смирнов И.В.,
Волобой Н.Л., Щербakov Ю.Н.

ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, e-mail: liubov.dv@mail.ru

Проведена сравнительная оценка гепатопротекторной активности экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого (100 мг/кг) и его смесей с энтеросорбентами углем активированным и СУМС-1 в соотношении 3:1 (133 мг/кг) на модели острого экспериментального гепатита, вызванного у крыс пероральным введением масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток. В качестве параметров оценки использовали скрининговые тесты (выживаемость, изменение массы тела, коэффициент массы печени) и биохимические показатели крови, характеризующие функции печени. Экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой при приеме внутрь в течение 21 дня после формирования модельной патологии ослаблял гепатотоксическое действие тетрахлорметана, увеличив выживаемость, массу тела крыс, снизив коэффициент массы печени и улучшив биохимические показатели крови (уменьшилась гиперферментемия, содержание холестерина, триглицеридов и мочевины), хотя восстановления всех показателей не наблюдалось. Введение комбинации изучаемого экстракта с углем активированным не выявило тенденции к улучшению биохимических показателей крови крыс. Вместе с тем, установлена целесообразность сочетания экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого с энтеросорбентом СУМС-1, т.к. при этом отмечается усиление гепатопротекторной активности по сравнению с группой животных, получавших экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой. Данная комбинация может быть положена в основу создания лекарственного препарата для лечения токсического гепатита.

Ключевые слова: экстракт сухой, кукурузы столбики с рыльцами, уголь активированный, энтеросорбент СУМС-1, гепатопротектор, токсический гепатит

COMPARATIVE ANALYSIS OF HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF CORN SILK DRY EXTRACT AND ITS MIXTURES WITH SORBENTS

Dvornikova L.G., Turetskova V.F., Mazko O.N., Zolovkina A.G., Smirnov I.V.,
Voloboi N.L., Shcherbakov Y.N.

Altai State Medical University, Barnaul, e-mail: liubov.dv@mail.ru

The present study aims to comparative evaluate of hepatoprotective activity of the corn silk dry extract (100 mg/kg) and its mixtures with activated carbon and enterosorbent SUMS-1 at a ratio of 3:1 (133 mg/kg) on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rat. Animals were administered experimental preparations for 21 days after the formation of toxic hepatitis. Screening tests (survival, body weight, liver weight) and biochemical indices of liver function were used as evaluation parameters. Treatment of rats with corn silk dry extract significantly increased survival and body weight, decreased liver weight, hyperenzymemia, cholesterol, triglycerides and urea plasma values. Although a normalization of all parameters were not observed. Treatment with a mixture of the studied extract with activated carbon has not led to an improvement. However, the combined therapy with corn silk dry extract and enterosorbent SUMS-1 was characterized by increased hepatoprotective activity compared with corn silk dry extract therapy. The combination of corn silk dry extract and enterosorbent SUMS-1 can be the basis of a new medicine for the treatment of toxic hepatitis.

Keywords: dry extract, corn silk, activated carbon, enterosorbent SUMS-1, hepatoprotective agent, toxic hepatitis

В последние десятилетия в России, как и во всем мире, наблюдается значительный рост заболеваемости населения болезнями печени и гепатобилиарной системы [5], что является предпосылкой для расширения ассортимента гепатопротекторов – лекарственных средств, способных усиливать регенераторные процессы в печени. В комплексную фармакотерапию заболеваний гепатобилиарной системы достаточно часто включают различные энтеросорбенты, основное действие которых связано с сорбцией эндогенных токсических веществ и продуктов распада гепатоцитов, что позволяет уменьшить нагрузку на печень и улучшить прогноз течения заболевания [10]. Ряд экс-

периментов доказывает, что последовательное применение гепатопротектора и энтеросорбента позволяет потенцировать их эффект [1, 2], однако отсутствуют данные о возможности совмещения указанных групп веществ в одной лекарственной форме, что связано с вероятной сорбцией активного компонента гепатозащитного средства энтеросорбентом.

На кафедре фармацевтической технологии АГМУ была разработана технология экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого [3], который может стать основой для создания препарата для лечения заболеваний печени. В эксперименте на крысах указанный экстракт проявил гепатопротек-

торную активность в дозировке 100 мг/кг, не уступив действию стандартного препарата Легалона [11], что, по-нашему мнению, связано с присутствием в его химическом составе флавоноидов и фенолокислот [6]. В результате проведения технологических и биофармацевтических исследований установлена возможность изготовления комбинированных таблеток экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого с углем активированным или энтеросорбентом СУМС-1 с высокими показателями теста «Растворение», что свидетельствует об отсутствии или же незначительной сорбции биологически активных веществ экстракта указанными сорбентами [4]. На основании вышеизложенного представляется актуальным фармакологическое подтверждение целесообразности разработки комбинированных таблеток экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого с энтеросорбентом.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого и его смесей с энтеросорбентами на течение экспериментального острого токсического гепатита, вызванного у крыс тетрахлорметаном.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования являлись экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой и энтеросорбенты – уголь активированный (УА) и СУМС-1. Экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой был получен по технологии, разработанной на кафедре фармацевтической технологии АГМУ, и представлял собой сыпучий порошок темно-коричневого цвета, специфического запаха, сладковатого вкуса, растворимый в воде и спирте этиловом 60%. Содержание флавоноидов в экстракте составляло $1,62 \pm 0,02\%$, фенолокислот – $4,31 \pm 0,09\%$, потеря в массе при высушивании – $3,44 \pm 0,17\%$ [6]. Уголь активированный (ЗАО «Медисорб») и СУМС-1 (АООТ «Новосибирский завод медицинских препаратов») были выбраны для исследования на основании их способности сорбировать токсичные продукты среднмолекулярной массы, характерные для развития токсического гепатита [7].

Изучение гепатопротекторной активности проводили в зимне-весенний период на 75 крысах линии Wistar обоего пола массой 195–245 граммов, предоставленных Институтом цитологии и генетики СО РАН. Животные находились в стандартных условиях содержания при естественном световом режиме, свободном доступе к воде и пище. Эксперименты осуществлялись в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ № 708н от 23.08.2010 г.) и «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [9]. Экспериментальный острый гепатит вызывали путем внутрижелудочного введения животным 1 мл 25% масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток. Экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой (в дозировке 100 мг/кг) и его смеси с сорбентами в соотношении 3:1 (133 мг/кг) вводили перорально в виде

суспензии в 2% крахмальном клейстере 1 раз в сутки в течение 21 дня после формирования модельной патологии. На 28 день эксперимента крыс под легким эфирным наркозом забивали декапитацией с последующим забором биоматериалов (кровь, печень) для исследований.

Для первичной оценки гепатопротекторной активности использовали скрининговые тесты: определяли выживаемость животных, изменение массы тела и коэффициент массы печени. С целью более углубленного изучения влияния экспериментальных препаратов на течение гепатита оценивали биохимические показатели крови крыс, характеризующие функции печени. Уровни глюкозы, альбумина, общего билирубина, общего холестерина, триглицеридов и мочевины в сыворотке крови животных определяли фотометрически с помощью наборов реактивов фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Активность ферментов аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) определяли фотометрическим кинетическим методом с использованием наборов фирмы «Human, GmbH» (Германия) [8].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программного обеспечения Statistica 6.1. Данные представлены в виде среднего значения (M) и стандартной ошибки среднего значения (m). Соответствие выборок закону нормального распределения оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Для проверки статистических гипотез о различии между исследуемыми группами использовали критерии Манна-Уитни и Стьюдента. Исследуемые показатели контрольной группы оценивали по сравнению с показателями интактных животных; показатели группы, получавшей экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой, – с контрольными животными; показатели групп, получавших экстракт в смеси с энтеросорбентами, – по сравнению с контрольными животными и животными, получавшими изучаемый экстракт.

Результаты исследования и их обсуждение

Обобщенные данные опытов по определению гепатопротекторной активности изучаемого экстракта и его смесей с сорбентами представлены в таблице.

Развитие токсического гепатита у животных контрольной группы характеризовалось снижением выживаемости до 73,3% (в интактной группе – 100%), снижением массы тела в среднем на 30,0 г и увеличением коэффициента массы печени на 19,4%. Интоксикация тетрахлорметаном сопровождалась гиперферментемией, свидетельствующей о разрушении гепатоцитов и развитии холестаза, а также увеличением в сыворотке крови контрольных животных содержания холестерина, триглицеридов, мочевины и билирубина (до $1,74 \pm 0,19$; $1,73 \pm 0,25$; $5,15 \pm 0,40$ и $6,25 \pm 0,90$ ммоль/л соответственно) и снижением концентрации глюкозы и альбумина по сравнению с интактной группой (на 35 и 32% соответственно).

Влияние экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого и его смесей с энтеросорбентами на течение экспериментального острого токсического гепатита

Показатель	Группа наблюдения				
	Интактная (n = 15)	Контроль (n = 11)	Экстракт (n = 15)	Экстракт + УА (n = 15)	Экстракт + СУМС-1 (n = 15)
<i>Скрининговые тесты</i>					
Выживаемость, %	100,0	73,3	100,0	100,0	100,0
Коэффициент массы печени, мг/г	33,50 ± 0,50	40,00 ± 1,05 ¹	35,29 ± 1,05 ²	33,78 ± 0,98 ²	32,24 ± 0,87 ^{2,3}
Изменение массы тела, г	+15,0 ± 2,63	-30,0 ± 3,97	+60,0 ± 2,48	+44,0 ± 3,41	+50,0 ± 2,72
<i>Биохимические показатели</i>					
АЛТ, Е/л	58,6 ± 3,9	110,4 ± 8,1 ¹	78,0 ± 5,4 ²	110,2 ± 6,7	104,2 ± 5,1
АСТ, Е/л	196,6 ± 6,0	312,6 ± 27,9 ¹	274,0 ± 11,4	248,9 ± 8,4 ²	274,9 ± 16,7
ЩФ, Е/л	374,0 ± 18,4	645,6 ± 45,8 ¹	393,2 ± 27,2 ²	500,0 ± 45,1 ^{2,3}	434,9 ± 24,2 ²
ГГТ, Е/л	2,28 ± 0,67	3,36 ± 1,48	2,65 ± 0,64	3,13 ± 0,54	2,65 ± 0,27
Глюкоза, ммоль/л	7,70 ± 0,45	5,00 ± 0,28 ¹	4,81 ± 0,69	5,79 ± 0,38 ³	5,96 ± 0,48 ³
Альбумин, г/л	69,5 ± 0,7	47,1 ± 3,6 ¹	53,5 ± 1,4	44,9 ± 2,1 ³	49,2 ± 1,5
Билирубин, мкмоль/л	4,03 ± 0,66	6,25 ± 0,90	6,28 ± 1,41	6,82 ± 1,67	5,34 ± 1,19
Холестерин, ммоль/л	1,42 ± 0,10	1,74 ± 0,19	0,55 ± 0,12 ²	1,17 ± 0,13 ^{2,3}	0,63 ± 0,12 ²
Триглицериды, ммоль/л	1,60 ± 0,06	1,73 ± 0,25	0,72 ± 0,04 ²	0,64 ± 0,07 ²	0,53 ± 0,05 ^{2,3}
Мочевина, ммоль/л	4,66 ± 0,34	5,15 ± 0,40	3,22 ± 0,22 ²	3,08 ± 0,18 ²	2,58 ± 0,24 ^{2,3}

Примечание: ¹различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ($p < 0,05$); ²различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$); ³различия статистически значимы по сравнению с группой, получавшей экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой ($p < 0,05$).

Введение экспериментальным животным экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого привело к ослаблению гепатотоксического действия тетрахлорметана: выживаемость крыс повысилась до 100%; масса тела животных увеличилась на 60 г; коэффициент массы печени снизился на 12%. Введение изучаемого экстракта стимулировало нормализацию биохимических показателей крови животных: статистически значимо снизилась активность АЛТ, ЩФ, уровни холестерина, триглицеридов и мочевины (на 29, 39, 68, 58 и 37% соответственно), а также наметилась тенденция к снижению активностей АСТ и ГГТ. На уровни альбумина, билирубина и глюкозы введение указанного препарата практически не повлияло.

Применение экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого совместно с углем активированным привело к изменению некоторых биохимических показателей. Снизилась активность АСТ на 20% по сравнению с контрольной группой, однако статистически значимого изменения по сравнению с группой, принимавшей изучаемый экстракт отдельно, не наблюдалось. Кроме того, произошло увеличение актив-

ности ЩФ, уровней холестерина и глюкозы в крови животных на 27, 112 и 20% соответственно по сравнению с аналогичными показателями крыс, получавших экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой. Следует отметить, что невозможно однозначно интерпретировать вышеуказанные данные. Изменение активности АСТ и уровня глюкозы свидетельствует об улучшении, повышение активности ЩФ и уровня холестерина – о снижении гепатозащитного действия по сравнению с аналогичными показателями животных, получавших экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой.

Терапия животных с острым гепатитом комбинацией экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого и энтеросорбента СУМС-1 характеризовалась статистически значимым улучшением показателей скрининговых тестов и биохимических опытов по сравнению с аналогичными показателями как контрольной группы, так и группы животных, получавших изучаемый экстракт отдельно. Коэффициент массы печени снизился до 32,24 ± 0,87 мг/г, что на 9% меньше значения показателей группы, получавшей экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой. Частично восстановился

уровень глюкозы (на 25%), снизились уровни триглицеридов и мочевины (на 26 и 20% соответственно) по сравнению с показателями животных, получавших монотерапию изучаемого экстракта. Кроме того, наблюдалось снижение уровня билирубина на 15% по сравнению с контролем, что не было отмечено в группе животных, получавших экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой. Изменения всех указанных показателей, наблюдавшиеся у животных, получавших смесь изучаемого экстракта с энтеросорбентом СУМС-1, свидетельствовали об усилении гепатопротекторных свойств экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого.

Заключение

Результаты сравнительной оценки гепатопротекторной активности экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого и его смесей с энтеросорбентами свидетельствуют о рациональности сочетания изучаемого экстракта с энтеросорбентом СУМС-1, т.к. терапевтический эффект данной комбинации при терапии острого токсического гепатита превосходит аналогичный показатель экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого.

Список литературы

1. Влияние энтеросорбентов на метаболические эффекты гепатопротектора лохенина при экспериментальном токсическом гепатите / А.И. Венгеровский и др. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2000. – № 4. – С. 40–43.
2. Влияние энтеросорбентов на метаболические эффекты гепатопротектора максара при экспериментальном токсическом гепатите / А.И. Венгеровский и др. // Химико-фармацевтический журнал. – 2000. – № 5. – С. 9–11.
3. Дворникова Л.Г., Турецкова В.Ф. Установление оптимальных параметров экстрагирования биологически активных веществ из кукурузы столбиков с рыльцами // Актуальные вопросы фармацевтической науки и образования: материалы межрег. научн. конференции с международ. участием, посвящ. 70-летию фарм. факультета СибГМУ. – Томск, 2011. – С. 49–53.
4. Жилин М.С., Дворникова Л.Г., Турецкова В.Ф. Выбор оптимального сорбента для получения комбинированных таблеток с экстрактом кукурузы столбиков с рыльцами сухого // Актуальные проблемы фармакологии и фармации. – Барнаул, 2011. – Вып. VIII. – С. 59–64.
5. Заболеваемость населения России в 2009 году: стат. матер.: в 3 ч. / Минздравсоцразвития РФ, Департамент развития мед. помощи и курортного дела, ФГУ «ЦНИИ организации и информатизации здравоохранения» Росздрава. – М., 2010. – Ч. 2. – 170 с.
6. Николаева Н.В., Дворникова Л.Г., Турецкова В.Ф. Исследования по стандартизации экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого // Актуальные проблемы фармакологии и фармации. – Барнаул, 2011. – Вып. VIII. – С. 149–154.
7. Палий И.Г. Роль энтеросорбции в лечении заболеваний печени (обзор литературы) / Consilium medicum Ukraina. – 2009. – № 3. – С. 8–9.
8. Ратькин Е.В. Гепатопротективные свойства полифенольного комплекса клеточной культуры мааки амурской: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Томск, 2010. – 24 с.
9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. – 2-е изд. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
10. Скакун Н.П., Шманько В.В., Охримович Л.М. Клиническая фармакология гепатопротекторов. – Тернополь: Збруч, 1995. – 272 с.
11. Фенольные соединения кукурузы столбиков с рыльцами как основа создания препарата гепатопротекторного действия / Л.Г. Дворникова и др. // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы V Всероссийской конференции с международным участием. – Барнаул, 2012. – С. 260–262.

References

1. Vengerovskii A.I., Golovina E.L., Chuchalin V.S., Saratikov A.S. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii*, 2000, no. 4, pp. 40–43.
2. Vengerovskii A.I., Golovina E.L., Chuchalin V.S., Saratikov A.S. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 2000, no. 5, pp. 9–11.
3. Dvornikova L.G., Turetskova V.F. *Materialy mezhdunarodnoi naučnoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoi 70-letiyu farmatsevticheskogo fakul'teta SibGMU «Aktual'nye voprosy farmatsevticheskoi nauki i obrazovaniya»* (Proceedings of interregional scientific conference with international participation, dedicated seventieth anniversary Faculty of Pharmacy SSMU «Topical issues of Pharmaceutical Science and Education»). Tomsk, 2011, pp. 49–53.
4. Zhilin M.S., Dvornikova L.G., Turetskova V.F. *Aktual'nye problemy farmakologii i farmatsii*, Barnaul, 2011, issue VIII, pp. 59–64.
5. *Zabolevaemost' naseleniya Rossii v 2009 godu: stat. mat.: v 3 ch.* [Morbidity of the population of Russia in 2009: statistical material: in 3 parts]. Moscow, 2010, part 2, 170 p.
6. Nikolaeva N.V., Dvornikova L.G., Turetskova V.F. *Aktual'nye problemy farmakologii i farmatsii*, Barnaul, 2011, issue VIII, pp. 149–154.
7. Paliy I.G. *Consilium medicum Ukraina*, 2009, no. 3, pp. 8–9.
8. Rat'kin E.V. *Candidate's Dissertation in Biology* (SSMU, Tomsk, 2010).
9. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv* [Guidelines for experimental (preclinical) studies of new pharmacological agents]. Moscow, Medicine, 2005, 832 p.
10. Skakun N.P., Shman'ko V.V., Okhrirovich L.M. *Klinicheskaya farmakologiya gepatoprotektorov* [Clinical pharmacology of hepatoprotective agents]. Ternopil, Zbruch, 1995, 272 p.
11. Dvornikova L.G., Turetskova V.F., Nikolaeva N.V., Mazko O.N., Zolovkina A.G., Voloboi N.L., Smirnov I.V., Shcherbakov Yu.N. *Materialy V Vserossiiskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem «Novye dostizheniya v khimii i khimicheskoi tekhnologii rastitel'nogo syr'ya»* (Proceedings of the V all-Russian conference with international participation «New advances in chemistry and chemical engineering plant materials»). Barnaul, 2012, pp. 260–262.

Рецензенты:

Зверев Я.Ф., д.м.н., профессор, декан фармацевтического факультета, профессор кафедры фармакологии ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России», г. Барнаул;

Зуева Е.П., д.б.н., профессор, зав. лабораторией онкофармакологии ФГБУ «НИИ фармакологии» СО РАМН, г. Томск.

Работа поступила в редакцию 16.10.2012.