

Рекомендована д.м.н., професором І.Л.Диким

УДК 615.32:582.71.7:615.451.16:616.36-002

## ВПЛИВ РИБІФЛАНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ УРАЖЕННІ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

О.Ю.Яценко, Л.Н.Малоштан

Національний фармацевтичний університет

Проведені дослідження з вивчення гепатопротекторної та антиоксидантної активності рибіфлану (70% настойки з листя смородини чорної). Показано виражену ефективність препарату при хронічному ураженні тетрахлорметаном у щурів. Лікувально-профілактичне введення рибіфлану знижує активність процесів ліпоперекисної деградації, цитолізу і холестази. Рівень АЛАТ під дією рибіфлану знизився в 1,6 рази ( $p < 0,001$ ), АсАТ — у 1,4 рази ( $p < 0,01$ ), МДА — у 1,6 рази ( $p < 0,01$ ), ЛФ — у 1,4 рази. Введення рибіфлану поліпшило і поглинально-видільну функцію печінки — час появи бромсульфалеїну зменшився в 2,25 рази ( $p < 0,001$ ). Порівняльний аналіз гепатозахисної дії рибіфлану і силібору показав, що за антиоксидантною та антицитолітичною дією рибіфлан перевершує силібор у 1,2-1,3 рази. Отримані результати свідчать про гепатозахисну активність рибіфлану і вказують на перспективність його використання в комплексному лікуванні хронічного гепатиту.

Однією з важливих і складних проблем у клініці внутрішніх хвороб є лікування хронічних гепатитів (ХГ). У теперішній час спостерігається стійка тенденція до росту захворювань гепатобіліарної системи [5, 7, 14, 21], що обумовлено комплексом ендемічних і екзогенних впливів (зокрема це вірусні ушкодження, ендотоксикоз, безконтрольне застосування хімотерапевтичних препаратів, у тому числі і нових, які мають виражену гепатотоксичну дію; забруднення навколишнього середовища, зростання небезпеки екологічно шкідливої дії підвищеного фону радіації тощо). Тому не втрачає актуальності задача розширення арсеналу ефективних нетоксичних засобів для лікування і профілактики цих захворювань, отриманих з рослинної сировини [1, 8, 10, 19, 20].

На кафедрі фармакогнозії НФаУ доцентом Кисличенко В.С. і асистентом Криворучко Е.В. був розроблений фітопрепарат "Рибіфлан" (70% настойка з листя смородини чорної).

Головним у патогенезі гострих і хронічних захворювань печінки, викликаних різними агентами зовнішнього середовища, є ініціація перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) плазматичних і внутрішньоклітинних мембран гепатоцитів. Цей процес викликає дезінтеграцію ферментних і неферментних біотрансформаційних процесів і супроводжується послабленням антиоксидантної функції печінки, жовчо- і глікогенсинтезуючих систем гепатоцитів [2, 11].

Біофлавоноїди, що містяться в листі смородини чорної, є прямими антиоксидантами і при взаємодії з вільними радикалами ксенобіотиків утворюють малоактивні сполуки, не здатні ініціювати ПОЛ, що сприяє нормалізації функцій мембран гепатоцитів [9, 12-17, 20, 22].

Метою наших досліджень було вивчення впливу рибіфлану на функціональний стан печінки щурів при хронічній двомісячній інтоксикації тетрахлорметаном.

### Експериментальна частина

Інтоксикація тетрахлорметаном є класичною моделлю ушкодження субклітинних мембран гепатоцитів. При цьому в організмі в результаті метаболізму  $\text{CCl}_4$  утворюються продукти вільнорадикальної природи, які є індукторами ПОЛ, внаслідок чого порушується структура клітин печінки та їхніх основних функцій [3].

Для досліджень були сформовані чотири дослідні групи: інтактні тварини, неліковані тварини та ліковані рибіфланом і силібормом. Усього в експерименті використано 40 щурів лінії Вістар обох статей масою 120-145 г.

Тетрахлорметан вводили у вигляді 50% олійного розчину по 0,2 мл/100 г маси тіла тварини перорально.

Досліджуваний препарат і препарат порівняння вводили в лікувально-профілактичному режимі за одну годину до і через дві години після введення гепатотоксину в наступних дозах: рибіфлан — 1 мл/кг, силібор — 25 мг/кг.

Після закінчення терміну дослідження тварин виводили з експерименту методом декапітації в умовах

Таблиця 1

Вплив рибіфлану та силібору на жовчоутворюючу функцію печінки при двомісячному її ураженні тетрахлорметаном (n=6)

| Умови досліджу               | Доза     | Швидкість секреції жовчі, мг/хв/100 |             |            | Загальна кількість жовчі за 3 год досліджу, мг/100 | Бромсульфалеїнова проба, хв |              |
|------------------------------|----------|-------------------------------------|-------------|------------|--|-----------------------------|--------------|
|                              |          | 1 год                               | 2 год       | 3 год      |  | початок                     | закінчення   |
| Інтактні тварини             |          | 5,47±0,61                           | 4,01±0,46   | 3,05±0,43  | 749,0±82,2   | 6,30±0,76                   | 8,4±0,7      |
| Неліковані тварини           |          | 2,50±0,27                           | 1,87±0,31*  | 1,14±0,20* | 325,0±37,7*  | 12,50±1,36*                 | 22,5±1,1*    |
| Тварини, ліковані рибіфланом | 1 мл/кг  | 3,30±0,27                           | 2,83±0,21** | 1,91±0,18  | 482,0±49,4**                                       | 9,80±0,8                    | 10,01±0,70** |
| Тварини, ліковані силібором  | 25 мг/кг | 3,60±0,34**                         | 2,40±0,28   | 2,20±0,46  | 343,0±20,6   | 8,90±0,76**                 | 15,20±0,74** |

Примітка:

1. \* —  $p \leq 0,05$  у порівнянні з інтактними тваринами;
2. \*\* —  $p \leq 0,05$  у порівнянні з нелікованими тваринами;
3. n — кількість тварин у групі.

ефтаназії під барбаміловим наркозом, після чого вивчали біохімічні і функціональні показники печінки [6].

Статистична обробка результатів проведена за критерієм Ст'юдента [4].

#### Результати та їх обговорення

При проведенні досліджу враховували вихідні дані і показники після заключного введення тетрахлорметану.

Результати дослідів представлені в табл. 1-2.

Аналіз показників, що характеризують функціональний стан печінки інтактного контролю, показав, що їх коливання протягом 2-х місяців дослідження не виходять за межі фізіологічної

норми і носять сезонний характер. Вживаємість була 100%, приріст маси тіла склав 39,5 г (табл. 1, 2).

Двомісячна інтоксикація  $CCl_4$  призвела до загибелі 31,3% тварин, які не одержували лікування.

Швидкість секреції жовчі знизилася в 2,1-2,5 рази ( $p < 0,01$ ) (табл. 1), загальна кількість жовчі зменшилася в 2,3 рази ( $p < 0,001$ ). Постраждала поглинально-видільна функція печінки: час екскреції бромсульфалеїну виріс у 2,7 рази ( $p < 0,001$ ). Поряд з цим у 2 рази збільшилась активність лужної фосфатази (ЛФ) ( $p < 0,01$ ) (табл. 2). Вірогідно значимо підвищилася активність трансаміназ: АлАТ у 2,4 рази ( $p < 0,001$ ), АсАТ — у 2,1 рази ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 2

Вплив рибіфлану та силібору на функціональний стан печінки білих щурів при двомісячному введенні  $CCl_4$  (n=6)

| Показники                      | Вихідні результати | Інтактні тварини | Неліковані тварини (контроль) | Ліковані рибіфланом | Ліковані силібором |
|--------------------------------|--------------------|------------------|-------------------------------|---------------------|--------------------|
| Вживаємість, %                 | 100                | 100              | 68,7                          | 91,6                | 83,3               |
| Приріст маси тіла, г           |                    | 39,5             | 5,27                          | 26,2                | 20,5               |
| АсАТ, ммоль/год · л            | 0,87±0,03          | 0,96±0,03        | 2,06±0,14*                    | 1,48±0,05*          | 1,85±0,08          |
| АлАТ, ммоль/год · л            | 1,02±0,05          | 1,12±0,06        | 2,68±0,16*                    | 1,60±0,17**         | 1,83±0,33**        |
| ЛФ, ОД/л                       | 93,8±8,2           | 102,20±8,87      | 208,0±22,4*                   | 140,0±26,0          | 168,0±17,7         |
| Загальний білок, г%            | 6,87±0,10          | 6,13±0,11        | 4,10±0,33*                    | 5,61±0,26**         | 5,49±0,15**        |
| Сечовина, моль/л               | 18,3±0,26          | 15,80±0,24       | 11,70±0,70*                   | 12,30±0,64          | 11,40±0,56         |
| Загальні ліпіди, г/л           | 6,40±0,61          | 6,80±0,76        | 8,28±0,36                     | 7,80±0,52           | 7,9±0,5            |
| Відновлений глутатіон, ммоль/л | 0,280±0,006        | 0,295±0,008      | 0,134±0,005*                  | 0,198±0,004**       | 0,160±0,070        |
| МДА, мкмоль/л                  | 101,0±7,4          | 96,4±2,2         | 231,0±14,8*                   | 145,0±12,8**        | 187,0±14,4         |
| Глікоген, мг/л                 | 0,238±0,010        | 0,220±0,010      | 0,138±0,020*                  | 0,18±0,05           | 0,158±0,040        |
| Гексеналовий сон, хв           | 28,4±3,2           | 26,30±2,09       | 69,5±3,6*                     | 44,7±3,3**          | 58,7±6,9           |

Примітка.

1. \* —  $p \leq 0,05$  у порівнянні з інтактними тваринами;
2. \*\* —  $p \leq 0,05$  у порівнянні з нелікованими тваринами;
3. n — кількість тварин у групі.

Інтотоксикація тетрахлоридом вуглецю привела до активації процесів вільнорадикального окиснення — вміст малонового діальдегіду підвищився в 2,4 рази ( $p < 0,001$ ). При цьому відзначається виснаження пулу відновленого глутатіону на 54,5% ( $p < 0,001$ ).

Застосування чотирихлористого вуглецю привело до пригнічення білоксинтетичної функції печінки, про що свідчить зниження вмісту загального білка і сечовини в сироватці крові (у 1,5–1,3 рази відповідно) ( $p < 0,001$ ). З боку ліпідного обміну відзначається недостовірне збільшення рівня загальних ліпідів (табл. 2).

Постраждала детоксикуюча функція печінки — час гексеналового сну збільшився в 2,6 рази ( $p < 0,001$ ).

Дослідження вуглеводного обміну показало, що при застосуванні ССІ4 спостерігається пригнічення глікогенсинтезуючої функції печінки — рівень глікогену в порівнянні з інтактними тваринами знизився в 1,6 рази ( $p < 0,01$ ).

Зазначені зміни призвели до пригнічення анаболічних процесів в організмі тварин, про що свідчить вкрай низький приріст маси тіла щурів (табл. 2).

Застосування рибіфлану і силібору знизило ступінь ураження печінки. Так, використання рибіфлану підвищило загальну кількість жовчі в 1,48 рази ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з нелікованими тваринами. Уведення рибіфлану поліпшило і поглинально-видільну функцію печінки (час появи бромсульфалеїну зменшився в 2,25 рази ( $p < 0,001$ )).

Ензимологічні дослідження показали, що лікувально-профілактичне введення рибіфлану знижує активність процесів ліпоперекисної деструкції, цитолізу і холестази. Рівень АЛАТ під дією рибіфлану знизився в 1,6 рази ( $p < 0,001$ ), АсАТ — у 1,4 рази ( $p, 01$ ), МДА — в 1,6 рази ( $p < 0,01$ ), ЛФ — у 1,4 рази (табл. 2).

Зниження активності процесів ПОЛ під впливом рибіфлану корелює із зростанням вмісту відновленого глутатіону.

Вивчення впливу рибіфлану на білковий обмін показало позитивну динаміку змін під впливом досліджуваного препарату (табл. 2).

Застосування рибіфлану вплинуло на енергозапечеченість гепатоцитів: вміст глікогену підвищився в 1,3 рази у порівнянні з нелікованими тваринами.

З боку ліпідного обміну відзначається зниження гіперліпідемії в 1,1 рази.

Порівняльний аналіз гепатозахисної дії рибіфлану і силібору (табл. 1, 2) показав, що за антиоксидантною та антицитолітичною дією рибіфлан перевершує силібор у 1,2–1,3 рази.

За впливом на білковий і ліпідний обмін ефекти рибіфлану і силібору схожі (табл. 2).

Рибіфлан більш інтенсивно захищає антиоксидантні ферменти від окиснювання, поліпшуючи детоксикуючу функцію печінки (табл. 1, 2).

Таким чином, дані, отримані при біохімічному дослідженні секретів і гомогенатів у печінці, свідчать про гепатозахисну активність рибіфлану. За терапевтичною дією ефект рибіфлану трохи перевершує препарат порівняння “Силібор”.

#### ВИСНОВКИ

1. Досліджуваний препарат рибіфлан виявляє жовчогінну активність.

2. При експериментальному гепатиті, викликаному тетрахлорметаном, спостерігається виснаження енергетичних ресурсів. Досліджуваний препарат впливає на енергозабезпеченість гепатоцитів.

3. Рибіфлан впливає на бар’єрну функцію печінки, поліпшуючи її детоксикуючі властивості.

4. Рибіфлан за антицитолітичною та антиоксидантною дією перевершує препарат порівняння “Силібор”.

5. Досліджуваний препарат рибіфлан є перспективним препаратом для комплексної терапії захворювань печінки.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Буеверов А. О. Место гепатопротекторов в лечении заболеваний печени // *Болезни органов пищеварения*. — 2001. — Т. 3, №1. — С. 16–18.
2. Губский Ю. И. Молекулярные механизмы повреждения мембран гепатоцитов при экспериментальном поражении печени: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. — К., 1984. — 33 с.
3. Дроговоз С. М., Сальникова С. И., Скакун Н. П., Слышков В. В. Методические рекомендации по экспериментальному изучению желчегонной, холеспазмолитической, холелитиазной и гепатопротекторной активности новых лекарственных средств // *Издание официальное*. — К.: ФК МЗ Украины, 1994. — С. 46.
4. Иванов Ю. И., Погорелюк О. Н. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам. — М.: Медицина, 1990. — 224 с.
5. Масевич Ц. Г., Ситкин С. И. // *Aqua Vitae*. — 2000. — №2. — С. 23–26.
6. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 63–64, 66–68.
7. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей. Практическое руководство. Пер. с англ. / Под ред. З. Г. Апросиной, Н. А. Мусина — М.: Ботер, Медицина, 1999. — 964 с.
8. Brumley C. // *AORN J*. — 2000. — Vol. 72. — P. 785–794.
9. Calamita O., Malinowski J., Strzelecka H. // *Acta Pol. Pharm.* — 1983. — Vol. 40, №3. — P. 383–387.
10. Chan TYK: Monitoring the safety of herbal medicines. *Drug Safety* 1997. — Vol. 17. — P. 209–215.
11. Girotti A. W. // *J. Lipid Res.* — 1998. — №39. — P. 1529–1542.

12. Hassig A., Liang W.X., Schwabl H., Stampfli K. // *Med. Hypotheses*. — 1999. — Vol. 52, №5. — P. 479-481.
13. Haenen G., Paquay J., Korthouwer R.E., Bast A. // *Biochem. Biophys. Res. Common.* — 1997. — Vol. 236, №3. — P. 591-593.
14. Iwahashi Hideo. // *Biochem. J.* — 2000. — №346. — P. 265-273.
15. Kagan V.E., Tyurina Y.Y. // *Annals of the N. Y. Academy of Sciences*. — 1998. — №854. — P. 425-434.
16. Kaul A., Khanduja K.L. // *Nutr. Cancer*. — 1999. — Vol. 35, №2. — P. 207-211.
17. Le Lous G., Majoie B., Moriniere J.-L., Wulfert E. // *Enn. pharm. franc.* — 1975. — Vol. 33, №8-9. — P. 393-399.
18. Middleton E. // *Ann. Allergy*. — 1988. — Vol. 61, №6, Pt. 2. — P. 53-57.
19. Mueller J., Clauson K. // *Am. J. Man. Care*. — 1997. — Vol. 3. — P. 1753- 1770.
20. O'Hara M., Keifer D., Farrell K., Kemper K. // *Arch. Fam. Med.* — 1998. — Vol. 17. — P. 523-536.
21. Pauletzki J., Althaus R., Holl J. et al. // *Gastroenterol.* — 1996. — №111. — P. 765-771.
22. Viberg U., Ekstrom G., Fredlund K., Oste R.E. // *Int. J. Food Sci. Nutr.* — 1997. — №48 (1). — P. 57-66.

---

УДК 615.32:582.71.7:615.451.16:616.36-002

**ВЛИЯНИЕ РИБИФЛАНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ТЕТРАХЛОРЕМТАНОМ**

Е.Ю.Яценко, Л.Н.Малоштан

Проведены исследования по изучению гепатопротекторной и антиоксидантной активности рибифлана (70% настойка из листьев смородины черной). Показана выраженная эффективность препарата при хроническом поражении тетрахлорметаном у крыс. Лечебно-профилактическое введение рибифлана снижает активность процессов липоперекисной деградации, цитолиза и холестаза. Уровень АлАТ под действием рибифлана понизился в 1,6 раза ( $p < 0,001$ ), АсАТ — в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ), МДА — в 1,6 раза ( $p < 0,01$ ), ЩФ — в 1,4 раза. Введение рибифлана улучшило и поглотительно-выделительную функцию печени — время появления бромсульфалеина уменьшилось в 2,25 раза ( $p < 0,001$ ). Сравнительный анализ гепатозащитного действия рибифлана и силибора показал, что по антиоксидантному и антицитолитическому действию рибифлан превосходит силибор в 1,2-1,3 раза. Полученные результаты свидетельствуют о гепатозащитной активности рибифлана и указывают на перспективность его использования в комплексном лечении хронического гепатита.

---

UDC 615.32:582.71.7:615.451.16:616.36-002

**RIBIFLAN INFLUENCE ON RATS' FUNCTIONAL LIVER STATE AT CHRONICAL INJURY BY TETRACHLORE-METHANE**

Ye.Yu.Yatsenko, L.N.Maloshtan

We have presented researches on ribiflan hepatoprotector and antioxidant activities (70% infusion of black currant leaves). The effectiveness of the medicine at chronic disease under tetrachlormethan action at rats has been shown. Clinical and preventive ribiflan administration reduces activity of lipoperoxide, cytolysis and cholestasis destruction processes. The AlAT level under ribiflan was reduced in 1,6 times ( $p < 0,001$ ), AspAT in 1,4 times ( $p < 0,01$ ), MDA in 1,6 times ( $p < 0,01$ ), BPh in 1,4 times. The ribiflan administration has improved absorptive and excretion liver function — the time of bromsulphalein has decreased in 2,25 times ( $p < 0,001$ ). The comparative analysis of ribiflan and silibor hepatoprotective activities has shown that ribiflan antioxidant and anticytolytic effect exceeds silibor in 1,2-1,3 times. The obtained results have demonstrated ribiflan usage perceptiveness in complex chronic hepatitis treatment.