

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОЗАЩИТНОЙ И ЖЕЛЧЕГОННОЙ АКТИВНОСТИ ФИТОСУБСТАНЦИЙ ЧЕРНУШКИ ДАМАССКОЙ

Маширова С. Ю.

*Пятигорский филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России, г. Пятигорск, Россия (Пятигорск, пр. Калинина, 11), e-mail: [mashirovasvetlana@rambler.ru](mailto:mashirovasvetlana@rambler.ru)*

Проведено изучение гепатозащитной и желчегонной активности фитосубстанций, полученных из семян чернушки дамасской (*Nigella damascena* L., семейству Ranunculaceae): сухого экстракта, жирного масла и эфирного масла. Оценка гепатозащитной активности фитосубстанций выполнена на модели острого СС1<sub>4</sub>-гепатоза при их лечебно-профилактическом введении. Изучение желчевыделительной функции печени проводили после 10-тидневного введения субстанций здоровым животным. Применение сухого экстракта в дозе 200 мг/кг на фоне острого СС1<sub>4</sub>-гепатоза привело к уменьшению выраженности цитолитических процессов и гипербилирубинемии (снижения концентрации фракции свободного билирубина), без значительного влияния на выраженность холестаза. Введение жирного масла в дозе 100 мг/кг сопровождалось снижением интенсивности гиперферментемии, билирубинемии (снижение концентрации общего и прямого билирубина), уменьшением содержания холестерина в крови и триглицеридов в печени. Желчегонную активность сухого экстракта и жирного масла изучали в аналогичных дозах. Эфирное масло было исследовано в серии доз – 20 мг/кг, 50 мг/кг, 100 мг/кг, 200 мг/кг, 400 мг/кг, 800 мг/кг. Введение сухого экстракта здоровым животным не сопровождалось увеличением объемов выделенной желчи. В группе животных, получавших жирное масло, отмечали достоверное увеличение количества выделенной желчи на 27 %. Введение возрастающих доз эфирного масла привело к достоверному увеличению желчной секреции при использовании доз 200 мг/кг и 400 мг/кг. Таким образом, сухой экстракт и жирное масло в условиях СС1<sub>4</sub>-гепатоза оказывают защитное влияние на печень, отличающееся по направленности воздействия на различные звенья патогенеза – сухой экстракт более эффективно подавляет интенсивность ПОЛ, уменьшая повреждения мембран гепатоцитов и препятствуя их цитолизу, жирное масло уменьшает интенсивность цитолитических процессов за счет репарации поврежденных фрагментов мембраны гепатоцитов благодаря своему жирнокислотному составу. А также более эффективно устраняет холестаз и проявляет желчегонную активность.

Ключевые слова: чернушка дамасская, жирное масло, сухой экстракт, эфирное масло, СС1<sub>4</sub>-гепатоз, гепатозащитная активность, желчегонная активность.

## RESEARCH HEPATOPROTECTIVE AND CHOLAGOGIC ACTIVITY PHYTOSUBSTANCES OF WILD FENNEL

Mashirova S. Y.

*Pyatigorsk branch SBEI HPE "Volgograd State Medical University" Ministry of Health of Russia*

Research in hepatoprotective and cholagogic activity of the phyto-substances received from seeds of wild fennel, dry extract, fatty oil and essential oil. The assessment of hepatoprotective activity of phyto-substances is executed on a model of acute СС1<sub>4</sub>-hepatosis in their health-care oral administration. The research of choleresis functions of a hepar carried out after 10-days of oral administration of the substances to the healthy animals. Application of dry extract at a dose of 200 mg/kg against acute СС1<sub>4</sub>-hepatosis have reduced the intensity of cytolytic processes and a giperbilirubinemiya (decrease in concentration of fraction of free bilirubin), without considerable influence on intensity of cholestasis. Oral administration of fatty oil at dosage of 100 mg/kg was accompanied decrease intensity of hyperenzymemia, bilirubinemia (reduced concentrations of total and direct bilirubin), a decrease in blood cholesterol and triglycerides in hepar. Choloretic activity of dry extract and fatty oil was studied in similar doses. The essential oil was investigated in a series of doses - 20 mg / kg, 50 mg / kg, 100 mg / kg, 200 mg / kg, 400 mg / kg, 800 mg / kg. Oral administration of dry extract to healthy animals did not accompany by an increase of the volume of bile secreted. In the group of animals treated with a fatty oil, there was a significant increase in the number of bile flow by 27%. Oral administration of increasing doses of essential oil led to a significant increase of bile secretion at doses of 200 mg / kg and 400 mg / kg. Thus, the dry extract and fatty oil in СС1<sub>4</sub>-hepatosis have a protective effect on the hepar, characterized by target different stages of pathogenesis - dry extract more effectively inhibits lipid peroxidation, reducing damage to the membranes of hepatocytes and preventing them from cytolysis, fatty oil reduces the intensity of cytolytic processes due to the

**repair of damaged pieces of the membrane of hepatocytes due to its fatty acid composition. And more effectively eliminates cholestasis and exhibits choleric activity.**

Keywords: wild fennel, fatty oil, dry extract, essential oil, CCl<sub>4</sub>-hepatotoxicity, hepatoprotective activity, choleric activity.

## **Введение**

В связи с неблагоприятной экологией, ростом потребления алкоголя, бесконтрольным применением медикаментов и недостаточной эффективностью существующих гепатопротекторов, изыскание новых препаратов, повышающих резистентность печени к действию химических агентов и нормализующих ее метаболизм в условиях напряжения детоксицирующей функции, а также внедрение этих препаратов в широкую медицинскую практику имеет особую социальную значимость. При этом, в первую очередь, предпочтение отдается препаратам растительного происхождения, сочетающим достаточную эффективность, широту терапевтического действия и относительную безвредность, часто оказывающим положительное влияние на течение сопутствующей патологии [6].

Учитывая особенности химического состава семян чернушки дамасской, представляет интерес изучение фармакологической активности фитосубстанций из данного объекта и возможности его использования в качестве источника для получения фитопрепаратов.

**Цель исследования** – изучение гепатозащитной активности фитосубстанций чернушки дамасской в условиях экспериментального острого токсического гепатоза и желчегонной активности на здоровых животных.

## **Материалы и методы исследования**

Объектами исследования служили сухой экстракт, жирное масло и эфирное масло, полученные из семян чернушки дамасской. Эфирное масло из семян чернушки дамасской получали методом дистилляции на аппарате Клевенджера, сухой экстракт получали мацерацией 96 % раствором спирта этилового в течение суток, с последующей отгонкой экстракта и доведение экстракта до сухого состояния. Жирное масло выделяли экстракцией хлороформом с последующей отгонкой растворителя на аппарате Кьегдаля.

Оценка гепатозащитной активности проведена на модели острого CCl<sub>4</sub>-гепатоза при лечебно-профилактическом введении субстанций на крысах-самцах линии Wistar массой 210-230 г. Субстанции начинали вводить перорально за 7 дней до введения CCl<sub>4</sub>, а затем совместно с CCl<sub>4</sub>. Животные получали вещества утром в одно и то же время до кормления животных. Контролем служили животные, получавшие такой же объем растворителя. Забой животных проводили путем декапитации через сутки после последнего введения CCl<sub>4</sub>. Одновременно проводили забой интактных животных. Модель острого CCl<sub>4</sub>-гепатоза воспроизводили путем введения per os с помощью зонда 3 раза через день 50 % масляного раствора CCl<sub>4</sub> в вазелиновом масле в дозе 0,15 мл/100 г массы тела [1]. У животных всех

опытных групп определяли в крови активность аланинаминотрансферазы (АлАт), щелочной фосфатазы (ЩФ), концентрацию общего билирубина и его фракций, холестерина, триглицеридов (ТГ), а также содержание ТГ и ТБК-активных продуктов в печени. Определение всех биохимических показателей крови выполнялось на автоматическом биохимическом анализаторе BS-120 (Mindray) с использованием стандартных наборов жидких реактивов фирмы «DiaSys» (Германия).

Оценку желчевыделительной функций печени проводили через сутки после 10-тидневного введения субстанций здоровым животным. В качестве контроля использовали животных, получавших 10 дней растворитель. Определение скорости секреции желчи проводили по М. Д. Литвинчук, З. И. Новосилец, 1980, как описано [4]. Подопытных крыс наркотизировали при помощи этаминала (40 мг/кг). После ее фиксации на операционном столике проводили вскрытие брюшной полости разрезом в эпигастральной области длиной 1,5 – 2,0 см. Находили двенадцатиперстную кишку и место вхождения в нее желчного протока. Выше этого места 12-типерстную кишку перевязывали, а вторую перевязку делали ниже впадения желчного протока в кишечник. В образовавшийся замкнутый мешочек, куда впадал желчный проток, вставляли трубку-канюлю и собирали желчь в мерную пробирку в течение 3-х часов. Регистрировали объем выделившейся желчи в целом за 3 часа. Для сохранения эвакуаторной функции желудочно-кишечного тракта с помощью эластичной трубки между проксимальной и дистальной частью кишечника накладывали анастомоз. Желчевыделительную функцию оценивали по объему желчи в мл за 3 часа.

Результаты опытов обрабатывали методом вариационной статистики. Данные проверены на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Межгрупповые различия анализируются параметрическими или непараметрическими методами в зависимости от типа распределения. В качестве параметрического критерия используется критерий Стьюдента. В качестве непараметрического критерия – U-критерий Манна – Уитни. Различия будут определены при 0,05 уровне значимости. Для статистической обработки результатов используют пакет программ «Stat Plus 2009».

### **Результаты исследования и их обсуждения**

В предварительных скрининговых исследованиях фитосубстанций чернушки дамасской при введении на фоне острой тетрахлорметановой интоксикации у мышей установлено максимальное снижение летальности при использовании сухого экстракта в дозе 450 мг/кг и жирного масла в дозе 220 мг/кг. Остальные субстанции не повлияли на процент выживаемости животных. В пересчете на крыс с учетом коэффициента межвидового переноса доз это составило 200 мг/кг для экстракта и 100 мг/кг жирного масла. Данные дозы были использованы при дальнейшем изучение их гепатозащитной активности.

Как видно из представленных данных (таблица 1), у нелеченных (контроль) животных под влиянием  $CCl_4$  развивался острый гепатоз, характеризующийся значительными нарушениями функционального состояния печени. При этом наблюдалось достоверное повышение в крови активности АлАт по сравнению с интактным уровнем на 128 %, трехкратное повышение активности ЩФ, а также повышение содержания в крови общего и прямого билирубина на 87 % и 268 % соответственно. Как известно, повышение уровня ЩФ в сыворотке крови является характерным признаком уменьшения тока желчи и поступления ее в двенадцатиперстную кишку, т.е. развития холестаза. Гипербилирубинемия также может быть специфичной для синдрома холестаза, если одновременно отмечается повышение активности ЩФ и увеличение концентрации фракции связанного билирубина, что свидетельствует о тяжелом поражении гепатоцитов и/или желчных протоков [Практикующий врач, 1998]. Наряду с повышением активности индикаторных ферментов и содержания билирубина в сыворотке крови, у крыс с  $CCl_4$ -гепатозом наблюдалось нарушение липидного обмена: повышение по сравнению с интактными животными содержания в крови ТРГ на 58 %, общего холестерина на 100 % – гиперхолестеринемия, которая часто сопровождает холестаз, и значительное накопление триглицеридов в печени – повышение их содержания по сравнению с нормой на 168 %. Кроме описанных нарушений, у нелеченных животных регистрировалось значительное повышение по сравнению с нормой (на 114 %) содержания в печени ТБК-активных продуктов, что свидетельствовало об усилении интенсивности ПОЛ, являющегося, по мнению многих авторов [2, 3, 5], важнейшим патогенетическим фактором повреждения печени  $CCl_4$ .

**Таблица 1.** Влияние фитосубстанций чернушки дамасской на некоторые биохимические показатели сыворотки крови и печени при остром поражении  $CCl_4$

Показатели	Группы животных			
	Интактные, n=6	$CCl_4$ -гепатоз (контроль), n=6	$CCl_4$ -гепатоз + сухой экстракт, 200 мг/кг, n=5	$CCl_4$ -гепатоз+ жирное масло, 100 мг/кг, n=5
АлАт сыворотки крови, Е/л	54,6±2,48	124,3±9,46 ** +128 %	82,3±5,46 *-51 %	91,2±7,63 *-27%
ЩФ сыворотки крови, Е/л	184,3±11,24	586,4±19,74 **+218 %	511,2±24,36	341,5±21,14 *-42 %
Общий билирубин сыворотки крови, мкмоль/л	10,2±1,21	19,1±1,10 **+87 %	13,4±0,09 *-30 %	13,2±0,09 *-31 %
Прямой билирубин сыворотки крови,	0,87±0,040	3,20±0,18 **+268 %	2,87±0,265	1,70±0,117 *-47 %

Холестерин сыворотки крови, ммоль/л	1,60±0,53	3,20±0,280 **+100 %	2,04±0,232 * -36 %	1,82±0,147 * -43 %
Триглицериды сыворотки крови, ммоль/л	1,20±0,014	1,90±0,155 **+58 %	1,17±0,104 * -38 %	1,78±0,21
Триглицериды печени, мкмоль/г	14,7±2,50	39,4±3,25 **+168 %	28,4±1,38 * -28 %	21,2±1,19 * -46 %
ТБК- активные продукты печени, нмоль/мгбелка	0,21±0,021	0,45±0,039 **+114 %	0,24±0,0202 * -47 %	0,38±0,028
Примечание: * – достоверно (P<0,05 ) по отношению к контрольной группе животных; ** – достоверно (P<0,05 ) по отношению к интактной группе животных; n – количество животных в группе.				

Таким образом, исходя из выявленных изменений изученных биохимических показателей сыворотки крови и печени, можно заключить, что введение крысам СС1<sub>4</sub> приводило к тяжелому поражению печени, которое сопровождается развитием синдромов цитолиза и холестаза, гипербилирубинемией, гиперхолестеринемией, жировой дистрофией печени и активацией процессов ПОЛ. Показателем тяжести патологического процесса в печени в определенной степени может быть число погибших животных или уровень летальности, который в контрольной группе составил 30 %. В опытных группах отмечали его снижение до 17 %.

При лечебно-профилактическом введении крысам сухого экстракта в дозе 200 мг/кг такие показатели, как активность ЩФ, содержание прямого билирубина в сыворотке крови остались на уровне значений контрольной группы животных, поскольку достоверно от них не отличались, активность же АлАт была достоверно ниже на 51 % уровня контроля. У крыс данной опытной группы также отмечалось достоверное снижение ТБК-активных продуктов и ТРГ в печени на 47 % и 28 % соответственно, снижение содержания холестерина и ТРГ в крови соответственно на 36 % и 38 %. Применение сухого экстракта на фоне воспроизведения модели острого СС1<sub>4</sub>-поражения печени привело к сдвигу основной массы биохимических показателей в сторону нормализации: отмечали снижение интенсивности ПОЛ в печени, уменьшение выраженности цитолитических процессов и гипербилирубинемии в первую очередь за счет снижения концентрации фракции свободного билирубина без значительного влияния на выраженность холестатических процессов (отсутствие достоверных отличий от контрольных значений активности ЩФ и содержания прямого билирубина).

Введение жирного масла чернушки дамасской на фоне тетрахлорметанового гепатоза сопровождалось достоверным уменьшением гиперферментемии (снижение активности АлАт

и ЩФ на 27 % и 42 % соответственно), интенсивности билирубинемии (снижение концентрации общего и прямого билирубина на 31 % и 47 % соответственно), количества холестерина в крови (на 43 %) и ТРГ в печени (на 46 %). Показатель, характеризующий выраженность свободно-радикальных процессов (ТБК-активные продукты) в печени, достоверно не отличался от контрольных значений.

Многочисленные данные литературы свидетельствуют о том, что многие растительные соединения с установленной гепатопротекторной активностью оказывают стимулирующее влияние на процессы синтеза и секреции желчи, что является компонентом их лечебного действия при различных поражениях печени, которые довольно часто сопровождаются нарушениями желчсекреторной функции печени.

Желчегонную активность экстракта и жирного масла изучали в дозах, в которых они проявили максимальную гепатопротекторную активность, соответственно 200 мг/кг и 100 мг/кг. Эфирное масло также было подвергнуто исследованиям на наличие желчегонной активности, так как для одного из компонентов – тимохинона показан данный вид активности. Эфирное масло было исследовано в серии возрастающих доз – 20, мг/кг, 50 мг/кг, 100 мг/кг, 200 мг/кг, 400 мг/кг, 800 мг/кг.

Введение сухого экстракта здоровым животным не сопровождалось увеличением объемов выделяемой желчи (таблица 2). В группе животных, получавших жирное масло, отмечали достоверное увеличения количества желчи на 27 %.

**Таблица 2.** Влияние субстанций чернушки дамасской на желчевыделительную функцию печени в норме

Показатель	Группы животных		
	Интакты, n=6	Сухой экстракт, 200 мг/кг, n=6	Жирное масло, 60 мг/кг, n=6
Общее количество желчи за 3 ч. мг/100 г	490,4 ±35,81	458,1±88,50	620,8±37,20** +27 %
Примечание: ** – достоверно (P<0,05 ) по отношению к интактной группе животных; n – количество животных в группе.			

Введение возрастающих доз эфирного масла (таблица 3) привело к достоверному увеличению желчной секреции при использовании доз 200 мг/кг и 400 мг/кг. При дальнейшем увеличении количества вводимого эфирного масла желчегонная активность не проявляется.

**Таблица 3.** Влияние эфирного масла чернушки дамасской на желчевыделительную функцию печени в норме

Показатель	Интактны, n=6	ЭМ, 20 мг/кг, n=6	ЭМ, 50 мг/кг, n=6	ЭМ, 100 мг/кг, n=6	ЭМ, 200 мг/кг, n=6	ЭМ, 400 мг/кг, n=6	ЭМ, 800 мг/кг, n=6
Общее количество желчи за 3 ч. мг/100 г	490,4 ±35,81	430,4 ±41,32	510,6 ±80,65	465,7 ±38,50	640,2 ±45,62** +31 %	660,7 ±70,24** +35 %	540,6 ±30,87
Примечание: ** – достоверно (P<0,05 ) по отношению к интактной группе животных; n – количество животных в группе, ЭМ – эфирное масло.							

### Выводы

1. Сухой экстракт и жирное масло в условиях тетрахлорметановой интоксикации оказывают защитное влияние на печень, отличающееся по направленности воздействия на различные звенья патогенеза данного поражения, что, по-видимому, связано с особенностями их химического состава. Если сухой экстракт более эффективно подавляет интенсивность ПОЛ, уменьшая повреждения мембран гепатоцитов и препятствуя их цитолизу, то жирное масло в меньшей степени оказывает антиоксидантное действие (сохраняющее высокий уровень ТБК-активных продуктов в печени) и, скорее всего, уменьшает интенсивность цитолитических процессов за счет репарации поврежденных фрагментов мембраны гепатоцитов благодаря своему жирнокислотному составу, а также в большей степени, по сравнению с экстрактом, уменьшает выраженность холестаза.
2. Жирное и эфирное масла проявляют желчегонную активность при их курсовом введении здоровым животным.

### Список литературы

- 1 Гепатозащитное действие гранул сухого экстракта горечавника бородатого / С. М. Николаев, А. В. Цыренжалов, З. Г. Самбуева и др. // Эксперим. и клин. фармакол. – 2001. – Т. 64, № 1. – С. 49- 52 (68).
- 2 Защитное действие комбинации эссенциале диэтилникотинамидом на монооксигеназы и глюкуранил-, глутатионтрансферазы печени крыс при тетрахлорметановом поражении / М.И. Бушма, Л.Ф. Легонькова, Л.Б. Заводник и др. // Эксперим. и клин. фармакол. – 1994. – Т.57, № 4. – С. 62-63.
- 3 Изменения морфофункционального состояния печени крыс при острой интоксикации тетрахлорметаном и их коррекция антигипоксантами, антиоксидантами и ангиопротекторами / А. Ю. Дубовая, А. И. Цибулевский, А. В. Быков и др. // Эксперим. и клин. фармакол. – 1996. – Т. 59, № 4. – С. 51-54.

4. Литвинчук М. Д. Точный и быстрый метод оценки активности желчегонных средств на крысах /М. Д. Литвинчук, З. И. Новосилец // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1980. – № 6. – С. 750 – 752.
5. Саратиков А. С. Эффективность ферментиндуцирующих средств при экспериментальном поражении печени тетрахлорметаном / А. С. Саратиков, Т. П. Новоженев, А. И. Венгеровский // Эксперим. и клин. фармакол. – 2003. – Т.66, № 4. – С. 47- 49.
6. Терехов А. Ю. Изучение защитного действия биологически активных веществ из цветков бархатцев распростертых (*Tagetes patula* L.) при экспериментальных токсических поражениях печени: дис. ... канд. фармацевт. наук / ГОУ ВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия» / А. Ю. Терехов. – Пятигорск, 2006. – 164 с.

**Рецензенты:**

Назарова Любовь Ефимовна, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры биологии и физиологии, Пятигорский филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России, г. Пятигорск.

Челомбитько Вячеслав Александрович, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии, Пятигорский филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России, г. Пятигорск.