

2. Shahab, S., Almodarresiyeh, H.A., Sheikhi, M., Ihnatovich, Z., Filippovich, L. Density Functional Theory Investigation, Bioactivity, Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion Properties, Docking and in Silico Analysis of New Effective Piperazine Derivatives against Alzheimer's Disease. Russian Journal of Physical Chemistry B., 2023, 17(3), P. 725–737.

КОРРЕКЦИЯ ПРЕПАРАТАМИ РАСТИТЕЛЬНОЙ ПРИРОДЫ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

RATS LIVER ANTIOXIDANT STATUS CORRECTION WITH PLANT PREPARATIONS IN THE MODEL OF PARACETAMOL POISONING

**С. Н. Далимова¹, Д. Д. Тухтаев¹, Г. Б. Умарова¹, Ш. Н. Кузиев¹,
Г. М. Мухамаджанова¹, С. Х. Хамроев¹, А. Г. Сыса², А. В. Алексейчик²**
**S. N. Dalimova¹, D. D. Tukhtaev¹, G. B. Umarova¹, Sh. N. Kuziev¹,
G. M. Mukhamadzhanova¹, S. Kh. Khamroev¹, A. G. Sysa², A. V. Alekseychik²**

¹Национальный университет имени Мирзо Улугбека, НУУз, г. Ташкент, Республика Узбекистан
gulbahor_umarova@mail.ru

²Учреждение образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ, г. Минск, Республика Беларусь
aliaksei.sysa@iseu.by

¹Mirzo Ulugbek National University, NUUZ, Tashkent, Republic of Uzbekistan

²International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

В настоящей работе исследованы антиоксидантные эффекты супрамолекулярных комплексов полифенолов, аминокислот на основе моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (МАСГК) в гомогенате печени крыс на модели парацетамолового гепатита. Установлено, что парацетамол вызывает значительное увеличение содержания в гомогенате печени диеновых конъюгатов и сопряженных триенов, а также в митохондриях вторичного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) – МДА. Введение гепатитным животным супрамолекулярных комплексов снижало содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ. Наиболее эффективным антиоксидантным действием обладал комплекс МАСГК/кверцетин.

The antioxidant effects of supramolecular complexes of polyphenols and amino acids based on monoammonium salt of glycyrrhizic acid (MAGA) in rat liver homogenate in a model of paracetamol hepatitis were investigated. It has been established that paracetamol causes a significant increase in the content of diene conjugates and conjugated trienes in the liver homogenate, as well as in the mitochondria of the secondary product of lipid peroxidation (LPO) - MDA. Administration of supramolecular complexes to hepatitis animals reduced the content of primary and secondary lipid peroxidation products. The MAGA/quercetin complex had the most effective antioxidant effect.

Ключевые слова: гепатит, парацетамол, перекисное окисление липидов, митохондрии, малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, полифенолы, моноаммониевая соль глицирризиновой кислоты, аминокислоты.

Keywords: hepatitis, paracetamol, lipid peroxidation, mitochondria, malondialdehyde, diene conjugates, polyphenols, monoammonium salt of glycyrrhizic acid, amino acids.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2024-1-407-410>

Гепатиты представляют одну из наиболее серьезных и актуальных проблем современного здравоохранения. Известно, что при гепатитах различной этиологии чрезвычайно высок риск развития циррозов печени и первичного рака печени. К 2020 году число больных различными видами гепатитов возросло до 450 млн. человек. Ежегодно в мире от гепатитов умирает около 1 млн. человек. В последние годы в некоторых странах Средиземноморья и Азии отмечено преобладание вялотекущих форм гепатита, при котором наблюдается изменение иммунной системы, вызывающее активацию провоспалительных цитокинов и деструктивных процессов в гепатоцитах. В большинстве случаев поражения печени, в том числе при инфекции гепатотропными вирусами, в основе гибели клетки лежит апоптоз [1]. Известно, что одной из ключевых органелл в запуске, реализации и регуляции апоптоза, является митохондрия, что делает её значимой мишенью в исследованиях, посвященных гепатитам. Доказано, что гепатиты сопровождаются разнообразными метаболическими изменениями и симптоматикой. Для лечения гепатитов используют гепатозащитные средства, препятствующие развитию метаболических, функциональных

и структурных нарушений в клетках печени. Эффективность многочисленных гепатопротекторных средств, несмотря на их положительное воздействие на основные синдромы гепатита, все же остается не высокой. Причем, большинство применяемых в клинической практике гепатопротекторов являются дорогостоящими, т.к. выпускаются за рубежом, они малодоступны для широких слоев населения.

В связи с этим необходимость поиска новых, эффективных отечественных средств гепатопротекторного действия для лечения заболеваний печени является актуальной проблемой.

В настоящее время успехи в разработке новых лекарственных средств связаны не только с синтезом новых химических соединений, но и, в значительной степени, с улучшением свойств существующих препаратов, в том числе, путем создания новых лекарственных форм с направленной доставкой к органу-мишени [2,3]. Одним из перспективных подходов в разработке подобных лекарственных форм является связывание действующего вещества в молекулярный комплекс с растительными углеводсодержащими метаболитами, который обеспечивает защиту базового препарата от быстрого метаболизма в организме и улучшает его транспорт через биологические мембраны. Кроме этого, комплексобразование позволяет пролонгировать эффект действующего вещества за счет повышения аффинности к рецептору органа-мишени. К настоящему времени наиболее изученным в качестве комплексирующего растительного углеводсодержащего метаболита является глицирризиновая кислота, получаемая из корня солодки. В последние годы в клинической практике применяются различные медицинские препараты, содержащие производные глицирризиновой кислоты, получаемые из корня солодки, обладающие разнообразной биологической активностью в сочетании с низкой токсичностью. Они применяются в медицинской практике в качестве лекарственных препаратов широкого спектра действия. Используются комплексы и в качестве гепатопротекторов при лечении патологий печени различной этиологии [2,3].

Целью исследования является изучение супрамолекулярных комплексов, созданных на основе моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (МАСГК) с различными соединениями на процесс липопероксидации при экспериментальном токсическом гепатите, вызванном парацетамолом.

В работе были использованы белые беспородные крысы массой тела 160-180 г. обоего пола. Лекарственное поражение печени воспроизводили введением парацетамола в желудок в дозе 500 мг/кг в течение 2 дней. Все животные были разделены на 11 групп. Первая группа контрольная; вторая группа – модельные животные, получавшие парацетамол. Третья группа – крысы, которым вводили 2,5 мг/кг комплекса МАСГК/DL-карнитин·HCl, условно обозначенное как соединение №1, четвертая – животные, получившие этот же комплекс в дозе 5,0 мг/кг (№2). В пятую группу вошли крысы, которым вводили комплекс МАСГК/Метион в дозе 2,5 мг/кг, обозначенное как соединение №3, а в шестую – животные, получившие этот же комплекс в дозе 5,0 мг/кг (№4). Седьмую группу составили животные, которым вводили 2,5 мг/кг комплекса МАСГК/Метоксикоричная кислота – соединение №5; восьмую – крысы, которым вводили 5,0 мг/кг комплекса (№6). В девятую и десятую группу вошли крысы, получавшие соответственно 2,5 и 5,0 мг/кг веса тела животного комплекс МАСГК/Кверцетин (соединения №7 и №8). Одинадцатой группе животных вводили препарат сравнения СТД (соединение №9). В качестве препарата сравнения с высокими гепатопротекторными свойствами использовали инъекционное лекарственное средство Стронгер Нео-Минофаген С (Япония) (СТГ), имеющий в составе глицирризиновую кислоту и аминокислоты Глицин и L-Цистеин.

Супрамолекулярные комплексы и препарат сравнения вводили гепатитным животным в течение 7 дней. Супрамолекулярные комплексы были выделены и синтезированы в институте Биоорганической химии АН РУз. Митохондрии из печени опытных и контрольных крыс выделяли общепринятым методом дифференциального центрифугирования. В гомогенате печени животных всех групп определяли содержание первичных продуктов перекисного окисления липидов – диеновые конъюгаты (ДК) и сопряженные триены (СТ).

Для определения содержания малонового диальдегида (МДА) – вторичного продукта ПОЛ в митохондриях печени осадок, содержащий митохондрии отмывали от сахарозы в среде, содержащей в мМ: 125 – KCl; 10 – трис-HCl, pH -7,5. Количество образовавшегося МДА определяли, пользуясь значением коэффициента молярной экстинкции, равным 1,56. Концентрацию МДА выражали в нмоль МДА на мг белка. Белок в пробах определяли по биуретовой реакции.

В механизме развития токсических поражений печени ведущее место принадлежит усилению процессов перекисного окисления липидов, вследствие которого происходит повреждение мембранных структур гепатоцита, изменение активности и синтеза мембраносвязанных ферментов, а также целого ряда внутриклеточных процессов, что может привести в конечном итоге к развитию цитолиза, который при тяжелых формах заканчивается декомпенсацией жизненно важных функций печени.

Первым этапом наших исследований явилось изучение первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК) и сопряженных триенов (СТ) в гомогенате печени при токсическом гепатите, вызванном введением парацетамола и лечении различными супрамолекулярными комплексами. Данные представлены в таблице 1.

Из представленных результатов установлено, что введение парацетамола привело к снижению выживаемости животных до 25%, вызывая токсический гепатит, характеризующийся увеличением в гомогенате печени в более чем два раза первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов и сопряженных триенов. Введение гепатитным животным препарата сравнения – СТД значительно снижало содержание первичных показателей ПОЛ. Все исследованные комплексы проявляли антиоксидантный эффект, выраженный в различной степени. Однако только 4 комплекс снижал уровень ДК и СТ почти до контрольных значений.

Таблица 1

*Изменение содержания ДК и СТ печени крыс с токсическим гепатитом
и введением различных комплексов (n=6; M±m)*

№	Группы животных	Первичные продукты ПОЛ(в ед.ИО)			
		ДК	%изменения	СТ	%изменения
1	Контроль	1,22±0,091	100	0,28±0,04	100
2	Токсический гепатит (ТГ)	2,38±0,11	195,1	0,57±0,01	203,5
3	СТД	1,87±0,11	153,3	0,40±0,02	142,8
4	ТГ+ №1	1,97±0,02	161,5	0,45±0,07	160,7
5	ТГ+ №2	1,93±0,01	158,1	0,51±0,03	182,1
6	ТГ+ №3	1,85±0,07	151,6	0,49±0,01	175
7	ТГ+ №4	1,79±0,01	146,7	0,42±0,02	150
8	ТГ+ №5	1,69±0,01	138,5	0,43±0,01	153,6
9	ТГ+ №6	1,65±0,015	135,2	0,42±0,0117	150
10	ТГ+ №7	1,25±0,011	100	0,31±0,016	110,7
11	ТГ+ №8	1,23±0,017	100,8	0,30±0,011	107,1

Аналогичные результаты были получены и при определении содержания вторичных продуктов ПОЛ – малонового альдегида (МДА) в митохондриях печени интактных и гепатитных крыс. Токсический гепатит вызывал в митохондриях гепатоцитов увеличение скорости образования неферментативного-аскорбатзависимого МДА до 225%, ферментативного NADH- зависимого - до 244 % (таблица 2).

Таблица 2

*Изменение содержания МДА в митохондриях печени крыс
с токсическим гепатитом и введением различных комплексов (n=6; M±m)*

№	Группы животных	Малоновый альдегид, МДА нмоль/мг белка			
		Аскорбат зависимый	%	NADH-зависимый	%
1	Контроль	0,340±0,017	100	0,365±0,015	100
2	Токсический гепатит (ТГ)	0,765±0,013	225	0,891±0,011	244
3	СТД	0,526±0,57	155	0,578±0,023	158
4	ТГ+ №1	0,657±0,012	193	0,625±0,017	183
5	ТГ+ №2	0,603±0,015	177	0,589±0,011	161
6	ТГ+ №3	0,645±0,013	189	0,629±0,013	172
7	ТГ+ №4	0,620±0,014	182	0,608±0,012	167
8	ТГ+ №5	0,665±0,012	195	0,6340±0,012	173
9	ТГ+ №6	0,655±0,015	192	0,623±0,017	171
10	ТГ+ №7	0,505±0,011	149	0,529±0,016	144
11	ТГ+ №8	0,494±0,017	145	0,485±0,011	133

Введение гепатитным животным СТД вызывало достоверное снижение обеих форм МДА на 70 и 86% соответственно. Из таблицы 2 видно, что все исследуемые супрамолекулярные комплексы при 7-и дневном введении, в разной степени, ингибировали процесс липопероксидации в митохондриях печени. В основном эффект изученных комплексов вполне сопоставим с действием препарата сравнения СТД. Однако, и в этой серии исследований было обнаружено, что среди изученных соединений комплекс 4 значительно превосходил антиоксидантный эффект СТД и других супрамолекулярных комплексов. Так, введение этого комплекса в дозе 5 мг/кг опытным крысам снижает процесс ферментативного и неферментативного ПОЛ на 80 и 111% соответственно. Остальные комплексы также снижают процесс липопероксидации, но эффект последних намного меньше эффекта препарата сравнения и комплекса 4 в обеих исследованных дозах.

Таким образом, нами установлено, что токсический парацетамоловый гепатит вызывает увеличение процесса липопероксидации, которое снижалось при введении гепатитным животным различных супрамолекулярных комплексов. Очевидно, механизм возрастания интенсивности ПОЛ при токсическом поражении печени, заключается не только в повреждении мембран митохондрий, но при этой патологии видимо страдают и процессы, протекающие в цитоплазме клеток печени.

Наши данные согласуются с результатами исследований других авторов, обнаруживших аналогичное повышение уровня ПОЛ при исследовании гомогената, мембран митохондрий и эндоплазматического ретикулума клеток печени при различных ее поражениях [4]. В патогенезе гепатитов, как токсического, так и острого, большая роль отводится ускорению процессов липопероксидации, причем, по мнению многих авторов, концентрация продуктов ПОЛ, а также интенсивность индуцированного ПОЛ в сыворотке крови при гепатитах повышены в соответствии с выраженностью цитолитического синдрома и степени тяжести заболевания. Большинство исследователей, занимающихся изучением процессов ПОЛ в развитии патологических процессов в печени, считают, что ключевая роль принадлежит интенсификации процессов перекисного окисления липидов. Усиление ПОЛ в мембранах гепатоцитов, или его полное ингибирование связаны, по их мнению, с нарушением равновесия про- и антиоксидантных систем [5]. Очевидно, в обоих случаях происходит отклонение от нормального функционирования этих систем, что одинаково опасно для клеток.

Кроме того, в различных биологических мембранах, в том числе и митохондриальных, вследствие интенсификации ПОЛ индуцируется проницаемость для различных ионов, неэлектролитов и макромолекул. Этот эффект потери мембранами барьерных функций лежит в основе развития токсических форм гепатита. В результате увеличения липопероксидации происходят изменения свойств таких мембранносвязанных ферментов, как Ca^{2+} -АТФаза, Na^+/K^+ -АТФаза, цитохромы Р-450, цитохром с, глюкоза-6-фосфатаза, моноаминоксидаза, фосфолипаза и др. Инактивация Ca^{2+} -АТФазы приводит к замедлению «откачивания» ионов Ca^{2+} из клетки и одновременно к ускорению входа кальция в клетку. Это сопровождается увеличением внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} и повреждением клетки [5].

Для предотвращения подобной ситуации широко используются различные антиоксиданты. Поскольку процесс перекисного окисления развивается в виде цепных реакций в липидной фазе мембран и липопротеинов, а начальные (возможно и промежуточные) стадии этой сложной системы реакций протекают в водной фазе, то поиск водорастворимых антиоксидантов является весьма актуальным.

Таковыми соединениями могут быть флавоноиды и полифенолы растительного происхождения. Данные литературы об антиоксидантной активности веществ полифенольной природы указывают на перспективность поиска на их основе новых препаратов – антиоксидантов. Практически все фенольные соединения обладают антиоксидантной активностью. В частности, при их взаимодействии с окислительными радикалами образуются семихиноидные радикалы и ион-радикалы. В присутствии последних интенсивность пероксидации снижается. При этом активность полифенольных соединений зависит от количества гидроксильных групп в молекуле.

В наших экспериментах наибольшей антиоксидантной активностью обладал 4-супрамолекулярный комплекс. Характерно, что общая картина нормализующего влияния этого и других изученных комплексов на состояние ПОЛ аналогична действию стандартного антиоксиданта – СТД, но по эффективности комплекс значительно превышает действие СТД, и может быть рекомендован для создания на его основе гепатопротекторного препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бугаев А.О., Грязин А.Е. Клинические аспекты изучения апоптоза при хронических вирусных гепатитах//Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2006. №2. С.4-10.
2. Толстикова Г.А., Болтина Л.А., Кондратенко Р.М. Солодка: биоразнообразие, химия и применение в медицине. Новосибирск: НПА Академическое изд-во «Гео», 2007. 305 с.
3. Liang B. L., Guo, J. Jin, Y. C. Ma, Z. Q. Feng. Glycyrrhizic acid inhibits apoptosis and fibrosis in carbon-tetrachloride-induced rat liver injury. World Journal of Gastroenterology. 2015. Vol. 21. P. 5271-5280.
4. Доркина Е.К. Изучение гепатопротекторного действия природных флавоноидных соединений//Экспериментальная и клиническая фармакология. 2004. Т.67. №6. С. 41-46.
5. Ивашкин В.Т. Болезни печени и желчевыводящих путей. М: ООО «Издательский дом м-Вести», 2002. 416.