

Л. В. Деримедвідь, Л. А. Коранг

Антиокиснювальні й антицитолітичні властивості екстракту листя лепехи звичайної

Національний фармацевтичний університет
Міністерства охорони здоров'я України, м. Харків

Ключові слова: парацетамоловий гепатит, екстракт листя лепехи звичайної, антиоксидантна активність, антицитолітична активність

Натепер проблема зумовлених ліками ушкоджень печінки є досить актуальною для сучасної гепатології. Згідно з даними статистики, захворювання органів гепато-біліарної системи займають п'яте місце серед причин смертності населення в багатьох країнах світу. Серед етіологічних факторів уражень печінки суттєву роль відіграють лікарські засоби [1–3].

Зумовлені ліками ураження печінки (ЛУП) складають близько 10 % від усіх побічних реакцій, пов'язаних зі застосуванням лікарських засобів (ЛЗ) [2]. За даними зарубіжних авторів, ЛУП спостерігають у 10–20 пацієнтів зі 100 тисяч, що приймають ЛЗ. У 11 % випадків ЛЗ призводять до розвитку гострої печінкової недостатності [3, 4].

Причиною розвитку ЛУП можуть бути понад 1200 ЛЗ, з яких близько 200 – це потенційно гепатотоксичні препарати [5, 6]. Серед препаратів, що найчастіше викликають ЛУП, – ненаркотичні аналгетики, антиретровірусні засоби, цитостатики та протипухлинні ЛЗ, протисудомні, антимікробні, протитуберкульозні ліки, нестероїдні протизапальні засоби, естрогени, анаболічні стероїди та ін. [1, 3]. ЛЗ можуть чинити як пряму гепатотоксичну дію (токсичність самої речовини), так і опосередковану або непрямую гепатотоксичну дію (дія метаболітів ЛЗ).

До найпоширеніших гепатотоксичних препаратів відносять парацетамол (ацетамінофен), який є найвживанішим безрецептурним аналгетиком-антипіретиком, що чинить дозозалеж-

ний гепатотоксичний ефект у дорослих пацієнтів [7]. За даними Державного реєстру лікарських засобів України, на грудень 2019 року в Україні зареєстровано 225 препаратів, що містять парацетамол [8].

Як відомо, після використання парацетамолу в терапевтичних дозах близько 90 % препарату перетворюється в печінці на фармакологічно неактивні кон'югати – глюкуронід-ацетамінофен (52–57 %) і сульфат-ацетамінофен (30–44 %) [7]. Близько 5–10 % препарату може вступати в реакції окиснення з утворенням проміжного активного метаболіту N-ацетил-p-бензохіноніміну (NAPQI). Останній, крім активації процесів вільнорадикального окиснення (ВРО), спричиняє вивільнення апоптоз-індукуючого фактора з наступною активацією апоптозу гепатоцитів [1–3, 7].

За умов зменшення рівня відновленого глутатіону токсична дія NAPQI збільшується, що призводить до розвитку токсичного гепатиту [7].

Згідно з даними К. Tajiri, Y. Shimizu (2008 р.), парацетамол є сумнозвісним «лідером» серед усіх препаратів, які призводять до ЛУП, на цей ЛЗ припадає 16,9 % летальних випадків ЛУП [8, 9].

За даними статистики, лише у США нераціональне використання парацетамолу спричиняє до 50 % випадків фульмінантної печінкової недостатності.

У роботі [10] оприлюднено дані Centers for Disease Control and Prevention (USA) відносно того, що в 2007 році з 1600 випадків гострої недостатності печінки – 41 % прийшовся на ацетамінофен (парацетамол), а в дітей з гострою печінковою недостатністю ацетамінофен був другою за частотою причиною розвитку патології.

Усе це свідчить про те, що профілактика та фармакотерапія ЛУП є актуальною для сучасної медицини.

Однією з ланок пошкодження печінки є оксидативний стрес і цитодеструктивні процеси [2, 7], таким чином використання ліків з антиоксидантними та мембраностабілізуючими властивостями є патогенетично доцільним.

Мета дослідження – вивчити на моделі парацетамолового гепатиту в щурів антиокиснювальні й антицитолітичні властивості екстракту листя лепехи звичайної (*Acorus calamus L.*), отриманого на кафедрі ботаніки НФаУ.

Препарати на основі кореневищ лепехи звичайної широко використовують у медицині. Біологічно активні речовини кореневища лепехи підвищують апетит, покращують травлення, посилюють жовчовидільну функцію печінки, підвищують тонус жовчного міхура, збільшують діурез [11]. На жаль, неконтрольована заготівля сировини та зменшення природного ареалу *Acorus calamus L.* призвели до значного зменшення запасів лепехи звичайної. Враховуючи дані джерел літератури щодо значної схожості якісного та кількісного складу біологічно активних речовин надземних і підземних частин лепехи звичайної, поглиблене дослідження препаратів листя лепехи звичайної є доцільним [11].

Матеріали та методи. Дослідження антиокиснювальних й антицитолітичних властивостей екстракту листя лепехи звичайної проведені на 30 білих безпородних щурах масою 180–220 г на моделі гострого парацетамолового гепатиту. Патологію відтворювали шляхом перорального введення парацетамолу в дозі 750 мг/кг протягом 2 діб [12]. Усі дослідження здійснено відповідно до Європейської конвенції про захист тварин, що використовуються з експериментальною або іншою науковою метою [13].

Деалкоголізований спиртово-водний екстракт листя лепехи звичайної (ДЕЛЛ) вводили внутрішньощлунково в дозі 1 мл/кг за 5 діб до введення парацетамолу та протягом 2 діб моделювання патології (за 1 год до і через 2 год після застосування парацетамолу). Як препарат порівняння викорис-

товували силібор у дозі 100 мг/кг («Силібор», таблетки 35 мг, виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна) та адеметіонін («Гептрал», таблетки 500 мг, виробництва Abbott Lab., Швейцарія) у дозі 105 мг/кг в аналогічному режимі [12, 14, 15].

Як маркер інтенсивності процесів ВРО у печінці досліджували рівень 8-ізопростану, який утворюється за неферментативного окиснення фосфоліпідів клітинних біомембран. Визначення 8-ізопростану проводили імуноферментним методом за допомогою наборів реагентів 8-Isoprostanr ELISA фірми IBC, Humburg. Вміст окисненого глутатіону (ОГ) і відновленого глутатіону (ВГ) у печінці визначали спектрофотометрично за методом В. С. Асатіані [16].

Інтенсивність цитодеструктивних процесів [14] оцінювали за активністю аланінамінотрансферази (АлАТ), аспаратамінотрансферази (АсАТ) та гамма-глутамілтранспептидази (γ -ГТТП) за допомогою наборів реагентів фірми Філісит-Діагностика (м. Дніпро).

Увесь фактичний матеріал оброблений методами варіаційної статистики (середнє значення, його стандартна похибка, медіана, верхній і нижній квартилі) з використанням параметричних (однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA, критерій Ньюмена-Кейлса) і непараметричних методів аналізу (критерій Крускала-Уолліса, Манна-Вітні). Прийнятий рівень значущості $p < 0,05$. Для отримання статистичних висновків використовували стандартний пакет програм «Statistica Application».

Результати та їх обговорення. Результати проведених досліджень наведено в таблицях 1 і 2. Встановлено, що за парацетамолового гепатиту в групі нелікованого контролю порівняно з інтактними тваринами рівень ВГ знизився в 2,18 разу, вміст ОГ у печінці зріс у 2,8 разу ($p < 0,05$). Рівень маркера процесів неферментативного окиснення фосфоліпідів біомембран – 8-ізопростану в нелікованих тварин збільшився в 9,5 разу ($p < 0,05$).

Введення тваринам у лікувально-профілактичному режимі ДЕЛЛ сприяло вірогідному збільшенню в печінці

рівня ВГ у 1,5 разу ($p < 0,05$) порівняно з нелікованим контролем. Одночасно використання ДЕЛЛ призводило до зменшення вмісту в печінці ОГ у 1,3 разу, рівня 8-ізопростану – у 2,0 разу (табл. 1).

Використання адеметіоніну призвело до зменшення рівня 8-ізопростану в 2,50 разу ($p < 0,05$), вміст ОГ зменшився в 1,93 разу, а рівень ВГ збільшився в 1,64 разу (табл. 1).

Сприятливий коригуючий вплив ДЕЛЛ і препаратів порівняння на неферментативну ланку системи антиоксидантного захисту відобразився пригніченням процесів мембранної цитодеструкції та попередженням порушень ферментативної функції печінки. Це підтверджується вірогідним зниженням активності трансаміназ у сироватці крові та γ -ГТПП (табл. 2).

Під дією ДЕЛЛ активність АлАТ, АсАТ зменшилась у 1,80 разу ($p < 0,05$), а γ -ГТПП – у 1,25 разу ($p < 0,05$) порівняно з нелікованим контролем. У разі застосування силібору активність АлАТ знижувалася в 1,80 разу ($p < 0,05$), АсАТ – у 1,6 разу та γ -ГТПП – у 1,16 разу (табл. 2). Використання адеметіоніну призвело до зменшення активності АлАТ у 2,0

разу ($p < 0,05$), АсАТ у 2,2 разу та γ -ГТПП у 1,34 разу.

Таким чином, за антиокиснювальними й антицитолітичними властивостями ДЕЛЛ поступався адеметіоніну, але перевищував ефект силібору ($p < 0,05$).

На наш погляд, гепатопротекторні властивості екстракту листя лепехи звичайної зумовлені наявністю флавоноїдів (гіперозид, рутин та ін.), фенілпропаноїдів (ферулова та розмаринова кислоти) та інших біологічно активних речовин. За даними багатьох дослідників, усім цим речовинам притаманні антиоксидантні, цитопротекторні властивості [17, 18].

Антиоксидантними й антицитолітичними властивостями флавоноїдів обумовлені й гепатопротекторні ефекти силібору [19, 20].

Гепатозахисні властивості адеметіоніну пов'язані з тим, що він є попередником багатьох тіолових сполук – глутатіону, цистеїну, таурину й забезпечує окисно-відновний механізм детоксикації гепатоцитів [2].

Таким чином, встановлено, що використання екстракту листя лепехи звичайної в лікувально-профілактичному режимі за експериментального парацетамолового гепатиту в щурів поперед-

Таблиця 1

Антиокиснювальні ефекти деалкоголізованого екстракту листя лепехи звичайної (n = 6)

Умова досліджу	Гомогенат печінки		
	Глутатіон окиснений, ммоль/г білка Median (Q25; Q75)	Глутатіон відновлений, ммоль/г білка M ± SEM	8-ізопростан, нг/мл M ± SEM
Інтактні тварини	9,47 (8,77; 9,82)	49,78 ± 4,82	5,17 ± 0,37
Нелікована патологія	27,64 (20,64; 29,42)*	22,77 ± 5,44*	49,57 ± 5,64*
Деалкоголізований екстракт листя лепехи звичайної, 1 мл/кг	20,63*** (19,85; 23,35)	35,25 ± 3,93**	24,64 ± 2,24 **, ***, ****
Силібор, 100 мг/кг	21,08 (20,79; 22,34)	32,40 ± 2,48**	31,95 ± 3,40**
Адеметіонін, 105 мг/кг	13,67 (13,12; 14,31)**	37,55 ± 5,38**	19,94 ± 1,99**

Примітка. Тут і в табл. 2: *достовірні відмінності з показником інтактного контролю ($p < 0,05$), **достовірні відмінності з показником нелікованої патології ($p < 0,05$), ***достовірні відмінності щодо групи тварин, яким вводили адеметіонін ($p < 0,05$), ****достовірні відмінності щодо групи тварин, яким вводили силібор ($p < 0,05$), n – кількість тварин у групі.

Активність цитолітичних процесів за парацетамолового гепатиту в щурів і впливу деалкоголізованого екстракту листя лепехи звичайної (n = 6)

Умова досліджу	Сироватка крові		
	АлАТ, нмоль/с • л Median (Q25; Q75)	АсАТ, нмоль/с • л (M ± SEM)	γ-ГТПП, нмоль/с • л (M ± SEM)
Інтактні тварини	23,35 (21,54; 24,05)	22,79 ± 2,52	220,850 ± 8,938
Нелікована патологія	131,93 (127,97; 140,07)*	89,32 ± 2,52*	405,370 ± 9,173*
Деалкоголізований екстракт листя лепехи звичайної, 1 мл/кг	69,98 (48,63; 50,25)**, ****	49,39 ± 4,95**, ***	324,53 ± 10,40**
Силібор, 100 мг/кг	78,42 (77,26; 79,05)**	49,39 ± 1,67**	348,167 ± 11,406**
Адеметіонін, 105 мг/кг	63,48 (62,34; 64,12)**	38,93 ± 2,09**	301,227 ± 10,080**

жує та пригнічує розвиток цитолітичних процесів і гальмує надмірну активацію процесів вільнорадикального окиснення. Отримані дані є підґрунтям для подальших, більш поглиблених досліджень екстракту листя лепехи звичайної для створення на основі цієї сировини ефективних та безпечних вітчизняних гепатопротекторів.

Висновки

1. Використання екстракту листя лепехи звичайної за умов парацетамолового гепатиту в щурів у лікувально-профілактичному режимі призводить

до достовірного зменшення рівня 8-ізопростану, збільшення пулу ВГ, а також зменшення рівня ОГ, що покращує детоксикацію парацетамолу та спричиняє антиоксидантний ефект.

2. Антицитолітичні властивості екстракту листя лепехи звичайної підтверджено достовірним зменшенням активності АсАТ, АлАТ і γ-ГТПП.

3. За антиокиснювальними й антицитолітичними властивостями екстракт листя лепехи звичайної дещо поступається адеметіоніну, але перевищує ефект силібору.

1. Звягинцева Т. Д., Чернобай А. И. Лекарственные поражения печени. НПВП-ассоциированные гепатопатии: актуальность проблемы и современные терапевтические подходы. *Український медичний часопис*. 2014. № 1 (99) – I/II. С. 80–89.
2. Болезни печени и желчевыводящих путей. Ивашкин В. Т. (ред.). Москва : Издательский дом «М-Вести», 2002. 416 с.
3. Лекарственные поражения печени (клинические рекомендации для врачей). В. Т. Ивашкин, А. Ю. Барановский, К. Л. Райхельсон и др. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2019. № 29 (1). С. 85–115. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2019-29-1-101-131>.
4. Bunchorntavakul C., Reddy K. R. Review article: herbal and dietary supplement hepatotoxicity. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013. V. 37 (1). P. 3–17. <https://doi.org/10.1111/apt.12109>.
5. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. G. Ostapowicz, R. J. Fontana, F. V. Schioldt et al. *Ann Intern Med*. 2002. V. 137 (12). P. 947–54. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-137-12-200212170-00007>.
6. Клекот О. О., Яковлева О. О. Безпека застосування парацетамолу в клінічній практиці. *Pain Medicine Journal*. 2016. № 3 (3). P. 41–48.
7. Drug-Induced Liver Injury Network. URL: <http://www.dilin.org>
8. Державний реєстр лікарських засобів України. URL: <http://www.drz.com.ua>.
9. Tajiri K., Shimizu Y. Practical guidelines for diagnosis and early management of drug-induced liver injury. *World J Gastroenterol*. 2008. V. 14 (44). P. 6774–85. <https://doi.org/10.3748/wjg.14.6774>.

10. Norris W., Paredes A. H., Lewis J. H. Drug-induced liver injury in 2007. *Curr Opin Gastroenterol*. 2008. V. 24. P. 287–2974. <https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e3282f9764b>.
11. Venskutonis P. R., Dagilyte A. Composition of Essential Oil of Sweet Flag (*Acorus calamus L.*) Leaves at Different Growing Phases. *Journal of Essential Oil Research*. 2003. V. 15, № 5. P. 313–318.
12. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Москва : Гриф и К, 2012. 944 с.
13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose : Council of Europe. Strasbourg, 1986. 52 p.
14. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек.; за ред. О. В. Стефанова. Київ : ВД «Авіцена», 2001. 528 с.
15. Гепатотропное действие рунихола и адеметионина при повреждении печени противотуберкулезными препаратами основного ряда в эксперименте. Д. С. Суханов, Т. И. Виноградова, Н. В. Заболотных и др. *Архив патологии*. 2014. № 2. С. 26–30.
16. Асатиани В. С. Ферментные методы анализа. Москва : Наука, 1969. 740 с.
17. Назарова Л. Е. Исследования цитопротекторной активности кислоты феруловой: автореф. дис. на соискание учен. степени докт. фарм. наук: спец. 14.03.06 «Фармакология, клиническая фармакология». Пятигорск, 2012. 47 с.
18. Алексеева Л. И., Болотник Е. В. Розмариновая кислота и антиоксидантная активность *Prunella Grandiflora* и *Prunella Vulgaris* (Lamiaceae). Растительный мир Азиатской России. 2013. С. 121–125.
19. Юрьев К. Л. Силимарин: эффекты и механизмы действия, клиническая эффективность и безопасность. Часть I. Эффекты и механизмы действия. *Український медичний часопис*. 2010. № 2 (76) III–IV. С. 71–75.
20. WHO monographs on selected medicinal plants Fructus Silybi Mariae. Volume 2. World Health Organization. Geneva, 2002. P. 300–316. URL: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js4927e/29.html>; <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s4927e/s4927e.pdf>.

Л. В. Деримедвідь, Л. А. Коранг

Антиокиснювальні й антицитолітичні властивості екстракту листя лепехи звичайної

Одним з препаратів, що досить часто призводить до розвитку зумовлених ліками уражень печінки (ЛУП), є парацетамол. Механізм гепатотоксичності парацетамолу зумовлений пригніченням внутрішньоклітинної системи глутатіону та надмірною активацією процесів вільнорадикального окиснення.

Мета дослідження – вивчення антиокиснювальних й антицитолітичних властивостей екстракту листя лепехи звичайної (*Acorus calamus L.*) на моделі парацетамолового гепатиту в щурів.

Антиокиснювальну дію екстракту листя лепехи звичайної визначали за впливом на рівень 8-ізопростану, вмістом окисненого та відновленого глутатіону. Антицитолітичну активність оцінювали за зменшенням активності аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ) та гамма-глутамілтранспептидази (γ-ГТПП).

Встановлено, що використання екстракту листя лепехи звичайної в лікувально-профілактичному режимі за експериментального парацетамолового гепатиту в щурів достовірно зменшує рівень 8-ізопростану, збільшує пул відновленого глутатіону, зменшує рівень окисненого глутатіону, що вочевидь покращує детоксикацію парацетамолу та спричиняє антиоксидантний ефект. Антицитолітичні властивості екстракту листя лепехи звичайної підтверджено достовірним зменшенням активності АсАТ, АлАТ і γ-ГТПП. Встановлено, що за антиокиснювальними та антицитолітичними властивостями екстракт листя лепехи звичайної поступався препарату порівняння адеметионіну, але за окремими показниками перевищував ефект силібору. Вочевидь гепатопротекторні властивості екстракту листя лепехи зумовлені наявністю в їхньому складі флавоноїдів, таких як гіперозид, рутин, ферулова та розмаринова кислоти та інших біологічно активних речовин, яким притаманні антиоксидантні та цитопротекторні властивості.

Ключові слова: парацетамоловий гепатит, екстракт листя лепехи звичайної, антиоксидантна активність, антицитолітична активність

Л. В. Деримедведь, Л. А. Коранг

Антиокислительные и антицитолитические свойства экстракта листьев айра обыкновенного

Одним из препаратов, достаточно часто вызывающих лекарственные поражения печени (ЛПП), является парацетамол. Механизм гепатотоксичности парацетамола обусловлен угнетением внутриклеточной системы глутатиона и чрезмерной активацией процессов свободнорадикального окисления.

Цель исследования – изучение антиокислительных и антицитолитических свойств экстракта листьев айра обыкновенного (*Acorus calamus L.*) на модели парацетамолового гепатита у крыс.

Антиокислительное действие экстракта листьев айра обыкновенного определяли по влиянию на уровень 8-изопростана, содержанию окисленного и восстановленного глутатиона. Антицитолитическую активность оценивали по уменьшению активности аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартат-аминотрансферазы (АсАТ) и гамма-глутамилтранспептидазы (γ -ГТТП).

Установлено, что использование экстракта листьев айра обыкновенного в лечебно-профилактическом режиме при экспериментальном парацетамоловом гепатите у крыс приводит к достоверному уменьшению уровня 8-изопростана, увеличению пула восстановленного глутатиона, уменьшению уровня окисленного глутатиона, что очевидно улучшает детоксикацию парацетамола и вызывает антиоксидантный эффект. Антицитолитические свойства экстракта листьев айра обыкновенного подтверждены достоверным уменьшением активности АсАТ, АлАТ и γ -ГТТП. Установлено, что по антиокислительным и антицитолитическим свойствам экстракт листьев айра обыкновенного несколько уступал препарату сравнения адеметионину, но по ряду показателей превышает эффективность силибора. Очевидно, гепатопротекторное действие экстракта листьев айра обусловлено наличием в их составе флавоноидов, таких как гиперозид, рутин, феруловая и розмариновая кислоты и других биологически активных веществ, обладающих антиоксидантными и цитопротекторными свойствами.

Ключевые слова: парацетамоловый гепатит, экстракт листьев айра обыкновенного, антиоксидантная активность, антицитолитическая активность

L. V. Derymedvid, L. A. Korang

Antioxidant and anticytolytic properties of *Acorus calamus* leaf extract

Paracetamol is one of the drugs that often causes drug-induced liver injury (DILI). The mechanism of hepatotoxicity of paracetamol is due to the inhibition of the intracellular glutathione system and the over-activation of free radical oxidation.

The aim of the study was to determine an antioxidant and anticytolytic activity of *Acorus calamus* leaves extract on the animal's with experimental paracetamol hepatitis.

An antioxidant action of *Acorus calamus* leaf extract was determined by the effect on the level of 8-isoprostane, the content of oxidized and reduced glutathione. Anticytolytic effect was evaluated by the decrease of alanine aminotransferase (AlAT), aspartate aminotransferase (AsAT) and gamma-glutamyl-transpeptidase (γ -GTP) activities.

It has been established that the use of *Acorus calamus* leaf extract in therapeutic and prophylactic regimens under experimental paracetamol hepatitis in rats significantly reduces the level of 8-isoprostane, increases the pool of reduced glutathione, reduces the level of oxidized glutathione, which obviously improves the detoxification. The anticytolytic properties of *Acorus calamus* leaf extract were confirmed by a significant decrease in AsAT, AlAT and γ -GTP activities. It was found that the antioxidant and anticytolytic properties of the *Acorus calamus* leaf extract were somewhat inferior to the comparison drug – ademetionine, but exceeded the efficiency of silibor by some indices. Obviously, the hepatoprotective effect of *Acorus calamus* leaf extract is due to the presence in their composition of flavonoides, such as hyperoside, rutin, ferulic and rosemary acids and other biological active substances, possessing antioxidant and cytoprotective properties.

Key words: paracetamol hepatitis, Acorus calamus leaf extract, antioxidant activity, anticytolytic activity

ORCID ID авторів:

Деримедвідь Л. В. (ORCID ID 0000-0002-5064-6550);

Коранг Л. А. (ORCID ID 0000-0002-9408-4561).

Надійшла: 15 листопада 2019 р.

Прийнята до друку: 17 грудня 2019 р.

Контактна особа: Деримедвідь Людмила Віталіївна, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет МОЗУ, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 57 706 30 69. Електронна пошта: derimedved67@gmail.com