

На правах рукописи



Убеева Елена Александровна

**ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА СУХОГО “ГИПЕЛИВ”
НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕПАТИТА**

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Улан-Удэ – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» Министерства науки и высшего образования РФ

Научный руководитель

Николаев Сергей Матвеевич - доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Жамсаранова Сэсэгма Дашиевна – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» Министерства науки и высшего образования РФ / кафедра биотехнологии, профессор

Раднаева Дарима Золтоевна – кандидат медицинских наук, Министерство здравоохранения Республики Алтай / отдел организации медицинской помощи и лекарственного обеспечения, заместитель начальника

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ

Защита состоится «11» декабря 2019 г. в 12.00 часов на заседании диссертационного совета Д 999.140.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН по адресу: 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке Бурятского научного центра СО РАН и на сайте ИОЭБ СО РАН: <http://igeb.ru>

Автореферат разослан «08» октября 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук, доцент

В.Б. Хобракова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Несмотря на существенный прогресс в снижении заболеваемости и ликвидации ряда социально опасных заболеваний в Российской Федерации, хронические вирусные гепатиты остаются значимой причиной смертности населения и снижения качества жизни в работоспособном возрасте (Соболева и др., 2017; Ющук, 2017; Климова, 2018; Пименов и др., 2018). Использование противовирусных препаратов прямого действия обеспечивает купирование активного инфекционного процесса без существенного регресса патоморфологических изменений и развития фиброза (Thein et al., 2008; Mathurin, 2013; Razavi et al., 2014; Sidharthan et al., 2015; Zeuzem et al., 2018). В настоящее время сохраняется возможность формирования резистентности возбудителя, развития побочных реакций и осложнений противовирусной терапии (ПВТ) (Martin et al., 2011; Ford et al., 2014; Yehia et al., 2014). Глобальное распространение заболеваний печени вирусной этиологии, сопровождающихся иммуносупрессией, склонностью к затяжному и хроническому течению, а также высокая мутационная изменчивость возбудителя определяют необходимость поиска средств, обладающих противовирусным эффектом и гепатопротективной активностью (Hatzakis et al., 2011; Mohd Hanafiah et al., 2013; Gower et al., 2014; Alonso et al., 2015; Schweitzer et al., 2015).

Для выполнения программы по импортозамещению лекарственных препаратов перспективным направлением является создание оригинальных отечественных гепатопротективных средств, которые могли бы конкурировать с зарубежными препаратами, в настоящее время представляющими большую часть Российского фармацевтического рынка (Вельямкина, 2012; Куркин и др., 2014).

Бесспорный интерес в качестве гепатопротекторов представляют средства растительного происхождения, к достоинствам которых относят сочетание комплекса биологически активных веществ, что определяет широкий спектр фармакологического воздействия, возможность потенцировать эффект на фоне низкой токсичности и длительного применения (Николаев, 2012; Лесиовская, 2014; Schuppan et al., 1999; Dhiman, Chawla, 2005; Hanessian, 2013; Lin et al., 2014; Zhao et al., 2014).

В этом плане интерес представляет разработанное комплексное растительное средство, условно названное “Типеливом”, в состав которого входят экстракты сухих: *Hypocoum erectum* L., *Hedysarum alpinum* L., *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., *Calendula officinalis* L. и *Scutellaria baicalensis* Georgi.

Степень разработанности темы исследования. В настоящее время в Государственном реестре лекарственных средств (<http://grls.rosminzdrav.ru>) для лечения и профилактики болезней печени зарегистрированы лекарственные препараты растительного происхождения, в основном, из расторопши пятнистой “Карсил”, “Карсил Форте” (Болгария); Legalon (Герма-

ния), “Форливер Хелп” (Россия). Из листьев бархата амурского и бархата Лавала получен “Флакозид” (ВИЛАР, Россия). Эссенциальные фосфолипиды входят в состав препаратов “Фосфоглив” (Россия), “Фосфонциале” (Россия). Кроме того, для лечения болезней печени зарегистрированы гомеопатические препараты “Гепанорм” (Россия), “Галстена” (Россия). Комплексные препараты из растительного сырья представлены средствами импортного производства: “Лив 52” (Индия), имеющим в своем составе экстракты *Capparis spinosa*, *Cichorium intybus*, *Cassia occidentalis*, *Tamarix gallica* и других растений, произрастающих в субтропиках Индии и Средиземноморья; “Дипана”, (Индия) включающей экстракты сухие *Picrorhiza Kurroa*, *Andrographis paniculata*, *Eclipta alba*, полученные из растений, произрастающих в Индии. Единственным комплексным препаратом растительного происхождения, производимым в РФ, является “Сибектан”, содержащий экстракты листьев березы, травы зверобоя продырявленного, плодов расторопши пятнистой и цветков пижмы обыкновенной. Как известно, экстракт зверобоя продырявленного способен вступать в нежелательные фармакокинетические взаимодействия с препаратами прямого противовирусного действия, широко используемыми в настоящее время, что определяет ограничение его применения.

Цель исследования – определение фармакологических свойств и фармакотерапевтической эффективности комбинированного экстракта сухого “Гипелив” при повреждениях печени у лабораторных животных.

Для достижения данной цели были сформулированы следующие **задачи**:

- 1) выявить основные фармакологические свойства экстракта сухого “Гипелив”;
- 2) определить фармакотерапевтическую эффективность экстракта сухого “Гипелив” при остром тетрахлорметановом гепатите;
- 3) оценить фармакотерапевтическую эффективность экстракта “Гипелив” при повреждении печени D-галактозамином гидрохлоридом;
- 4) изучить механизмы гепатопротективного влияния экстракта сухого “Гипелив”.

Научная новизна. В работе впервые выявлена фармакотерапевтическая эффективность экстракта сухого “Гипелив” при экспериментальных повреждениях печени. Установлено, что экстракт сухой “Гипелив” в экспериментально-терапевтических дозах оказывает выраженное гепатопротективное влияние при D-галактозаминовом и тетрахлорметановом гепатитах, ограничивая развитие основных патогенетических синдромов повреждения печени: цитолиза, холестаза, мезенхимально-воспалительной реакции с уменьшением степени патоморфологических изменений. Так, при тетрахлорметановом гепатите установлена способность экстракта “Гипелив” ингибировать процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул,

деградацию липопротеидов, уменьшать нарушения липидного обмена и жировой дистрофии гепатоцитов; выявлена его холеретическая активность, сопоставимая с эффектом референтного гепатопротектора карсила.

При D-галактозаминовом повреждении печени гепатопротективный эффект экстракта “Гипелив” сопровождался повышением функциональных возможностей и улучшением синтезирующей способности гепатоцитов, увеличением содержания альбуминов, фибриногена, факторов протромбинового комплекса, коррекцией гипокоагуляционных нарушений. При гистологическом исследовании наблюдалось ограничение дистрофических и некробиотических процессов, уменьшение количества апоптотически измененных гепатоцитов при сохранении архитектоники и балочной структуры долек.

Противовоспалительный эффект экстракта “Гипелив” включал выраженное антиэкссудативное, антиальтеративное и умеренное антипролиферативное действие. Установлен противовирусный эффект “Гипелива” и его компонентов. Экстракт “Гипелив” при экспериментальном вторичном иммунодефиците, вызванном цитостатиком азатиоприном, ослаблял его супрессивное действие на клеточно-опосредованную иммунную реакцию, антителогенез и фагоцитоз макрофагов. В основе гепатопротективного влияния исследуемого средства лежат его антиоксидантные, мембраностабилизирующие, противовоспалительные, противовирусные свойства.

Практическая значимость работы.

В данной работе экспериментально обоснованы возможность и целесообразность коррекции повреждений печени экстрактом “Гипелив”, что позволяет рекомендовать его для дальнейшего изучения с целью создания нового эффективного и безопасного растительного гепатопротективного препарата для комплексной фармакотерапии заболеваний печени. Материалы исследований используются в учебном процессе на кафедрах инфекционных болезней; фармакологии, клинической фармакологии и фитотерапии медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» Министерства науки и высшего образования РФ (Акт внедрения от 18.02.19).

Основные положения, выносимые на защиту:

-экстракт сухой “Гипелив” обладает антиоксидантным, противовоспалительным, иммуномодулирующим, противовирусным и желчегонным свойствами;

-“Гипелив” характеризуется фармакотерапевтической эффективностью при повреждении печени тетрахлорметаном вследствие ингибирования деградации липопротеидов, коррекции нарушений липидного обмена и морфологических признаков стеатоза печени;

- “Гипелив” оказывает гепатопротективное влияние при повреждении печени D-галактозамином, снижая интенсивность развития цитолиза, холе-

стаза, клеточной инфильтрации, повышая функциональные возможности печени, ограничивая развитие преждевременного апоптоза гепатоцитов;

- фармакотерапевтическая эффективность экстракта сухого “Типелив” при экспериментальных повреждениях печени определяется выраженными антиоксидантными свойствами, способностью оказывать мембраностабилизирующее, противовоспалительное действие, способствовать восстановлению структурно-функциональной целостности клеток печени.

Апробация материалов диссертации. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых медицинских организаций Республики Бурятия, посвященной 80-летию М.П. Рябова (Улан-Удэ, 2017); International conference “Research – Innovation 2017” (Ulaanbaatar, 2017); V научно-практической конференции аспирантов и молодых учёных «Молодые учёные и фармация XXI века» (Москва, 2017); международной конференции «Перспективы разработки и внедрения лекарственных средств на основе сырья отечественного и зарубежного происхождения» (Душанбе, 2018); международной научно-практической конференции, посвященной 55-летию Восточно-Сибирского государственного университета технологии и управления (Улан-Удэ, 2017); международной молодежной научной конференции “Фундаментальные исследования – старт в медицинскую науку”, посвященной 260-летию Сеченовского Университета (Москва, 2018); международной научной конференции «Перспективы лекарственного растениеводства», посвященной 100-летию со дня рождения профессора А. И. Шретера (Москва, 2018); XI Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням с международным участием, (Москва, 2019); International Conference “Scientific research of the SCO countries: synergy and integration” (Beijing, 2019); научно-практических конференциях аспирантов и преподавателей медицинского факультета БГУ (Улан-Удэ, 2017; 2018; 2019); V Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 30-летию Центра Восточной медицины (Улан-Удэ, 2019).

Личный вклад автора. Автором диссертационного исследования проведен поиск и анализ данных по теме работы; осуществлены планирование и проведение экспериментальных исследований, обработка, интерпретация и обсуждение полученных результатов; подготовлены публикации по основным положениям диссертационной работы; оформлена рукопись диссертации и автореферат.

Связь задач исследований с проблемным планом НИР. Работа выполнена в соответствии с задачами по проекту № 62.1.8. «Создание лекарственных средств системного действия на основе тибетской медицины», утвержденным Президиумом СО РАН.

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликовано 19 научных работ, из них 2 – в периодических изданиях, рекомендо-

ванных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 164 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных экспериментальных исследований (3 главы), заключения, выводов, списка литературы. Работа включает 33 таблицы и 35 рисунков, включая микрофотографии. Список литературы состоит из 252 источников, из них 126 - на иностранных языках.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования являлось новое фитосредство с условным названием «Гипелив», представляющее собой комплексный экстракт сухой¹. Состав фитополиэкстракта представлен экстрактами сухими травы гипекоума прямого (*Hypocoum erectum* L.; Papaveraceae), травы копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.; Leguminosae), корней солодки уральской (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; Leguminosae), цветков календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.; Compositae) и корней шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi; Lamiaceae) в соотношении 5:5:4:4:2.

Количественную стандартизацию содержания биологически активных веществ экстракта осуществляли методом ВЭЖХ-УФ с использованием микроколонного жидкостного хроматографа Милихром А-02 (Эконова, Новосибирск, Россия), снабженного колонкой ProntoSIL-120-5-C18 AQ (2 × 75 мм, Ø 5 мкм; Metrohm AG, Herisau, Switzerland); подвижная фаза: 0.2 М LiClO₄ в 0.006 М HClO₄ (А), MeCN (В). Для разделения компонентов использован градиентный режим элюирования (0–40 мин 5–100% В, 40–43 мин 100% В) со скоростью 100 мкл/мин при температуре 35°С и УФ-детектировании при 270 нм. Расчет содержания соединений проводили с использованием коммерчески доступных образцов сравнения (Sigma-Aldrich, США). Содержание маркерных компонентов в экстракте составило: глицирризиновой кислоты 2.06±0.04%, байкалина 1.85±0.04%, протопина 1.09±0.03%, мангиферина 0.68±0.02%, суммы тифанеозида и нарциссина 0.27±0.01%.

Полученный экстракт сухой под условным названием «Гипелив» исследовали в количествах, соответствующих экспериментально-терапевтическим дозам: 100, 200 и 300 мг/кг в объеме 10 мл/кг. Экстракт сухой растворяли в воде очищенной и вводили внутривенно 1 раз в сутки согласно схеме эксперимента. В качестве препарата сравнения ис-

¹ Экстракт сухой «Гипелив» получен в лаборатории медико-биологических исследований ИОЭБ СО РАН в.н.с., д.фарм.н. Оленниковым Д.Н.

пользовали карсил (*Carsil*), с международным названием силибинин “*Silibinin*”, из расторопши пятнистой *Silybum marianum* (L.) Gaertn. Карсил (Болгария) вводили внутривенно в дозе 200 мг/кг в аналогичном режиме. Контрольной группе белых крыс после введения гепатотоксина вводили эквивалентный объем воды очищенной в аналогичном режиме. Интактная группа животных состояла из белых крыс того же возраста и пола и получала по данной схеме в соответствующем объеме воду очищенную.

Лабораторные животные получены в ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-биологических исследований» из вивария (г. Ангарск, Иркутской области, РФ). Исследования выполнены на 444 белых крысах линии *Wistar* обоего пола массой 180–230 г. и 146 мышах линии F₁ (СВАхС57В1/6) обоего пола массой 18–20 г. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP) и Приказу МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Перед началом экспериментов животные, отвечающие критериям включения в опыт, распределялись на группы с соблюдением принципа рандомизации (группы однородны по полу, возрасту, массе). Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР №755 от 12.08.77 г.), «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986). Этаназию животных осуществляли методом мгновенной декапитации под легким эфирным наркозом. Протокол исследования согласован с этическим комитетом Бурятского государственного университета (протокол № 2 от 04.11.2016).

Для воспроизведения важнейших нарушений функций гепатоцитов у белых крыс использовали тетрахлорметан и D-галактозамин гидрохлорид (Венгеровский и соавт., 2012). Экспериментальный гепатит вызывали введением подкожно белым крысам линии *Wistar* v/v масляного (оливковое) раствора тетрахлорметана (CCl₄, четыреххлористый углерод, ГОСТ 20288-74, ЗАО «Экос РС») из расчета 0,4 мл на 100 г массы животных 1 раз в сутки в течение 4 дней подряд. D-галактозамин гидрохлорид (2-amino-2-dioxu-D-galactose; Chondrosamine HCL) фирмы "Sigma" (США), являющийся производным D-галактозы, вводили однократно внутривенно в дозе 400 мг/кг (Венгеровский и др., 2012) белым крысам. Экспериментальный D-галактозаминовый гепатит расценивается как прототип вирусного повреждения печени, максимально приближенный по патогенезу, морфологическим и биохимическим изменениям к вирусному гепатиту В (Венгеровский и др., 2012).

Для оценки функционального состояния печени в сыворотке крови экспериментальных животных определяли биохимические показатели, позволяющие выявить степень выраженности основных патогенетических синдромов повреждения печени (Венгеровский и др., 2012): активность алани-

наминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ); γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП), концентрацию холестерина, триацилглицеридов, липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), содержания общего белка, альбуминов, протромбина. Для выявления нарушений процесса коагуляции при повреждении печени D-галактозамина гидрохлоридом определяли уровень фибриногена, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновый индекс (ПИ), протромбиновое время (ПВ), международное нормализованное отношение (МНО), протромбиновое отношение (ПО) в сыворотке крови белых крыс (Баркаган, Момот, 1999). Исследования осуществляли с помощью серии тестов, выполненных с использованием стандартного набора реактивов “Mindray” на анализаторе “Mindray BS 380” (Китай).

Мембраностабилизирующую активность испытуемого средства оценивали на моделях перекисного и осмотического гемолиза с 1%-ной суспензией эритроцитов донорской крови (Er/m) (Ковалев и др., 1986). Антиоксидантную активность исследуемого средства определяли по степени его влияния на процесс металлкализируемой модификации белков в модельной биологической системе (МБС) желточных липопротеидов (ЖЛП) (Клебанов и др., 1988). Антирадикальную активность оценивали по отношению к стабильному радикалу 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (DPPH \cdot) (Adesanwo et al., 2013); по отношению к супероксидным радикалам ($O_2 \cdot^-$) в неэнзиматической системе феназинметосульфат / НАДН (Rahini, Anuradha, 2014), а так же по отношению к молекулам NO (Rahini, Anuradha, 2014). Fe^{2+} -хелатирующую активность экстракта сухого определяли с использованием о-фенантролинового метода (Оленников и др., 2008).

Состояние энергетического метаболизма в ткани печени оценивали по содержанию аденозинтрифосфата (АТФ), лактата и пирувата (Прохорова, 1982). Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли по приросту конечного продукта перекисаации – малонового диальдегида (МДА) в гомогенате печени (Стальная, Гаришвили, 1977); состояние эндогенной антиоксидантной системы характеризовали по активности каталазы в ткани печени (Королюк и др., 1988), а также содержанию восстановленного глутатиона (GSH) в крови (Akerboom et al., 1981) и по активности глутатионпероксидазы (ГП) (Pinto, Bartley, 1969) в гомогенате печени лабораторных животных. Количественное содержания белка определяли методом Бредфорда (Bradford, 1976).

Эксперименты по определению острой токсичности экстракта сухого «Гипелив» проводили согласно Методическим рекомендациям (Арзамасцев и др., 2012) на мышах линии F₁ (СВАхС57В1/6) обоего пола с массой 18-20 г. Экстракт вводили животным внутривентриально. Класс токсичности определяли по классификации Кербера. Противовоспалительный эффект экстракта сухого «Гипелив» определяли на основе комплексной оценки его

влияния на экссудативный компонент, альтеративную фазу и пролиферативную стадию воспалительного процесса (Шварц; Сюбаев, 2012). Для определения влияния “Гипелива” на процессы желчеобразования и желчеотделения определяли скорость секреции желчи, общее количество желчи и количество выделенных с желчью билирубина по методу Ван-ден-Берга в модификации Н.Б. Скакуна, концентрацию в желчи желчных кислот по методу Я.И. Карбача (Мирошниченко и др., 1978). Для оценки морфологических изменений при экспериментальном гепатите печень животных фиксировали в 10%-ном забуференном нейтральном формалине с последующей стандартной спиртовой проводкой и заливкой в парафин по общепринятой методике (Коржевский, Гиляров, 2010). Действие исследуемого экстракта на показатели клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунитета было изучено на мышах-самцах линии F₁ (СВАхС57В1/6) массой 18-20 г, находящихся в состоянии иммунодепрессии, вызванной цитостатиком азатиоприном, который вводили контрольной группе животных в дозе 50 мг/кг перорально 1 раз в сутки в течение 5 дней (Лазарева, Алехин, 1985). Экстракт «Гипелив» вводили мышам на фоне иммуносупрессии в дозе 100 мг/кг внутрижелудочно 1 раз в сутки в течение 14 дней. Оценку противовирусной активности изучаемого экстракта «Гипелив» проводили на основе контроля репродукции вируса с помощью микрометода и выявления цитопатогенного действия (ЦПД) (Ершов и др., 2012).

Результаты исследований обрабатывали статистически с применением пакета программ Microsoft Office Excel 2007 «Statistica 10». Вычисляли среднюю арифметическую (M), ошибку средней арифметической (m). Для оценки достоверности различий выборок, имеющих нормальное распределение, применяли параметрический t-критерий Стьюдента. Различия между сравниваемыми значениями считали значимыми при уровне вероятности 95% и более ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка фармакологической активности экстракта “Гипелив”

Определение острой токсичности экстракта сухого “Гипелив” проводили при использовании двух методов: по Керберу (Арзамасцев и др., 2012; Авдеева и др., 2015) и пробит-анализа (Finney, 1971; Hayes, Kruger, 2014) на 56 мышах обоего пола линии F₁ (СВАхС57В1/6) массой 18-20 г в соответствии с российскими и зарубежными требованиями. Определение острой токсичности “Гипелива” по методу Кербера на белых мышах осуществлялось при однократном внутрибрюшинном введении в диапазоне доз: от 3000 до 6000 мг/кг (Арзамасцев и др., 2012), выявленная LD₅₀ составила 5000 мг/кг. С помощью пробит-анализа, проведенного по D.J. Finney, (1971) с введением данных в MS Excel с дальнейшим расчётом средствами Visual Basic выяснено, что LD₅₀ экстракта сухого «Гипелив» составила 5002 мг/кг.

Получение аналогичных результатов при определении острой токсичности «Гипелива» двумя методами позволяет считать данные методы равноценными, т. к. различия не превышают 0,1%, что свидетельствует о возможности использования любого из них. Полученные данные позволяют отнести «Гипелив» к группе «практически нетоксичные вещества» по действующей классификации (Арзамасцев и др., 2012).

Определение противовоспалительных свойств экстракта «Гипелив» осуществляли на 128 белых крысах линии *Wistar* обоего пола с исходной массой 180-200 г. Влияние на острую экссудативную фазу воспаления (отек) оценивали при субплантарном введении 0,1 мл 1% раствора каррагинина (Шварц; Сюбаев, 2012). Изучаемый экстракт вводили трем группам экспериментальных животных соответственно в дозах 100, 200 и 300 мг/кг в объеме 10 мл/кг. При введении «Гипелива» в дозе 100 мг/кг после индукции воспаления каррагинином установлено уменьшение отека лапки крыс по сравнению с контролем на 18%. У крыс, получавших «Гипелив» в дозе 200 мг/кг, отмечали снижение экссудации на 22%. На модели формалинового отека при введении «Гипелива» в дозе 100 мг/кг у белых крыс наблюдалось снижение отека по сравнению с контролем на 18%; у животных, получавших экстракт в дозе 200 мг/кг – на 29%. Повышение дозы исследуемого экстракта до 300 мг/кг не приводило в уменьшению отека у опытных крыс. Таким образом, полученные данные свидетельствовали о том, что экстракт «Гипелив» обладает отчетливым антиэкссудативным эффектом на моделях каррагининового и формалинового отеков.

Антиальтеративное действие экстракта «Гипелив» определяли на основе планиметрического метода по степени развития некроза и регенерации тканей на 7, 14, 21 и 28 сутки. Полученные данные свидетельствовали, что при введении белым крысам экстракта «Гипелив» дозе 200 мг/кг снижается степень деструкции ткани: на 7 сутки – на 12%, в последующие сроки – на 20%, 25%, 27% по сравнению с данными контрольной группы. На фоне введения изучаемого экстракта в дозе 100 мг/кг животным I группы выявлялись достоверные отличия – на 16%, 23% и 26% на 14, 21 и 28 опыта соответственно по сравнению с показателями крыс контрольной группы. Повышение вводимой дозы «Гипелива» до 300 мг/кг экспериментальным животным не сопровождалось значительным уменьшением площади альтерации в ранние сроки по сравнению с данными контрольной группы. Достоверные отличия показателей в данной группе животных удалось зафиксировать позже по сравнению с данными у животных, получавших экстракт в дозе 200 мг/кг.

Следовательно, исследуемый экстракт в дозе 100 и 200 мг/кг обладает наиболее выраженным антиальтеративным эффектом. Исследования по определению влияния экстракта сухого «Гипелив» на пролиферативную фазу воспаления проведены на 32 белых крысах линии *Wistar* на модели «фетровой» гранулемы по рекомендациям Ф.П. Тринуса (Шварц; Сюбаев,

2012). Введение белым крысам “Гипелива” в дозе 100 мг/кг сопровождалось угнетением образования фиброзно-грануляционной ткани на 14% - 22%, при повышении дозы исследуемого экстракта до 200 и 300 мг/кг антипролиферативное действие не возрастало. Таким образом, установлено, что испытуемый экстракт оказывает противовоспалительное действие, сочетающее выраженный антиэкссудативный, антиальтеративный и умеренный антипролиферативный эффекты.

Определение холеретических свойств экстракта “Гипелив” осуществляли на 28 интактных белых крысах-самцах линии *Wistar* с исходной массой 180-210 г. Животным вводили водный раствор испытуемого экстракта однократно в двенадцатиперстную кишку в дозах 100, 200 и 300 мг/кг под тиопенталовым наркозом (тиопентал натрия, 45 мг/кг). При введении животным экстракта “Гипелив” в дозе 100 мг/кг скорость секреции желчи через 1 час возрастала на 7 %, в последующие два часа отмечено значительное повышение на 42% и 44%, за 4-ый час увеличение составило 33%. При увеличении дозы экстракта “Гипелив” до 200 мг/кг скорость секреции желчи через 1 час существенно не возрастала, увеличиваясь в последующие часы на 29% и 37% по сравнению с контролем. При возрастании вводимой дозы экстракта “Гипелив” до 300 мг/кг интенсивность секреции была несколько ниже, чем при введении меньших доз и составила 21-35%.

Общее количество отделяемой желчи за 4 часа при введении “Гипелива” в дозе 100 мг/кг животным увеличивалось на 45%, при использовании экстракта в дозе 200 мг/кг – на 38% и 300 мг/кг – на 29%. При введении “Гипелива” в дозе 100 мг/кг можно отметить изменение биохимического состава отделяемой желчи: увеличение количества выделяемых желчных кислот на 40%; в дозе 200 мг/кг – 29%, а в дозе 300 мг/кг - на 12% по сравнению с данными у интактных крыс. Наряду с этим повышалось содержание билирубина в желчи в опытных группах животных на 17% и 22% по сравнению с контролем; уровень холестерина возрастал при введении экстракта “Гипелив” в дозе 200 мг/кг на 22%, а при повышении дозы “Гипелив” до 300 мг/кг - на 5%. Следовательно, при введении экстракта “Гипелив” интактным животным, наряду с увеличением общего количества секретлируемой желчи, повышением скорости секреции желчи на протяжении всего эксперимента наблюдалось изменение качественного состава желчи со значительным увеличением содержания желчных кислот, в меньшей мере холестерина и билирубина, что позволяет отнести исследуемый экстракт к истинным холеретикам, повышающим коллоидную устойчивость желчи. Увеличение холереза указывает на улучшение функционального состояния печени.

Необходимость определения противовирусных свойств гепатопротективных препаратов определяется широкой распространенностью вирусных инфекций (Ершов и др., 2012, Ющук, Венгеров, 2018). Определение противовирусного действия экстракта “Гипелив” проводили с помощью микроме-

тогда в культуре клеток HEP-2 эпидермоидной карциномы гортани человека, культивируемой в виде монослоя (ООО «БиолоТ» РФ, Санкт-Петербург). На основании полученных данных установлено, что 50% ингибирующая концентрация экстрактов календулы лекарственной, солодки уральской составляет 900 мкг/мл, при этом репродукция вируса снижалась вдвое через 48 часов, а при введении “Гипелива” в той же концентрации – на 62%. При использовании экстракта солодки и календулы в концентрации 20 мг/мл в первые 24 часа после инфицирования вирус в культуре клеток накапливался в незначительных концентрациях, не вызывая выраженной деструкции клеток. Через 48 час после инфицирования монослоя клеток эффективность подавления вируса при добавлении экстракта солодки и календулы составила 73%, “Гипелива” – 81%. Следовательно, одновременное изучение цитотоксических и противовирусных свойств экстракта “Гипелив” и его компонентов позволило установить наличие противовирусного потенциала, причем наибольшая способность подавления ЦПД вируса выявлена у экстрактов солодки, календулы и изучаемого экстракта.

Ввиду широкого распространения заболеваний печени вирусной, аутоиммунной этиологии, в патогенезе которых существенная роль принадлежит иммунопатологическим процессам, интерес представляет выявление иммуномодулирующих свойств экстракта сухого “Гипелив”. Введение мышам исследуемого средства в дозе 100 мг/кг на фоне иммунодефицита, вызванного азатиоприном, способствовало ослаблению его супрессивного действия на клеточно-опосредованную иммунную реакцию, антителигенез и фагоцитоз макрофагов, что выражалось в достоверном увеличении количества АОК как в абсолютных значениях, так и при расчете на 10^6 спленоцитов в 1,5 раза; ИР ГЗТ – в 1,4 раза; фагоцитарного индекса – в 2,1 раза по сравнению с данными в контрольной группе.

Определение антиоксидантной активности экстракта сухого “Гипелив” позволило установить антирадикальную активность в отношении таких реакционно активных молекул, как DPPH·, Fe^{2+} , O_2^- . Так, концентрация «Гипелива», при которой происходит 50 % связывание DPPH-радикала (IC_{50}) составляет 57,3 мкг/мл. Для веществ сравнения аскорбиновой кислоты и кверцетина концентрация полумаксимального ингибирования составила 5,2 и 8,2 мкг/мл, соответственно. При изучении влияния исследуемого средства на инактивацию активных форм кислорода (O_2^- и NO) и ионов Fe^{2+} установлено, что экстракт “Гипелив” проявлял выраженную Fe^{2+} -хелатирующую активность ($IC_{50} = 128,0$ мкг/мл), сопоставимую с таковой препарата сравнения – аскорбиновой кислотой ($IC_{50} = 143,0$ мкг/мл). Влияние “Гипелива” характеризуется O_2^- -связывающей активностью ($IC_{50} = 71,1$ мкг/мл), превосходящей таковую активность кверцетина и рутина. Изучаемый экстракт проявлял выраженные антиоксидантные и антирадикальные свойства, ингибируя деградацию липопротеидов при металлкатализируемом окислении

($IC_{50}=92,0$ мкг/мл), защищая тем самым желточные липопротеиды от перекисного окисления.

Таблица 1. Антиоксидантная активность экстракта «Гипелив» в модельных системах *in vitro* (IC_{50} мкг/мл) ($M \pm m$)

Объект	Реакционно-активные молекулы			
	DPPH [*]	Fe ²⁺	O ₂ ⁻	МБС-ЖЛП
«Гипелив»	57,3±3,21	128,0±7,43	71,1±3,32	92,0±5,07
АК	5,2±0,23	143,0±5,22	0,25±0,02	12,0±1,11
Кверцетин	8,2±0,34	>5000	32,0±1,12	62,0±2,33
Рутин	15,3±0,54	>5000	2,5±0,11	44,2±2,10

Примечание: * - здесь и далее различия значимы по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Мембраностабилизирующую активность экстракта сухого «Гипелив» определяли в условиях *in vitro*. Внесение испытуемого экстракта в инкубационную среду способствовало снижению интенсивности процесса ПОЛ, индуцированного реактивом Фентона. Концентрация экстракта «Гипелив», вызывающая 50% ингибирование процесса перекисного гемолиза (IC_{50}), составляет 13,1 мкг/мл. По-видимому, БАВ экстракта «Гипелив» при взаимодействии с плазматической мембраной эритроцитов способствуют снижению ее проницаемости в гипотонических условиях, что выражается в снижении интенсивности осмотического гемолиза ($IC_{50}=5,7$ мкг/мл) (Таблица 2).

Таблица 2. Мембраностабилизирующая активность экстракта сухого «Гипелив» в модельной системе *in vitro* ($M \pm m$)

Условия опыта	Концентрация экстракта сухого, мкг/мл	Перекисный гемолиз, %	Осмотический гемолиз, %
Контроль (Ег/м)	-	100	100
Опыт (Ег/м+«Гипелив»)	1000,0	20,3±1,10	9,3±0,32
	100,0	32,1±2,14	21,1±1,14
	10,0	50,6±3,11	43,5±2,12
	1,0	67,5±2,20	58,3±3,12
	0,1	83,4±6,15	73,2±5,21
	IC_{50} , мкг/мл	13,1±1,14	5,7±0,32

Подводя итог вышеизложенному, можно отметить, что изучаемый экстракт сухой “Гипелив” является относительно безвредным веществом, снижает выраженность процесса ПОЛ, способствует стабилизации и восстановлению структурно-функциональной целостности плазматической мембраны гепатоцитов. “Гипелив” обладает выраженной противовоспалительной, иммуномодулирующей и желчегонной активностью, а также противовирусным эффектом. Содержащиеся БАВ (байкалин, мангиферин, глициризиновая кислота) при свободно-радикальных реакциях способны вызывать образование феноксильных радикалов; обладают способностью хелатировать ионы металлов переменной валентности, связывать OH^- и O_2^- молекулы, а также способствуют стабилизации и восстановлению структурно-функциональной целостности плазматической мембраны.

На этом основании целесообразным представлялось изучение влияния указанного средства на течение экспериментальных гепатитов, вызванных введением тетрахлорметана и D-галактозамина гидрохлорида.

Фармакотерапевтическая эффективность “Гипелива” при повреждении печени, вызванном четыреххлористым углеродом

Исследования проводили на 240 белых крысах линии *Wistar* обоего пола с исходной массой 160-180 г. Животные были разделены на следующие группы: интактные крысы, контрольные животные с СС14-гепатитом, 3 опытные группы крыс с СС14-гепатитом, получавшие экстракт сухой “Гипелив” в экспериментально-терапевтических дозах: 100 мг/кг (опытная группа 1), 200 мг/кг (опытная 2), 300 мг/кг (опытная 3) и животные группы сравнения, которым вводили референтный препарат карсил. Животные контрольной и интактной групп получали эквивалентное количество воды очищенной по аналогичной схеме. Фармакотерапевтическую эффективность экстракта “Гипелив” определяли на основе оценки функционального состояния печени, особенностей холереза и морфологических изменений через 7, 14 суток с начала эксперимента.

На 7 сутки эксперимента при введении “Гипелива” крысам в дозе 100 мг/кг отмечалось снижение содержания малонового диальдегида (МДА) в ткани печени на 20%, при введении “Гипелива” в дозе 200 мг/кг – на 14 % по сравнению с данными контрольной группы. Более выраженное снижение МДА при введении «Гипелива» в дозе 100 мг/кг в значительной степени способствовало повышению активности эндогенной АОС организма. Активность каталазы повышалась и превосходила таковую интактной группы животных. Таким образом, исследуемое средство способствует сохранению и поддержанию активности эндогенных ферментов АОС при СС14-гепатите у белых крыс. Содержание GSH и активность ГП повышались в 1,2 и 1,4

раза соответственно по сравнению с данными животных контрольной группы. Действие “Гипелива” в указанной дозе было сопоставимо с таковым препарата сравнения карсил.

В эксперименте установлено, что повреждение печени СС14 сопровождалось нарушением энергетического обмена гепатоцитов. При введении “Гипелива” в дозах 200 и 300 мг/кг в течение 7 дней отмечалось достоверное повышение концентрации АТФ в 1,5 раза и снижение содержания МК в среднем – на 15 % по сравнению с данными контрольной группы. Отношение МК/ПВК достигало в этих группах 30/1 и 35/1 соответственно по сравнению с 38/1 в контроле. Эффективность комплексного средства «Гипелив» в дозах 200 и 300 мг/кг была ниже таковой препарата сравнения карсил в указанный срок исследования.

На 7 сутки наблюдения при СС14-гепатите активность АЛТ и АСТ - ферментов, отражающих выраженность синдрома цитолиза, при введении “Гипелива” в дозе 100 мг/кг снижалась на 19-20% по сравнению с контрольной группой. Сходные изменения отмечались в группах белых крыс, получавших “Гипелив” соответственно в дозах 200 и 300 мг/кг. В группе сравнения при использовании карсила снижение активности АЛТ составило 9,2 %. Характеризуя степень выраженности холестаза при СС14-гепатите на 7 сутки эксперимента при введении животным исследуемого экстракта в дозе 100 мг/кг, можно отметить снижение холестерина на 20,5%, уменьшение активности ГГТП – на 18%, ЩФ – на 19% по сравнению с данными контрольных животных. Повышение дозы “Гипелива” не приводило к существенным отличиям выраженности синдрома холестаза. В группе сравнения на фоне карсила снижение активности ГГТП и ЩФ составило 12-14%, причем полученные отличия недостоверны.

На 7 сутки эксперимента при СС14-гепатите в группе животных, получавших “Гипелив” в дозе 100, 200 и 300 мг/кг отмечалось достоверное повышение содержания альбуминов на 21% и выше. В группе сравнения у белых крыс, получавших референтный гепатопротектор, повышение уровня альбуминов составило 10%. На фоне введения “Гипелива” в дозе 100, 200 и 300 мг/кг белым крысам с СС14- гепатитом выявлено снижение уровня глобулинов на 17-21%, что свидетельствует о достоверном уменьшении интенсивности мезенхимально-воспалительной реакции. При использовании карсила у животных в этот срок наблюдения отмечалось снижение содержания глобулинов на 9% по сравнению с данными контрольной группы крыс.

При повреждении печени тетрахлорметаном использование “Гипелива” в дозе 100 мг/кг на 7-е сутки опыта способствовало коррекции нарушений липидного обмена: уменьшению содержания ТГ и холестерина на 19-24% по сравнению с контролем, достоверному снижению уровня ЛПНП и увеличению содержания ЛПВП в среднем на 21% по сравнению с показателями животных контрольной группы. Введение белым крысам “Гипелива” в

дозах 200 и 300 мг/кг сопровождалось сходными изменениями отклонений липидного обмена. При введении карсила в данный срок наблюдения отмечалась тенденция к повышению уровня ЛПВП (10%), но полученные отличия при этом недостоверны.

Экстракт “Гипелив” в дозах 100 мг/кг и 200 мг/кг при тетрахлорметановом гепатите на 7 сутки опыта оказывал холеретическое действие, сопоставимое с эффектом карсила (Таблица 3, 4).

Таблица 3. Влияние “Гипелива” на скорость секреции желчи у белых крыс при СС14- гепатите на 7-е сутки эксперимента ($M \pm m$)

Группы животных	Скорость секреции желчи в течении 4 часов мг/мин на			
	1-й час	2-й час	3-й час	4-й час
Контроль (CCl ₄ + H ₂ O), n=8	5,5±0,1	5,5±0,2	5,2±0,3	5,0±0,3
Опытная I (CCl ₄ +Гипелив”, 100 мг/кг), n=8	6,8±0,1*	6,4±0,1*	6,1±0,3	5,7±0,3
Опытная II (CCl ₄ +“Гипелив”, 200 мг/кг), n=8	7,1±0,3*	6,8±0,1 *	6,2±0,2*	5,9±0,2*
Опытная III (CCl ₄ +“Гипелив”, 300 мг/кг), n=8	5,4±0,3	5,9±0,3 *	5,8±0,4*	5,1±0,3 *
Опытная IV (CCl ₄ + Карсил, 200 мг/кг), n=8	6,8±0,4*	6,8±0,4*	6,2±0,3	6.1±0,4

Таблица 4. Влияние “Гипелива” на общее количество и биохимический состав желчи при СС14-гепатите на 7-е сутки эксперимента ($M \pm m$)

Группы животных	Общее количество желчи за 1-4 часа опыта	Желчные кислоты	Билирубин	Холестерин
	мг/100 г	мг %		
Контроль (CCl ₄ + H ₂ O), n=8	1272 ±50,3	826,5	20,0	93,2
Опытная I (CCl ₄ + “Гипелив”, 100 мг/кг), n=8	1500 ±34,8*	815,1	24,0	95,8
Опытная II (CCl ₄ +“Гипелив”, 200 мг/кг), n=8	1560 ±36,5*	876,6	23,0	92,6
Опытная III (CCl ₄ + “Гипелив”, 300 мг/кг), n=8	996 ±58,2*	416,1	19,0	61,6
Опытная IV (CCl ₄ + Карсил, 200 мг/кг), n=8	1554 ±84,0*	986,1	22,0	120,4

Таким образом, на 7-е сутки наблюдения при СС14-гепатите при введении “Гипелива” достоверно уменьшались нарушения липидного обмена, связанные с повышением содержания триацилглицеридов, ЛПНП, холестерина и снижением ЛПВП. Установлено, что введение «Гипелива» в иссле-

дуремых дозах оказывает энергопротективное действие при токсическом повреждении печени.

Морфометрические исследования позволили отметить значительное снижение жировой дистрофии гепатоцитов, степень стеатоза по сравнению с контролем уменьшалась на 19-25% (Таблица 5). О коррекции основных патогенетических синдромов повреждения печени на фоне введения экстракта "Гипелив" свидетельствовало уменьшение цитолиза, холестаза, интенсивности мезенхимально-воспалительной реакции. Повышение функциональных возможностей гепатоцитов отражали увеличение уровня альбуминов в сыворотке крови и повышение холереза.

Таблица 5. Влияние "Гипелива" на содержание липидов в паренхиме печени белых крыс при CCl₄-гепатите (7 сутки наблюдения) (M±m)

Группы животных	Содержание липидов, баллы
Контрольная (CCl ₄ + H ₂ O), n=8	4,8±0,10
Опытная I (CCl ₄ + "Гипелив", 100 мг/кг), n=8	3,3±0,17*
Опытная II (CCl ₄ + "Гипелив", 200 мг/кг), n=8	3,6±0,16*
Опытная III (CCl ₄ + "Гипелив", 300 мг/кг), n=8	3,9±0,13*
Опытная IV (CCl ₄ +Карсил, 200 мг/кг), n=8	3,3±0,17*

На 14-е сутки наблюдения в опытных группах при использовании изучаемого экстракта отмечалось нарастание фармакотерапевтического эффекта, снижение активности АЛТ, органоспецифического фермента цитолиза гепатоцитов на 25% и более по сравнению с данными контрольной группы, уменьшались проявления синдрома холестаза.

На 14 сутки опыта в группах животных на фоне "Гипелива" отмечалось усиление холереза. Нарушения липидного обмена при введении "Гипелива" опытной группе животных достоверно снижались по сравнению с контролем. Морфологические исследования отражали не только уменьшение жировой дистрофии в опытных группах, но и значительное усиление репаративных процессов (Таблица 6).

Следовательно, курсовое применение экстракта "Гипелив" при тетрахлорметановом гепатите в экспериментально-терапевтических дозах оказывает отчетливое гепатопротективное влияние, корригируя развитие окислительного стресса, нормализуя баланс окислительно-восстановительных реакций в организме, восстанавливая энергопродукцию с коррекцией патогенетических синдромов повреждения в органе-мишени, воздействуя на холеретическую реакцию, нарушения липидного обмена и морфологические изменения с явлениями стеатоза.

Таблица 6. Влияние экстракта “Гипелив” на морфометрические показатели печени белых крыс при CCl_4 -гепатите (14 сутки опыта) ($M \pm m$)

Группы животных	Гепатоциты, %			
	Нормальные	Жировая дистрофия	Зернистая дистрофия	Некротизированные
Контрольная ($CCl_4 + H_2O$), n=8	47,1 \pm 2,75	12,5 \pm 1,38	33,8 \pm 2,04	6,6 \pm 0,67
Опытная I ($CCl_4 +$ “Гипелив”, 100 мг/кг), n=8	65,9 \pm 1,77*	4,3 \pm 0,73*	26,1 \pm 1,53	3,7 \pm 0,39*
Опытная II ($CCl_4 +$ “Гипелив”, 200 мг/кг), n=8	62,7 \pm 1,81*	6,2 \pm 0,82*	27,2 \pm 1,66	3,9 \pm 0,46
Опытная III ($CCl_4 +$ “Гипелив”, 300 мг/кг), n=8	64,7 \pm 1,76*	6,1 \pm 0,78*	26,7 \pm 1,64	3,8 \pm 0,43
Опытная IV ($CCl_4 +$ Карсил, 200 мг/кг), n=8	65,1 \pm 1,85*	5,1 \pm 0,68*	25,8 \pm 1,76	4,0 \pm 0,48

Фармакотерапевтическая эффективность “Гипелива” при повреждении печени, вызванном D-галактозамина гидрохлоридом

Исследования проводили на 144 белых крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 160-180 г. Животные были разделены на следующие группы: интактные крысы, контрольные животные с CCl_4 -гепатитом, 3 опытные группы крыс с CCl_4 -гепатитом, получавшие экстракт сухой “Гипелив” в экспериментально-терапевтических дозах: 100 мг/кг (опытная группа I), 200 мг/кг (опытная 2), 300 мг/кг (опытная 3) и животные группы сравнения, которым вводили референтный препарат карсил.

При D-галактозаминоме гепатите установлено, что курсовое введение животным исследуемого экстракта «Гипелив» в дозах 100, 200 и 300 мг/кг уменьшает выраженность окислительного стресса, тем самым снижая интенсивность процесса ПОЛ и повышая активность АОС. Так, на 7 сутки эксперимента в первой и второй опытных группах отмечалось снижение содержания МДА в ткани печени в 2,0 и 1,5 раза соответственно по сравнению с данными контрольной группы. При введении экстракта сухого «Гипелив» в дозе 100 мг/кг существенно повышается активность каталазы и содержание ВГ в 1,6 и 2,0 раза соответственно по сравнению с данными животных контрольной группы. Активность ГП при введении исследуемого экстракта в дозе 100 мг/кг повысилась в 1,6 раза по отношению к контролю. Эффективность “Гипелива” в указанной дозе превосходила таковую препарата сравнения карсил. Во второй и третьей опытных группах, получавших экстракт “Гипелив” в дозах 200 и 300 мг/мл соответственно, исследуемые

показатели антиоксидантного статуса корригировались и были сопоставимы с таковыми у животных, получавших препарат сравнения карсил.

Курсовое применение исследуемого экстракта в опытных группах животных приводило к уменьшению отклонений биохимических показателей, характеризующих основные патогенетические звенья повреждения печени. Цитолиз в опытной группе 1, получавшей “Гипелив” в дозе 100 мг/кг, достоверно снижался уже на 7-е сутки опыта, уменьшение активности АЛТ и АСТ достигало 15-18%, в то время как в группе сравнения на фоне введения карсила – 7-10%. На основе комплексной оценки уровня холестерина, ЩФ и ГГТП можно констатировать, что применение “Гипелива” на модели D-галактозаминового гепатита сопровождалось значительным уменьшением явлений холестаза.

При введении экстракта “Гипелив” в дозе 100 мг/кг экспериментальным животным с D-галактозаминовым гепатитом на 7 сутки наблюдалось достоверное повышение содержания альбуминов, фибриногена и увеличение протромбинового индекса на 17-19%, отражающее увеличение функциональных возможностей и синтезирующей способности гепатоцитов. Введение экстракта приводило к достоверному уменьшению гипокоагуляции (причем на ранних сроках эксперимента), при увеличении дозы “Гипелива” до 200 и 300 мг/кг отчетливого повышения эффекта не выявлено (Таблица 7). При тяжелом течении патологического процесса в печени особое значение приобретает возможность развития ДВС-синдрома, имеющего общебиологическую направленность и способного приобретать каскадный характер (Баркаган, Момот, 1999). При D-галактозаминовом гепатите нарушения гемостаза могут вызываться сочетанием недостаточности синтетической функции гепатоцитов в образовании факторов свертывания и возможностью развития ДВС-синдрома, что способно оказывать негативное влияние на патологический процесс. Выявляемые гипокоагуляционные нарушения в этот период у экспериментальных животных соответствуют второй фазе ДВС-синдрома. Применение экстракта “Гипелив” позволило на основе дополнительной оценки показателей коагулограммы (АЧТВ, ПИ, ПО и МНО) подтвердить уменьшение проявлений гипокоагуляции при D-галактозаминовом гепатите.

В группе животных, получавших исследуемое средство, с ранних сроков эксперимента ограничивалось развитие дистрофических и некротических процессов, уменьшалось количество апоптотически измененных гепатоцитов, снижалась интенсивность мезенхимально-воспалительных процессов. На 14 сутки опыта в данной группе животных при сохранении архитектоники и балочной структуры долек отмечалось усиление репаративных процессов и уменьшение лимфогистиоцитарной инфильтрации, на микропрепаратах не выявлялись азурофильные гепатоциты и тельца Каунсильмена.

Таблица 7. Влияние экстракта сухого “Гипелива” на состояние коагуляционного каскада при D-галактозаминовом гепатите ($M \pm m$)

Биохимические показатели	Группы животных с D - галактозаминовым гепатитом (D)				
	Контрольная (D + H ₂ O), n=8	Опытная I (D + “Гипелив”, 100 мг/кг), n=8	Опытная II (D + “Гипелив”, 200 мг/кг), n=8	Опытная III (D + “Гипелив”, 300 мг/кг), n=8	Опытная IV (D + Карсил, 200 мг/кг), n=8
Фибриноген, г/л	1,51±0,11*	1,92±0,13*	1,97±0,12*	1,99±0,11*	1,67±0,18
АЧТВ, сек	34,2±1,7*	28,9±1,4*	28,2±1,3*	27,9±1,25*	31,4±1,53
ПИ, %	51,3±2,4*	62,1±3,2*	61,9±2,8*	60,8±3,2*	56,3±3,7
ПВ, сек	33,7±1,7*	26,8±1,9* ²	25,9±1,7*	26,3±2,1*	27,8±1,9
МНО, усл. ед.	2,93 ±0,14*	2,34 ±0,17*	2,32±0,19*	2,16 ±0,17*	2,57±0,18 *
ПО, %	2,53±0,17* ¹	2,05±0,11 ²	2,02±0,13* ²	2,04±0,11* ²	2,17±0,19

Таким образом, применение изучаемого экстракта сухого “Гипелив” в экспериментально-терапевтических дозах на модели повреждении печени D-галактозамином гидрохлоридом оказывало выраженное гепатопротективное действие с ингибированием процессов ПОЛ, коррекцией гипокоагуляционных нарушений, уменьшением степени патоморфологических изменений, усилением процессов регенерации. При повышении дозы препарата до 200 и 300 мг/кг гепатопротективный эффект существенно не нарастал.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Потребность в получении эффективных гепатопротективных средств определяется значительной продолжительностью периода реконвалесценции вирусных гепатитов с постепенным восстановлением структуры печени, уменьшением проявлений мезенхимально-воспалительной реакции и холестагических нарушений (Ющук, 2017; Климова, 2018; Sarin et al., 2016; Manns et al., 2017; Muriel, 2017; Sherlock, Dooley, 2018). Для достижения полного выздоровления, снижения вероятности рецидивов и хронизации необходимо проводить коррекцию развития основных патогенетических синдромов повреждения печени (Руководство ..., ВОЗ; 2015; Климова, 2018; Yehia et al., 2014; Lavanchy, 2004; Sidharthan et al., 2015; Manns et al., 2017). Сложность воздействия на патологический процесс связана с многогранной ролью печени в метаболизме, осуществлении детоксикации, сохранении гомеостаза, фармакокинетике лекарственных средств (Ющук, 2017; Kuntz, Kuntz, 2000; Sherlock, Dooley, 2018)

Современные комплексные фитосредства, применяемые в виде сухих экстрактов, позволяют контролировать стабильность содержания БАВ, осуществлять стандартизацию и обеспечить более высокую фармакотерапевтическую эффективность (Николаев, 1992; Даргаева и др., 2000; Новиков, Климкина, 2005; Лякина, 2006; Колхир и др., 2013).

В данной работе впервые определены фармакологические свойства и установлена фармакотерапевтическая эффективность экстракта “Гипелив” при экспериментальных гепатитах. Использование двух экспериментальных моделей повреждения печени позволило получить более полную характеристику гепатопротективных свойств полученного экстракта благодаря широкому спектру его действия.

Экстракт является безвредным веществом, снижает выраженность ПОЛ, способствует стабилизации и восстановлению структурно-функциональной целостности мембраны гепатоцитов. Данный эффект обусловлен наличием в его составе комплекса БАВ (байкалина 1.85%, мангиферина 0.68%, протопина 1.09%, глицирризиновой кислоты 2.06%). “Гипелив” обладает выраженным противовоспалительным, иммуномодулирующим, противовирусным и желчегонным свойствами.

Исследуемый экстракт “Гипелив” в экспериментально-терапевтических дозах оказывает выраженное гепатопротективное влияние при D-галактозаминовом гепатите, ограничивая выраженность окислительного стресса, восстанавливая баланс между про- и антиоксидантными системами организма, повышая энергетический статус и тем самым угнетая выраженность патологических изменений в печени, корректируя развитие основных патогенетических синдромов цитолиза и холестаза. Повышение уровня альбуминов, фибриногена и уменьшение гипокоагуляции отражали увеличение функциональных возможностей и синтезирующей способности гепатоцитов с ранних сроков эксперимента. Морфологические исследования свидетельствовали об ограничении развития дистрофических и некротических процессов, уменьшении количества апоптотически измененных гепатоцитов, снижении интенсивности лимфогистиоцитарной инфильтрации и восстановлении структуры органа.

При СС14-гепатите в группах животных, получавших экстракт “Гипелив”, с ранних сроков наблюдения достоверно снижалась интенсивность ПОЛ, активность АЛТ и АСТ, что свидетельствует об ограничении цитолиза, а также существенно снижались явления холестаза. Значительные нарушения липидного обмена, характеризующиеся повышением содержания триацилглицеридов, ЛПНП, холестерина и снижением ЛПВП, развивающиеся при СС14-гепатите, достоверно уменьшались на 7-е сутки наблюдения при применении “Гипелива”. Морфометрические исследования позволили отметить при этом значительное снижение жировой дистрофии гепатоцитов. Экстракт “Гипелив” в дозе 100 мг/кг при тетрахлорметановом гепатите

на 7 сутки опыта оказывал холеретическое действие, сопоставимое с эффектом референтного гепатопротектора карсила. О повышении функциональных возможностей гепатоцитов при приеме изучаемого экстракта свидетельствовало улучшение синтетической функции с увеличением уровня альбуминов в сыворотке крови и изменение качественного состава желчи, повышение концентрации желчных кислот. Морфологические исследования подтверждали данные о позитивном влиянии «Гипелива» на функциональную активность гепатоцитов, отражали усиление регенераторных процессов на фоне его применения. Повышение холеретической реакции подтверждало отчетливое гепатопротективное влияние «Гипелива» при СС1₄-гепатите.

Таким образом, в экспериментальных условиях установлены гепатопротективные свойства экстракта сухого «Гипелив».

ВЫВОДЫ

1. Экстракт сухой «Гипелив» обладает противовоспалительной, желчегонной, противовирусной и иммуномодулирующей активностью благодаря содержанию в нем биологически активных веществ, преимущественно, флавоноидов, каротиноидов, алкалоидов и др.;
2. В экспериментально-терапевтических дозах экстракт сухой «Гипелив» при тетрахлорметановом гепатите оказывает гепатопротективное влияние, ингибируя деградиацию липопопротеидов, способствуя стимуляции холереза, коррекции липидного обмена, ограничивая выраженность стеатоза печени;
3. «Гипелив» в экспериментально-терапевтических дозах проявляет фармакотерапевтическую эффективность при повреждении печени D-галактозамином, способствуя уменьшению гипоальбуминемии, гипокоагуляции, обеспечивая восстановление структуры органа с уменьшением проявлений апоптоза, ограничивая выраженность мезенхимально-воспалительной реакции;
4. В основе гепатопротективного влияния исследуемого средства лежат его выраженные антиоксидантные, антирадикальные, мембраностабилизирующие и противовирусные свойства с уменьшением выраженности окислительного стресса, снижением степени выраженности патогенетических синдромов повреждения печени: цитолиза, холестаза, мезенхимально-воспалительной реакции.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Убеева, Е.А. Влияние комплексного растительного средства при экспериментальном гепатите / Е.А. Убеева, А.А. Торопова, С.М. Николаев // Материалы межрегиональной научно-практической конференции молодых

ученых медицинских организаций Республики Бурятия, посвященной 80-летию М.П. Рябова. – Улан-Удэ, 2017. – С. 278-281.

2. Убеева, Е.А. Особенности фармакотерапевтического действия комплексного растительного средства при экспериментальном гепатите / Е.А. Убеева, А.А. Торопова, И.П. Убеева, С.М. Николаев // Материалы VI Международной научно-практической конференции, посвященной 55-летию Восточно-Сибирского государственного университета технологии и управления. «Формы и методы социальной работы в различных сферах жизнедеятельности» – Улан-Удэ, 2017. – С. 301-302.

3. Николаев, С.М. Влияние экстракта и фракций *Calendula officinalis* L. на холеретическую реакцию у белых крыс / С.М. Николаев, З.Г. Самбуева, Д.Н. Оленников, Н.С. Бадмаев, И.Э. Матханов, Н.И. Кашенко, Ж.Н. Жамсараев, Е.А. Убеева // Практическая фитотерапия. – 2017. – №1. – С.5-12.

4. Badmaev, N.S. Choloretic effect of the extract from *Calendula officinalis* L. / N.S. Badmaev, Z.G. Sambueva, V.E. Khitrikheev, A.S. Chukaev, E.A. Ubееva, Zh.N. Namsaraev // Abstracts of International conference “Research-Innovation 2017”. – Ulaanbaatar, 2017. – P. 13.

5. Убеева, Е.А. Основные направления фитотерапии заболеваний печени / Е.А. Убеева, С.М. Николаев, И.П. Убеева // Вестник Бурятского государственного университета. - Медицина и Фармация. – 2017. – № 3. – С.3-9.

6. Убеева, Е.А. Гепатопротективные свойства комплексного растительного средства при экспериментальном гепатите / Е.А. Убеева, С.М. Николаев, А.А. Торопова // Сборник трудов пятой научно-практической конференции аспирантов и молодых учёных «Молодые учёные и фармация XXI века». – М., 2017. – С. 196-200.

7. Убеева, Е.А. Рациональная фитотерапия заболеваний печени / Е.А. Убеева, С.М. Николаев, И.П. Убеева // Материалы Международной науч.-практич. конференции «Наука и инновация». – Душанбе, 2018. – С. 142-146.

8. Убеева, Е.А. Влияние комплексного фитосредства на холеретическую реакцию у белых крыс / Е.А. Убеева, С.М. Николаев, И.П. Убеева и др. // Сб. науч. трудов Международной научной конференции «Перспективы лекарственного растениеводства», посв. 100-летию со дня рождения профессора Алексея Ивановича Шретера. – М., 2018. – С. 688-692.

9. Убеева, Е.А. Противовоспалительные свойства комплексного фитосредства, обладающего гепатопротективным действием / Е.А. Убеева, С.М. Николаев, И.П. Убеева и др. // Сб. науч. трудов Международной научной конференции «Перспективы лекарственного растениеводства», посв. 100-летию со дня рождения профессора Алексея Ивановича Шретера. – М., 2018. – С. 693 – 698.

10. Убеева, Е.А. Экспериментальная фитокоррекция острого D-галактозаминового гепатита у белых крыс / Е.А. Убеева, Я.Г. Разуваева, Д.Н.

Оленников, И.П. Убеева, С.М. Николаев, Л.Д. Дымшеева // Якутский медицинский журнал. – 2018. – № 4. – С. 33-36.

11. Убеева, Е.А. Особенности желчегонных свойств комплексного фитосредства в эксперименте на белых крысах / Е.А. Убеева, С.М. Николаев, И.П. Убеева, В.Г. Банзаракшеев, Е.А. Ботоева, Л.Р. Абидуева // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2018. – Вып.3 – 4. – С. 86-90.

12. Убеева, Е.А. Определение острой токсичности комплексного фитоекстракта на белых мышах / Е.А. Убеева, Е.А. Ботоева, И.П. Убеева С.М. Николаев, Е.Н. Цыбикова // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2018. – Вып.3-4. – С. 91- 97.

13. Убеева, Е.А. Современная противовирусная терапия гепатита С: новые возможности и вызовы/ Е.А. Убеева, Е.А. Ботоева, И.П. Убеева, С.М. Николаев р.// Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2018. – Вып. 3 – 4. – С. 108- 113.

14. Убеева, Е.А. Влияние комплексного фитосредства на гемостаз при токсическом гепатите у белых крыс / Е.А. Убеева, С.М. Николаев, И.П. Убеева Е.А. Ботоева, В.Г. Банзаракшеев, А.А. Торопова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2019. - Т. 22, № 3. – С. 3-8.

15. Ubeeva, E.A. Phytotherapy of experimental D-galactosamine hepatitis / E.A. Ubeeva, S.M. Nikolaev, I.P. Ubeeva // Materials of the International Conference “Scientific research of the SCO countries: synergy and integration” - Reports in English. Part 3. - Beijing, 2019. – P.100-107.

16. Убеева, Е.А. Особенности влияния комплексного фитосредства на процессы свертывания при токсическом гепатите у белых крыс / Е.А. Убеева, С.М. Николаев, Д.Н. Оленников, И.П. Убеева // Бюллетень медицинской науки. – 2019. – Т.1, №13. – С. 33-36.

17. Убеева, Е.А. Фитокоррекция острого D-галактозаминового гепатита у белых крыс / Е.А. Убеева, С.М. Николаев, И.П. Убеева, Я.Г. Разуваева, Д.Н.Оленников // «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы»: сборник трудов XI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. – М., 2019. – С. 208.

18. Ubeeva, E.A. Experimental phytotherapy of D-galactosamine hepatitis / E.A. Ubeeva, Y.G. Razuvayeva, D.N. Olennikov, I.P. Ubeeva, S.M. Nikolaev // Proceedings of the IX International Research to Practice Conference “Traditional Medicine: Ways of Consolidation with Modern Health Care”. - Ulan-Ude, 2019. – Ulan-Ude, 2019 – P. 103-105.

19. Ubeeva, E.A. The Immune modulating properties of the multi-component plant remedy “Gipeliv” / E.A. Ubeeva, V.B. Khobrakova, I.P. Ubeeva // Proceedings of the IX International Research to Practice Conference “Tradi-

tional Medicine: Ways of Consolidation with Modern Health Care”. - Ulan-Ude, 2019. – Ulan-Ude, 2019 – P. 109-110.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза	МК – молочная кислота
АОС – антиоксидантная система	ОВГС – острый вирусный гепатит С,
АСТ – аспаратаминотрансфераза	ПВ - протромбиновое время
АТФ – аденозинтрифосфат	ПВТ – противовирусная терапия,
БАВ – биологически активные вещества	ПИ - протромбиновый индекс,
ВГ – восстановленный глутатион	ПО - протромбиновое отношение
ВГС – вирусный гепатит С	ПОЛ – перекисное окисление липидов
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения	ПППД – препараты прямого противовирусного действия
ГГТП – γ -глутамилтранспептидаза,	РНК - рибонуклеиновая кислота
ГЦК гепатоцеллюлярная карцинома	СДГ – сукцинатдегидрогеназа
ГДГ- глутаматдегидрогеназа	СРО – свободнорадикальное окисление
ГП - глутатионпероксидаза	ТГ - триглицериды,
ДВС - диссеминированное внутрисосудистое свертывание	УВО – устойчивый вирусологический ответ,
ЛПНП - липопротеиды низкой плотности	ХГС - хронический гепатит С
ЛПВП - липопротеиды высокой плотности	ХВГС – хронический вирусный гепатит С
МНО - международное нормализованное отношение	ЦПД - цитопатогенное действие
МДА – малоновый диальдегид	ЩФ – щелочная фосфатаза
	ССl ₄ - четыреххлористый углерод

Подписано в печать 08.10.2019 г. Формат 60x84 1/16.
Бумага офсетная. Объем 1,6 печ.л. Тираж 100. Заказ № 25

Отпечатано в типографии Изд-ва Федерального государственного
бюджетного учреждения науки БНЦ СО РАН
670047 г Улан-Удэ ул. Сахьяновой, 6