

# ФАРМАКОЛОГИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-4-18-22

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ НАТИВНЫХ ТРИТЕРПЕНОИДОВ И ИХ НИКОТИНОАТОВ

Р. Ю. Хисамутдинова, Т. А. Сапожникова, О. Б. Казакова,  
Н. С. Макара, С. Ф. Габдрахманова<sup>1</sup>

На экспериментальной модели острого токсического гепатита, вызванного четыреххлористым углеродом у крыс, изученные тритерпеновые никотиноаты при ежедневном пероральном введении крысам (12 мг/кг, 10 дней) обладают желчегонной активностью, увеличивая количество выделяемой желчи в среднем на 70 % и скорость ее выделения в среднем на 57 %. Время биотрансформации печенью гексенала изученные соединения сокращали на 17 % ( $p < 0,05$ ). Наибольшую гепатопротекторную активность проявляли диникотиноат бетулина и его гидрохлорид и гидробромид, при их введении уровень маркерных ферментов трансаминаз в сыворотке крови крыс с токсическим гепатитом в среднем снижался на 34 % ( $p < 0,05$ ).

**Ключевые слова:** тритерпеноиды; гепатопротекторная активность; желчегонная активность; четыреххлористый углерод; гепатит; гексеналовый сон; крысы.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время остается актуальным поиск гепатопротекторных лекарственных средств (ЛС), повышающих резистентность печени к действию химических веществ и нормализующих ее метаболизм в условиях напряжения детоксицирующей функции [2]. Безопасность, хорошая переносимость и возможность длительного приема нередко являются решающими факторами в пользу выбора ЛС при заболеваниях гепатобилиарной системы [3].

Ранее было показано, что однократное профилактическое введение бетулоновой кислоты и ее альфа-аланинамидных производных при различных видах повреждения гепатоцитов оказывает выраженное мембранопротективное действие на плазматические, лизосомальные и микросомальные мембраны гепатоцитов [11]. Диникотиноат бетулина обладает гепатопротекторной и холеретической активностью, регулирует состояние никотинамидных коферментов, процессы белкового синтеза, специфические и неспецифические механизмы клеточной защиты, способствует сохранению энергетического баланса клетки [7]. Никотиноат глицирризиновой кислоты (ниглизин) имеет широкий спектр фармакологической активности [1].

В связи с этим, цель данной работы — на экспериментальной модели токсического гепатита (CCl<sub>4</sub>) у крыс провести сравнительное изучение гепатопротекторных и желчегонных свойств некоторых нативных

тритерпеноидов и их никотиноатов, а именно олеаноловой кислоты, никотиноата олеаноловой кислоты, диникотиноата мессагенина, а также диникотиноата бетулина в виде гидрохлорида и гидробромид, и выявить среди них фармакологические вещества (ФВ), обладающие наибольшей активностью.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

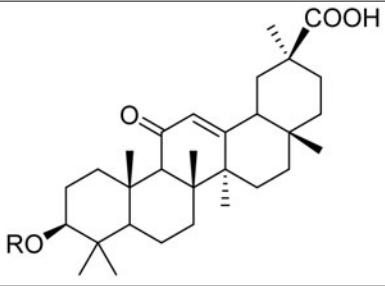
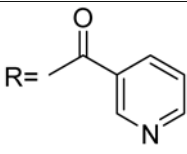
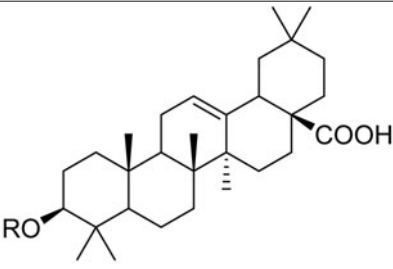
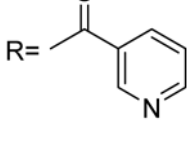
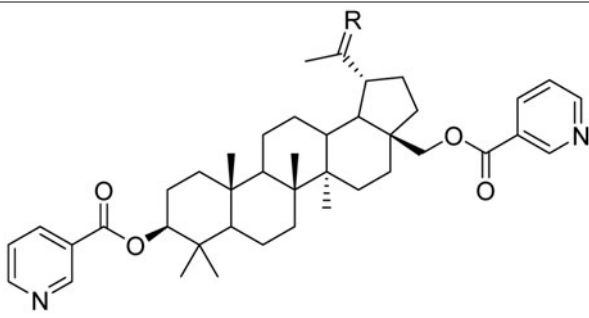
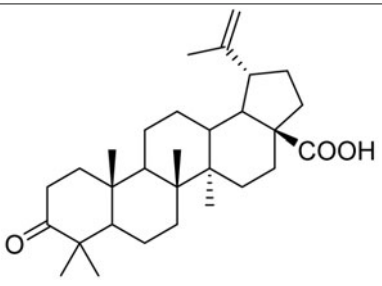
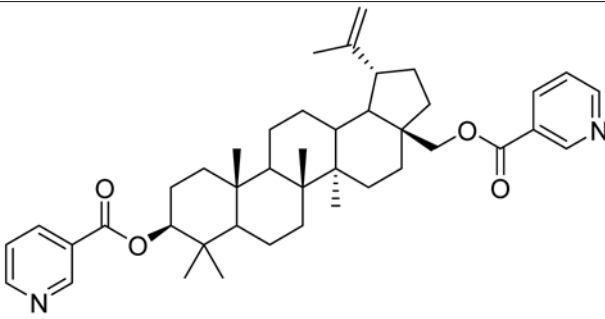
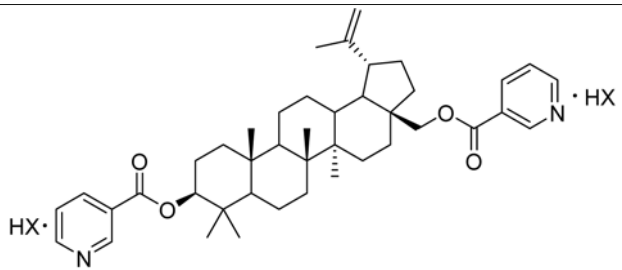
Эксперименты проводили на 104 половозрелых самцах крыс линии Вистар, массой 180 – 200 г (ФГУП “Питомник лабораторных животных “Рапполово” РФ). Животных содержали в условиях вивария, с естественным световым режимом на стандартном корме. Этические принципы обращения с лабораторными животными соблюдали согласно “European Convencion for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No. 123”.

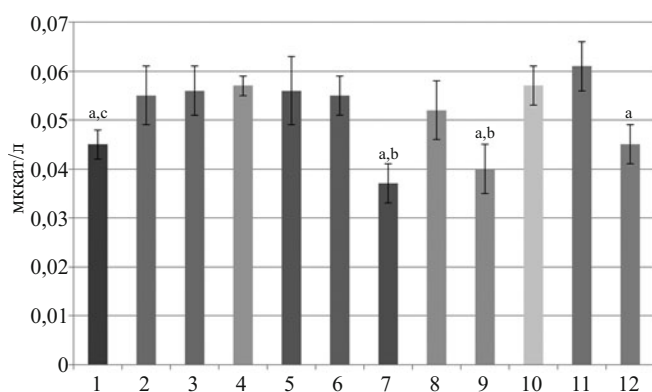
Изучаемые ФВ 1 – 9 были получены в Институте химии УФИЦ РАН, согласно описанным ранее методам [5, 6] (табл. 1). В работе использовали образцы соединений с чистотой не менее 95 % после хроматической очистки и кристаллизации.

Животные предварительно были распределены на 12 групп по 8 особей в каждой. В группах 1 – 9 исследуемые соединения вводили перорально в дозе 12 мг/кг в течение 10 дней, начиная с первого дня введения четыреххлористого углерода [9]. Группа сравнения 10 по той же схеме и в той же дозе получала ЛС растительного происхождения — карсил (Софарма АО, Болгария). Группы животных с острым токсическим гепатитом, которые не подвергались воздействию исследуемых ФВ (11), и интактные (12) получали

<sup>1</sup> Уфимский институт химии Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Россия, 450054, Уфа, проспект Октября, 71. e-mail: newpharm@anrb.ru

Таблица 1. Химическая структура соединений 1-9

Соединение	R	Химическое название
	R = H	Глицирретовая кислота (1)
		Никотиноат глицирретовой кислоты (2)
	R = H	Олеаноловая кислота (3)
		Никотиноат олеаноловой кислоты (4)
	R = O	Диникотиноат мессагенина (5)
	Бетулоновая кислота (6)	
	Диникотиноат бетулина (7)	
	X = Br	Диникотиноат бетулина дигидрохлорид (8)
	X = Cl	Диникотиноат бетулина дигидробромид (9)



**Рис. 1.** Влияние соединений 1-9 (12 мг/кг, 10 дней) на уровень АЛТ в сыворотке крови крыс с экспериментальным гепатитом ( $M \pm m$ ;  $n = 8$ ):

Группы животных: 1 – глицирретовая кислота; 2 – никотиноат глицирретовой кислоты; 3 – олеаноловая кислота; 4 – никотиноат олеаноловой кислоты; 5 – диникотиноат мессагенина; 6 – бетулоновая кислота; 7 – диникотиноат бетулина; 8 – диникотиноат бетулина дигидрохлорид; 9 – диникотиноат бетулина дигидробромид; 10 – карсил; 11 – контроль – гепатит; 12 – интактные.

<sup>a</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с 11;

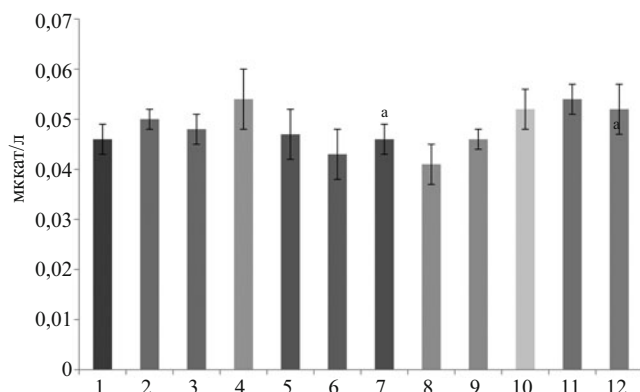
<sup>b</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с 10;

<sup>c</sup>  $p < 0,01$  по сравнению с 12;

$n$  — количество животных в группе.

эквивалентное количество дистиллированной воды и служили контролем.

Острый токсический гепатит вызывали путем внутривенного введения 50 % масляного раствора четыреххлористого углерода в дозе 0,4 мл/кг в течение 3 дней. Гепатопротекторную активность исследуемых соединений оценивали по восстановлению уровня маркерных ферментов аланинаминотрансферазы



**Рис. 2.** Влияние соединений 1-9 (12 мг/кг, 10 дней) на уровень АСТ в сыворотке крови крыс с экспериментальным гепатитом ( $M \pm m$ ;  $n = 8$ ):

Группы животных: 1 – глицирретовая кислота; 2 – никотиноат глицирретовой кислоты; 3 – олеаноловая кислота; 4 – никотиноат олеаноловой кислоты; 5 – диникотиноат мессагенина; 6 – бетулоновая кислота; 7 – диникотиноат бетулина; 8 – диникотиноат бетулина дигидрохлорид; 9 – диникотиноат бетулина дигидробромид; 10 – карсил; 11 – контроль – гепатит; 12 – интактные.

<sup>a</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с 11;

$n$  — количество животных в группе.

(АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), которые определяли в сыворотке крови с помощью реактивов фирмы “Lachema” (Чехия).

Влияние соединений на желчеобразовательную функцию печени оценивали по скорости секреции желчи (мг/мин на 100 г массы тела) и общему количеству желчи, выделившейся за 3 часа (мг на 100 г массы тела), собранной при помощи канюли, вставляемой в двенадцатиперстную кишку [9, 10].

**Таблица 2.** Влияние соединений 1-9 (12 мг/кг, 10 дней) на продолжительность гексеналового сна и желчевыделительную функцию гепатоцитов крыс с экспериментальным гепатитом ( $M \pm m$ ;  $n = 8$ )

№ группы	Группа	Скорость секреции желчи, мг/мин на 100 г массы			Общее количество желчи, мг на 100 г
		1-й час	2-й час	3-й час	
1	CCl <sub>4</sub> + Глицирретовая кислота	4,3 ± 0,4	2,1 ± 0,23	2,5 ± 0,15	505,2 ± 46,3
2	CCl <sub>4</sub> + Никотиноат глицирретовой кислоты	4,8 ± 0,24	3,7 ± 0,2	2,4 ± 0,14	523,6 ± 27,6
3	CCl <sub>4</sub> + Олеаноловая кислота	4,4 ± 0,33	3,6 ± 0,2	2,7 ± 0,30	641 ± 98,5
4	CCl <sub>4</sub> + Никотиноат олеаноловой кислоты	7,2 ± 0,64 <sup>a</sup>	6,7 ± 0,31	6,8 ± 0,33	1241,2 ± 43,8 <sup>a,b,c</sup>
5	CCl <sub>4</sub> + Диникотиноат мессагенина	6,3 ± 0,41 <sup>a</sup>	6,1 ± 0,5	5,8 ± 0,43	1089,4 ± 31,4 <sup>a,b,c</sup>
6	Бетулоновая кислота	3,7 ± 0,5	2,3 ± 0,18	1,7 ± 0,19	464,43 ± 42,8
7	CCl <sub>4</sub> + Диникотиноат бетулина	7,5 ± 0,43 <sup>a</sup>	6,1 ± 0,42	3,9 ± 0,35	1000,0 ± 47,2 <sup>a</sup>
8	CCl <sub>4</sub> + Диникотиноат бетулина дигидрохлорид	7,4 ± 0,80 <sup>a</sup>	5,5 ± 0,95	5,1 ± 0,24	900,33 ± 28,8 <sup>a,c</sup>
9	CCl <sub>4</sub> + Диникотиноат бетулинадигидробромид	5,6 ± 0,59	4,3 ± 0,82	3,0 ± 0,14	898,2 ± 83,3 <sup>a</sup>
10	CCl <sub>4</sub> + Карсил	6,7 ± 0,83 <sup>a</sup>	5,9 ± 0,47	3,2 ± 0,53	957,1 ± 39,0 <sup>a,c</sup>
11	CCl <sub>4</sub> гепатит (нелеченные)	4,1 ± 0,4	4,9 ± 0,5	2,3 ± 0,2	603,43 ± 29,5
12	Интактные	4,6 ± 0,24	3,7 ± 0,2	3,1 ± 0,1	779,09 ± 25,6 <sup>a</sup>

**Примечание:**  $n$  — количество животных в группе;

статистически достоверное отличие:

<sup>a</sup>  $p < 0,05$  в сравнении с группой 11;

<sup>b</sup>  $p < 0,05$  в сравнении с группой 10;

<sup>c</sup>  $p < 0,01$  в сравнении с 12.

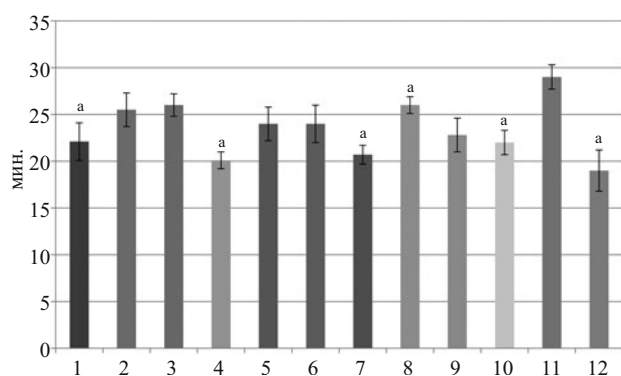


Рис. 3. Влияние соединений 1-9 (12 мг/кг, 10 дней) на продолжительность гексеналового сна у крыс с экспериментальным гепатитом ( $M \pm m$ ;  $n = 8$ ):

Группы животных: 1 – глицирретовая кислота; 2 – никотиноат глицирретовой кислоты; 3 – олеаноловая кислота; 4 – никотиноат олеаноловой кислоты; 5 – диникотиноат мессагенина; 6 – бетулоновая кислота; 7 – диникотиноат бетулина; 8 – диникотиноат бетулина дигидрохлорид; 9 – диникотиноат бетулина дигидробромид; 10 – карсил; 11 – контроль – гепатит; 12 – интактные.

<sup>a</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с 11;

$n$  — количество животных в группе.

На 4 сутки применения соединений у животных с токсическим гепатитом изучали их влияние на анти-токсическую функцию печени с применением гексеналовой нагрузки [4].

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ “Statistica 10”. Результаты представлены в виде среднего ( $M$ ) и ошибки среднего ( $m$ ). Для оценки достоверности межгрупповых различий применяли  $t$ -критерий Стьюдента, оказываемый эффект считали достоверным при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Введение в качестве гепатотоксина четыреххлористого углерода приводит к нарушению функциональной активности печени в результате цитолиза гепатоцитов, что проявляется повышением уровня маркерных трансаминаз в крови. Цитолитический синдром при острых поражениях печени сопровождается более выраженным повышением активности АЛТ, по сравнению с активностью АСТ [7].

При пероральном введении в дозе 12 мг/кг животным с экспериментальным гепатитом, глицирретовая кислота (1), диникотиноат бетулина (7) и его дигидробромид (9) снижали уровень АЛТ в среднем на 30 % ( $p < 0,05$ ), в сравнении с группой без фармакологических веществ (11). Следовательно, они оказывали защитное действие на печень животных. Карсил в этой же дозе снижал уровень АЛТ на 6,6 % и АСТ — на 4 %. Остальные изученные тритерпеноиды при пероральном введении животным с гепатитом значимо не влияли на уровень трансаминаз в крови (рис. 1, 2).

Длительность биотрансформации гексенала (продолжительность гексеналового сна) при экспериментальном гепатите (группа 11) увеличивалась примерно

в 1,5 раза, по сравнению с группой интактных животных (12) ( $29 \pm 1,3$  и  $19,0 \pm 2,2$  мин, соответственно). За окончание гексеналового сна принимали переход животного из бокового положения в обычное. У крыс, которые получали соединения 4 и 7, продолжительность сна сократилась в 1,4 раза, а в группах, получавших 9 и 10, — в 1,3 раза, по сравнению с группой животных, не получавших ФВ (11) (рис. 3).

Поражение гепатобилиарной системы, независимо от этиологических факторов, приводит к значительным изменениям секреции желчи, которые усугубляются за счет повреждения мелких желчных ходов [7]. Экспериментальный гепатит сопровождался выраженным нарушением желчевыделительной функции печени у крыс: скорость секреции и объем выделенной желчи у животных достоверно снижались на 40 % ( $p < 0,05$ ).

Никотиноат олеаноловой кислоты (4) в 2 раза увеличивал скорость секреции желчи и общий объем желчи, по сравнению с олеаноловой кислотой (3). Никотиноаты бетулина (7-9) проявляли значительную желчегонную активность, по сравнению с бетулоновой кислотой (6). Так, скорость секреции желчи в группах 7-9 была в среднем в 1,8 раза выше, а общий объем желчи в 2 раза выше, чем в группе животных, получавших бетулоновую кислоту.

Использование тритерпеноидов 4, 5, 7-9 способствовало восстановлению желчевыделительной функции у крыс с токсическим гепатитом, поскольку скорость секреции желчи увеличивалась уже в течение первого часа, по сравнению с животными, получавшими карсил (10) и крысами контрольных групп (11 и 12). Объем желчи после применения ФВ (группы 4, 5, 7-9) достоверно увеличивался на 105,6, 65,7, 49,2, 79,4 и 48,8 %, соответственно, по сравнению с контролем без ФВ (табл. 2).

Таким образом, заслуживает внимания расширение перечня никотиноатов тритерпеноидов для дальнейшего доклинического изучения.

## ВЫВОДЫ

1. На модели острого гепатита у крыс, вызванного четыреххлористым углеродом, изучены сравнительная гепатопротекторная и желчегонная активность 9 нативных тритерпеноидов.

2. Установлено, что желчегонной активностью обладают все соединения, кроме олеаноловой, глицирретовой и бетулоновой кислот. Тритерпеновые никотиноаты при ежедневном пероральном введении крысам (12 мг/кг, 10 дней) обладают желчегонной активностью, увеличивая количество выделяемой желчи в среднем на 70 % и скорость ее выделения в среднем на 57 %,  $p < 0,05$ .

3. Наибольшую гепатопротекторную активность проявляли диникотиноат бетулина и его гидрохлорид и гидробромид, при их введении уровень маркерных

трансаминаз в сыворотке крови крыс с токсическим гепатитом в среднем снижался на 34 %,  $p < 0,05$ .

Работа выполнена по темам госзаданий ААА-А20-120012090026-9 и АААА-А20-120012090029-0 с использованием оборудования ЦНП "Химия".

## ЛИТЕРАТУРА

1. Л. А. Балтина, *Автореф. дис. д-ра хим. наук*, Уфа (1995).
2. Е. Ю. Бибик, Н. В. Шипилова, Б. С. Кривколыско и др., *Морфологический альманах имени В. Г. Ковешникова*, **17**(4), 101 – 110 (2019).
3. О. Е. Гальченко, В. А. Морозова, А. Р. Бабаева, *Лекарственный вестник*, **9**(2), 7 – 17 (2015).
4. М. С. Джизхларян, *Фармакол. и токсикол.*, **3**, 13 – 14 (1976).
5. О. Б. Казакова, Н. И. Медведева, И. П. Байкова и др., *Биоорг. химия*, **36**(6), 841 – 848 (2010).
6. О. Б. Казакова, *Автореф. дис. д-ра хим. наук*, Уфа (2007).
7. Л. Т. Карачурина, Э. Ф. Аглетдинов, О. Б. Флехтер, Ф. С. Зарудий, *Вопр. биол., мед. и фарм. химии*, № 5, 37 – 40 (2009).
8. В. И. Малов, *Забайкальский медицинский вестник*, № 3, 107 – 119 (2018).
9. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, А. Н. Миронов, Н. Д. Бунатян (ред.), Гриф и К, Москва (2013).
10. Н. П. Скакун, Г. Т. Писько, И. П. Мосейчук, *Поражение печени четыреххлористым углеродом*, НИИТЭХим, Москва (1989).
11. Н. В. Шинкарева, *Автореф. дис. канд-та мед. наук*, Томск (2010).

Поступила 28.05.21

## COMPARATIVE HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF NATIVE TRITERPENOID AND THEIR NICOTINOATES

R. Yu. Khisamutdinova<sup>1,\*</sup>, T. A. Sapozhnikova<sup>1</sup>, O. B. Kazakova<sup>1</sup>, N. S. Makara<sup>1</sup>, and S. F. Gabdrakhmanova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ufa Institute of Chemistry, Ufa Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Bashkortostan, 450054 Russia

\* e-mail: newpharm@anrb.ru

An experimental model of the acute toxic hepatitis caused by carbon tetrachloride in rats was used to study the choleric activity of triterpene nicotinoates upon daily peroral administration to rats (12 mg/kg, 10 days). This treatment increased the amount of bile excreted on the average by 70% and the excretion rate on the average by 57%. Test compounds reduced the time of hexenal biotransformation in the liver by 17% ( $p < 0.05$ ). The maximum hepatoprotective activity was shown by betulindinicotinoate and its water-soluble forms of hydrochloride and hydrobromide. Upon their administration, the level of marker transaminase enzymes in the blood serum of rats with model toxic hepatitis decreased on the average by 34% ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** triterpenoids; hepatoprotective activity; choleric activity; carbon tetrachloride; hepatitis; hexenal sleep; rats.