

ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ  
РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ЛИПИДНЫЙ ЛЕЧЕБНО-  
ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ  
НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ФИРМА “ФИТОС”

А.А.Чиркин, Е.О.Данченко, Н.К.Луняк

**МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ  
ПРЕПАРАТАМИ СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ**

Москва  
1999 год

УДК 615.451.16:615.015

Чиркин А.А., Данченко Е.О., Луняк Н.К. МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ПРЕПАРАТАМИ СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ.– М.:”Фитос”, 1999, с.49, рис. 3, таблиц 12.

А.А.Чиркин - профессор, главный внештатный специалист МЗ Беларуси по клинической биохимии и метаболической терапии

Е.О.Данченко - канд. мед. наук, доцент кафедры биохимии Витебского государственного медицинского университета

Н.К.Луняк - доктор фармацевтических наук, научный руководитель проекта “Фитос” - ЗАЩИТИ СВОЮ ПЕЧЕНЬ

В монографии изложены теоретические основы метаболической терапии и вариант инфраструктуры для ее реализации; дано экспериментальное и клиническое обоснование применения препаратов из солянки холмовой; описаны основные препараты солянки холмовой, выпускаемые фирмой “Фитос” в рамках проекта “Защити свою печень”; приведены результаты коррекции препаратами солянки холмовой возрастных и алкоголь-индуцированных нарушений метаболизма у людей, а также новые варианты лечения дислипотеинемий, инсулинорезистентности, профилактики гриппа и др.

Монография предназначена для клинических фармакологов и фармацевтов, терапевтов, наркологов, цеховых врачей и врачей других специальностей, а также может представлять интерес для студентов и научных работников, занимающихся проблемой биологически активных добавок.

Рецензенты - Заслуженный деятель науки Республики Беларусь, доктор медицинских наук, профессор В.Г. Колб и главный врач РЛЛДЦМТ доктор медицинских наук Э.А. Доценко.

© А.А.Чиркин, Е.О.Данченко, Н.К.Луняк

Охраняется законом РФ об авторском праве. Воспроизведение всей книги или любой ее части воспрещается без письменного разрешения издателя. Любые попытки нарушения закона будут преследоваться в судебном порядке.

ПРЕДИСЛОВИЕ..... 4

ГЛАВА 1. ПОНЯТИЕ О МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ **ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ**

ГЛАВА 2. ИНФРАСТРУКТУРА ДЛЯ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОГРАММЫ  
МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ **ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ ОПРЕДЕЛЕНА.**

ГЛАВА 3. ПРЕПАРАТЫ ТОО “ФИТОС” НА ОСНОВЕ ТРАВЫ  
СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ ..... 5

ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ЭКСТРАКТА СОЛЯНКИ  
ХОЛМОВОЙ..... 7

ГЛАВА 5. МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭКСТРАКТА СОЛЯНКИ  
ХОЛМОВОЙ..... 13

ГЛАВА 6. СПЕЦИФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТА СОЛЯНКИ  
ХОЛМОВОЙ..... 19

ГЛАВА 7. ОБОСНОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ  
ПРЕПАРАТОВ СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ..... 23

1. *Применение традиционных препаратов* ..... 23

2. *Лечение абстинентного синдрома*..... 32

ГЛАВА 8. ФАРМАКОДИНАМИКА НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ  
ЭКСТРАКТА СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ..... 35

1. *Использование сиропа солянки холмовой* ..... 36

2. *Использование аскохола* ..... 38

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Предлагаемая читателю монография является первой попыткой обобщения результатов пятилетних исследований в рамках проекта “ФИТОС - ЗАЩИТИ СВОЮ ПЕЧЕНЬ”. Эти исследования осуществлялись совместно российскими и белорусскими учеными. Благодаря чисто человеческому и научному сотрудничеству, удалось получить сырье в забайкальских хозяйствах, произвести анализ химических и экспериментальных исследований в Иркутске (проф. А.А.Семенов и сотр.) и Томске (проф. А.И.Венгеровский, проф. А.С.Саратиков и сотр.), создать и наладить производство препаратов на основе солянки холмовой (доктор фарм. наук Н.К.Луняк, Москва), провести комплекс экспериментально-клинических исследований в Витебске (проф. А.А.Чиркин и сотр.).

В монографии приведены оригинальные представления о метаболической терапии и описан белорусский опыт создания инфраструктуры для ее реализации. Это особенно важно в связи с определенными недостатками в системе пропаганды и научно-обоснованного контролируемого применения различных биологически активных добавок.

Большое внимание уделено данным о специфической активности и токсичности экстракта солянки холмовой, полученным сибирскими учеными. Их исследования подтверждены исследованиями белорусских коллег на культурах различных клеток. Общий вывод - это отсутствие токсичности препаратов солянки холмовой в достаточно широком диапазоне доз, существенно превышающих рекомендуемые терапевтические дозы.

В монографии представлены новые данные о химическом составе природного комплекса из травы солянки холмовой и на его основе прогнозированы наиболее вероятные области применения биологически активных добавок из солянки холмовой. Монография завершается примерами лечебного применения препаратов солянки холмовой с целью коррекции возрастных особенностей метаболизма, а также нарушений обмена веществ при некоторых распространенных патологических процессах.

Глава 1 написана А.А.Чиркиным, глава 2 - Э.А.Доценко и В.В.Батовым, глава 3 - Н.К.Луняк, главы 4 и 5 - Е.О.Данченко, глава 6 - А.А.Чиркиным, Е.О.Данченко, Н.К.Луняк, А.А.Семеновым, главы 7-8 - А.А.Чиркиным, Е.О.Данченко.

Все отзывы и замечания, а также предложения к сотрудничеству будут приняты с благодарностью.

Генеральный директор ТОО “Фитос”

Ю.С.Луняк

### Глава 3. ПРЕПАРАТЫ ТОО “ФИТОС” НА ОСНОВЕ ТРАВЫ СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ

Экология уже оставила свой след на нашем здоровье и здоровье наших детей. Гипокинезия (ограничение двигательной активности) приносит свою долю осложнений. Постоянное оздоровительное питание с использованием натуральных растительных добавок стало, к сожалению, необходимо человеку вне зависимости от возраста. Социальный спрос на защитные средства от интоксикаций, включая, алкогольную, химическую, вирусную и лекарственную, резко возрос. Особое место занимают гепатопротекторы - средства защиты печени. Известно, что большинство гепатопротекторных средств являются продуктами растительного происхождения. В народной медицине Сибири издавна применяется с целью лечения заболеваний печени уникальная трава - солянка холмовая. В 1994 году на Всемирной выставке в Брюсселе препарат из травы солянки холмовой был отмечен серебряной медалью, в 1996 году в рамках международного Falk-симпозиума был проведен отдельный семинар, посвященный химии и фармакодинамике препаратов солянки холмовой.

ТОО “Фитос” разработало и выпускает несколько биологически активных добавок из солянки холмовой. Вся продукция изготавливается из сырья, выращенного в экологически чистых районах Забайкалья по лицензированному способу. Все биологически активные добавки на основе солянки холмовой, выпускаемые ТОО “Фитос”, рекомендованы Институтом питания РАМН и сертифицированы Федеральным центром гигиенической сертификации при МЗ России.

“Чай солянка холмовая” - высушенная, измельченная трава солянки холмовой в пакетиках по 50 г. Используется как чай с целью профилактики нарушений и нормализации функции печени, а также при гиперхолестеринемии. Курс применения - не менее 30 дней.

“Экстракол”- сухой гранулированный напиток (20 пакетиков по 2 г) с содержанием сухого экстракта травы солянки холмовой не менее 50 мг в каждой пакетике (рекомендуемая разовая доза). Эффективен для снятия интоксикации организма. Используется как дополнительное средство в диетотерапии сахарного диабета. Нормализует уровень сахара в крови. Активно участвует в стабилизации гепатобилиарной системы, нормализуя уровень холестерина и липопротеинов. Курс применения от 2 до 6 недель по 2-6 пакетиков в день с водой, чаем, кофе.

“Экстракт травы солянки холмовой” - флаконы по 100 мл с контролем вскрытия. Содержит  $3 \pm 0,1\%$  сухого экстракта травы в 10% этаноле. Применяется при алкогольной болезни. Быстро снимает абстинентный синдром, уменьшает тягу к спиртному, субъективно и объективно улучшает состояние больного. Курс применения в зависимости от тяжести алко-

гольной интоксикации от нескольких часов до нескольких суток по схеме. Гомеопатическая доза этанола в препарате - менее 2 мл на один прием, не вызывает похмельного состояния, но способствует целенаправленной доставке биологически активных веществ к печени и другим органам. Возможно улучшает деятельность ЦНС.

С профилактической целью для защиты печени достаточно применять жидкий экстракт по 1 чайной ложке в день в течение 3-х недель, повторяя курс 4 раза в год.

“Сухой экстракт травы солянки холмовой” - сухой лиофилизированный порошок, хорошо растворим в воде и в водно-спиртовых жидкостях. Выпускается, как биологически активная субстанция (ангро по 10, 400, 500 и 1000 г) для создания пищевой, фармацевтической, косметической и кондитерской продукции.

В 1999 году проходят испытания 2 новых препарата. 3% сироп с экстрактом солянки холмовой. Эта биологически активная добавка используется по 1 чайной ложке 3 раза в день с напитками. Способствует реабилитации людей, подвергавшихся нервно-психическому напряжению. “Аскохол” - экстракт солянки холмовой с добавлением аскорбиновой кислоты (разовая доза препарата - 1 чайная ложка содержит 50 мг экстракта солянки холмовой и 100 мг витамина С). Препятствует заболеванию гриппом во время эпидемических вспышек, а также может быть эффективным средством коррекции метаболизма у больных атеросклерозом, заболеваниями печени и синдромах, связанных с инсулинорезистентностью.

Ни один из препаратов на основе солянки холмовой не оказывает токсических эффектов, не вызывает привыкания, отсутствует синдром отмены. Противопоказания для приема препаратов солянки холмовой не выявлены. В редких случаях возможна индивидуальная непереносимость растительных препаратов.

Кроме гепатопротекторных препаратов на основе солянки холмовой “Фитос” выпускает лечебно-косметический лосьон “Фитос-М”. Он обладает антисептическим действием. Наличие в лосьоне широкого набора аминокислот и полиненасыщенных жирных кислот придает ему свойство стимуляции регенерации кожи. Рекомендуются как средство гигиены и ухода за кожей лица и тела, эффективен при солнечных и бытовых ожогах, укусах насекомых, при потливости ног.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Луняк Н.К., Луняк Ю.С., Тихонова И.В. Способ получения экстракта травы солянки холмовой. Патент РФ № 21188167 от 27.08.98
2. Тутельян В.А. Стратегия разработки, применения и оценки эффективности биологически активных добавок к пище //Вопросы питания. - 1996. - № 6. - С. 3-10

## Глава 4. ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ЭКСТРАКТА СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ

При холестатических заболеваниях печени желчные кислоты могут инициировать или усугублять гепатоцеллюлярные повреждения. Это может быть связано с детергентным действием желчных кислот, изменением жидкостности мембран, пероксидацией липидов и апоптозом [1,2,3]. В то же время для метаболической терапии используются препараты желчных кислот. Представляет существенный интерес сопоставить препараты эндогенных желчных кислот гепатотропного действия с влиянием экстракта солянки холмовой на клеточном уровне.

Целью этого этапа работы была оценка цитотоксического эффекта экстракта солянки холмовой (ЭСХ) в сравнении с классическим апоптозогенным препаратом гликохенодезоксихолевой кислотой (ГХДХК), а также антиапоптозогенными препаратами урсодезоксихолевая кислота (УДХК) и тауроурсодезоксихолевой кислотой (ТУДХК).

Эксперименты были поставлены на культуре клеток с редуцированным эндоплазматическим ретикулумом (снижен метаболизм изучаемой субстанции) линии L929 и гепатоцитах крыс. Клетки L929 культивировали в среде 199 с добавлением 10% бычьей сыворотки и 50 мкг/мл смеси пенициллин + стрептомицин. Клетки инкубировали при 37°C в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>.

Для определения цитотоксичности использовали метод подсчета числа клеток в монослое после окраски crystal violet. Клетки были ресуспендированы в среде 199 с 5% бычьего альбумина и пассированы в 24-луночные планшеты с плотностью  $0,1 \times 10^6$  клеток/мл и инкубированы при 37°C. Через 2 часа после пассажа среда заменялась и к клеткам добавлялись препараты в концентрациях 50, 100, 200, 400 и 1000 мкг/мл. Продолжительность культивирования клеток составляла 1-4 дня. После инкубации клетки промывали холодной средой Эрла и затем окрашивали в течение 10 мин 0,3 мл 0,2% раствора crystal violet в 2% этаноле с последующим определением оптической плотности. Результаты выражали в процентах от числа клеток в контроле.

Оценку метаболизма ДНК и белков осуществляли путем определения интенсивности включения 2,5 мкКи/мл [<sup>3</sup>H]тимидина или 40 мкКи/мл [<sup>14</sup>C]аминокислотной смеси в присутствии препаратов. Клетки инкубировали 12 часов при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> для определения биосинтеза ДНК и 6 ч для оценки биосинтеза белков. После инкубации клетки гидролизировали 0,3 М КОН в течение ночи при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Определяли радиоактивность (имп/1000 клеток) и количество клеток.

Для получения гепатоцитов использовали белых крыс породы Wistar (200-250 г). Гепатоциты изолировали с помощью коллагеназы. В эксперимент брали изолированные гепатоциты с жизнеспособностью > 85% (по окраске с трипановым синим). Суспензию клеток разводили в среде William's E с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки, 26 мМ NaHCO<sub>3</sub> и 50 мкг/мл гентамицина до плотности  $0,5 \times 10^6$  клеток/мл; 0,6 мл клеточной суспензии помещали в покрытые коллагеном 12-луночные пластиковые планшеты и инкубировали при 37°C в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>. Через 2 часа заменяли инкубационную среду и добавляли препараты.

Для оценки биосинтеза ДНК в среду добавляли 1мкКи/лунка [<sup>3</sup>H]тимидина и препараты. Спустя 12 часов инкубации клетки были промыты смесью ТХУ/метанол и солюбилизированы 0,3 М КОН в течение 30 мин при 37°C. К супернатанту добавляли 40% раствор ТХУ и центрифугировали. Осадок прогревали в 5% растворе ТХУ 15 мин при 90°C. После центрифугирования 250 мкл супернатанта переносили в сцинтилляционную жидкость "Rotiszint eco plus" и подсчитывали радиоактивность.

Для оценки некротического действия препаратов изолированные гепатоциты инкубировали в покрытых коллагеном 12-луночных планшетах (плотность  $0,6 \times 10^6$  клеток/мл) в присутствии препаратов в течение 4 ч. После инкубации в надосадочной жидкости определяли активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) с помощью наборов фирмы "Sigma diagnostics". Активность общей ЛДГ оценивали после обработки монослоя гепатоцитов 0,1% раствором Triton X-100.

Использовали концентрации препаратов в диапазоне 25-400 мкг/мл в течение 4 ч. Протективный эффект препаратов оценивали при совместной инкубации с ГХДХК (100 мкг/мл).

Апоптоз изучали в изолированных гепатоцитах (1,5 мл суспензии) в покрытых коллагеном 35 мм пластиковых чашках с плотностью  $0,3 \times 10^6$  клеток/мл при инкубации с ГХДХК (50 мкг/мл) или ТУДХК, УДХК и ЭСХ (50 и 200 мкг/мл) или при комбинации препаратов с ГХДХК (100 мкг/мл). Через 4 часа инкубации клетки были промыты холодным фосфатным буфером и лизировались смесью 100 мМ/л Tris-HCl (pH 8.0), 200 мМ/л NaCl, 5 мМ/л EDTA и 0,2% додецилсульфата натрия. Протеинкиназа К (20 мг/мл) была добавлена к смеси, которая инкубировалась в течение ночи при 56°C. ДНК экстрагировали дважды смесью фенол/хлороформ/изоамиловый спирт (25:24:1). Супернатант аспирировали, осадок промывали 70% этанолом, высушивали, суспензировали в 10 мМ Tris-HCl и обрабатывали 10 мг/мл рибонуклеазы А в течение 30 мин при 37°C. Электрофорез ДНК (5 мкг) осуществляли в 1,5% агарозном геле, окрашенном SYBR Green II, при 35 V в течение 4 ч. Наличие апоптоза оценивали по межнуклеосомной фрагментации ДНК.



Препарат ЭСХ не изменял числа клеток L929 в монослое на 1 и 2 сутки инкубации. На 3-и сутки обнаружен незначительный стимулирующий эффект (10-20%) по отношению к контролю при всех применяемых дозах препарата. (рис.1). Незначительное замедление роста клеток (5-20%) наблюдалось только на 4-е сутки из-за более быстрого наступления стадии ингибирования роста в присутствии препарата (стадия контактного торможения).

Препарат ЭСХ не оказал достоверного влияния на биосинтез ДНК в культуре клеток L929 (рис. 2).

Препарат ЭСХ стимулировал включение аминокислот меченного гидролизата белка во вновь синтезируемые белки клеток L929 (рис. 3). Наиболее выраженный эффект препарата наблюдался на 1-е сутки: усиление синтеза белка на 20-50%. Данный эффект препарата в дозах 50-200 мкг/мл сохранялся в течение всего срока инкубации. При высоких дозах 400 и 1000 мкг/мл на 2-4 сутки выявлено незначительное ингибирование синтеза белка (10-40%).

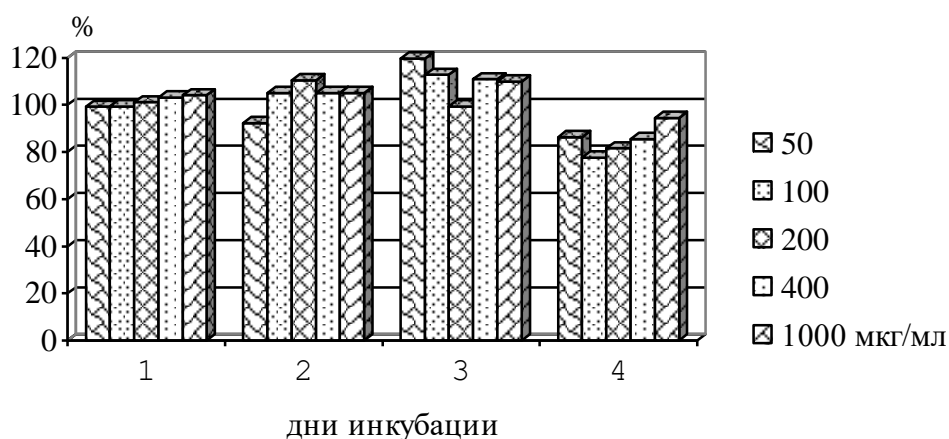


Рис 1. Влияние ЭСХ на рост клеток L929

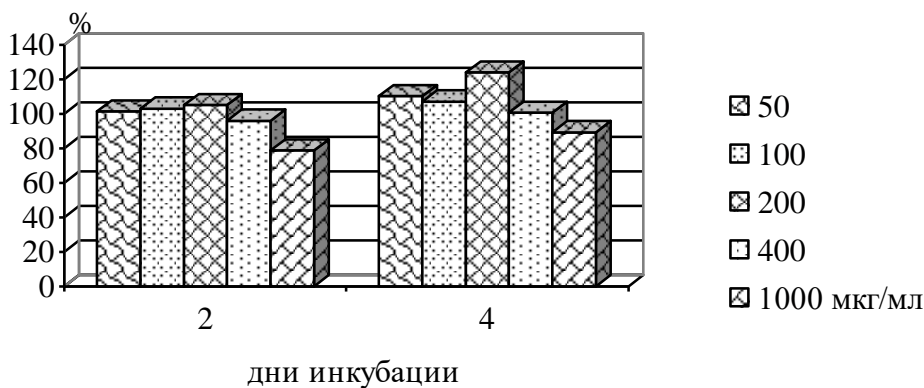


Рис. 2. Влияние ЭСХ на включение [<sup>3</sup>H]тимидина в ДНК клеток L929

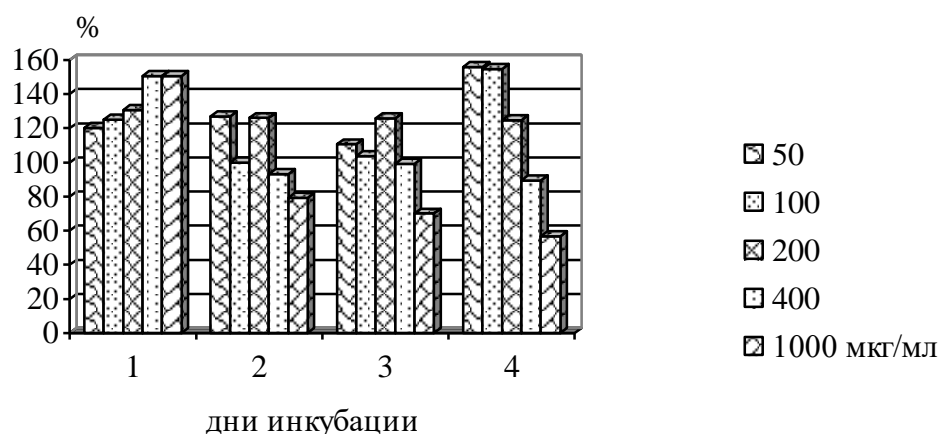


Рис 3. Влияние ЭСХ на синтез белка в клетках L929

Итак, препарат ЭСХ не обладает цитотоксичностью на культуре клеток с редуцированным эндоплазматическим ретикуломом в диапазоне доз 50-400 мкг/мл (эквивалента терапевтическим дозам). Этот препарат в дозах 50-200 мкг/мл способен стимулировать биосинтез белков в клетках L929.

Цитолиз гепатоцитов определяли сравнивая общую активность ЛДГ клеток с активностью ЛДГ, вышедшей в инкубационную среду при инкубации клеток с препаратами. Через 4 часа инкубации со стандартным некрозогенным препаратом ГХДХК (25-50 мкг/мл) не было обнаружено повышения активности ЛДГ в инкубационной среде. Однако, при более высоких концентрациях (100-400 мкг/мл) было отмечено повышение выхода фермента в инкубационную среду как проявление гибели клеток (таблица 1).

Таблица 1

Влияние ГХДХК на активность ЛДГ

Дозы ГХДХК	ЛДГ среды (Е/л)	Общая ЛДГ (Е/л)	% освобождения ЛДГ
Контроль	181,69±5,56	3722±257	4,77
25 мкг/мл	237,94±38,98	3903±69	6,09
50 мкг/мл	271,69±11,93	3878±160	7,01
100 мкг/мл	439,88±22,27	3511±209	12,5
200 мкг/мл	974,25±50,91	2902±69	33,57
400 мкг/мл	1162,13±58,87	2545±118	45,66

Препарат ЭСХ в этом диапазоне доз не оказал влияния на активность ЛДГ в инкубируемых гепатоцитах и в дозах 25-400 мкг/мл оказывал слабый протективный эффект на освобождение ЛДГ в инкубационную среду, вызванную ГХДХК.

Пролиферацию гепатоцитов оценивали по включению [<sup>3</sup>H]тимидина в ДНК клеток (таблица 2).

Таблица 2

Влияние гепатотропных препаратов на включение [<sup>3</sup>H]тимидина в ДНК гепатоцитов (имп/мин)

	ГХДХК	ТУДХК	УДХК	ЭСХ
Контроль	1522±38,77	1546±29,31	1278±56,47	1266±25,22
25 мкг/мл	1625±34,58 *	1600±103,9	1421±45,38*	1323±54,49
50 мкг/мл	1270±80,82 *	1567±22,16	1495±39,25*	2262±77,54*
100 мкг/мл	1011±78,76 *	1540±106,85	1454±65,15*	2096±66,75*
200 мкг/мл	860±24,07*	1588±274,87	1451±51,57*	1518±44,4*
400 мкг/мл	897±70,21*	1617±93,24	1181±42,78	1201±35,64*

Примечание: \* - P<0,05 по сравнению с контролем

ГХДХК (50-400 мкг/мл) вызвала дозозависимое уменьшение включения [<sup>3</sup>H]тимидина в ДНК. ТУДХК не оказала влияния на пролиферацию гепатоцитов, а УДХК стимулировала биосинтез ДНК в дозах (25-200 мкг/мл). Препарат ЭСХ (50-200 мкг/мл) также стимулировал пролиферацию гепатоцитов.

ТУДХК предотвращала подавление включения [<sup>3</sup>H]тимидина в ДНК гепатоцитов, вызванное инкубацией с ГХДХК (таблица 3).

Таблица 3

Влияние гепатотропных препаратов на ингибирование биосинтеза ДНК, вызванное инкубацией с ГХДХК

	ТУДХК	УДХК	ЭСХ
Контроль	1912±70,0	1355±72,12	1877±44,5
ГХДХК (100 мкг/мл)	991±17,65*	858±41,84*	915±59,56*
+25 мкг/мл	1219±2,83*#	1093±52,22*#	949±19,8*
+50 мкг/мл	1397±135*#	1069±56,68*#	969±36,62*
+100 мкг/мл	1439±86,45*#	950±74,16*#	966±105,07*
+200 мкг/мл	1665±192,4#	957±48,38*#	831±75,81*
+400 мкг/мл	1765±107,9#	920±32,35*	697±26,66*#

Примечание: \* - P < 0,05 по сравнению с контролем

# - P < 0,05 по сравнению с ГХДХК

УДХК (25-200 мкг/мл) оказала частичный позитивный эффект, а препарат ЭСХ не защищал гепатоциты от повреждающего действия ГХДХК.

Препарат ЭСХ не оказывал защитного антиапоптозогенного действия по сравнению с УДХК и ТУДХК на клеточной модели индуцированного ГХДХК апоптоза.

Таким образом, препарат ЭСХ не обладает цитотоксическим эффектом, частично препятствует вызванному ГХДХК цитолизу гепатоцитов (антинекрозогенное действие) и не проявляет антиапоптозогенного действия [4].

В последующих экспериментах было изучено действие препарата ЭСХ на липогенез в изолированных адипоцитах, выделенных по методу Rodbell (1964). Для этого навеску эпидидимальной жировой ткани помещали в Кребс-Рингер фосфатный буфер (рН 7,4), содержащий 3 мкмоль глюкозы в 1 мл, 4% жирной кислоты, инсулин и очищенный бычий альбумин. С помощью обработки коллагеназой типа II ("Sigma") были выделены адипоциты, которые разводили до концентрации, соответствующей 50-60 мг ткани в 1 мл (30-40 мкмоль триглицеридов в 1 мл). Получали  $10^5$  клеток в 0,8 мл суспензии. К этой суспензии добавляли 0,1 мл [ $^{14}\text{C}$ ]глюкозы (0,1 мкКи/ммоль). Затем к суспензии адипоцитов добавляли препарат ЭСХ (200 и 400 мкг/мл) или 0,1 нмоль инсулина. Инкубацию производили во вращающихся пластиковых пробирках 2 ч при 37 °С. Липогенез оценивали по включению меченой глюкозы в триглицериды. При исследовании действия препарата на липогенез из [ $^{14}\text{C}$ ]глюкозы в жировых эпидидимальных клетках крыс выявлено, что препарат оказал инсулиноподобный эффект, стимулируя синтез липидов. Данный эффект носил дозозависимый характер [5].

Для оценки опосредованного действия препарата ЭСХ через продукцию цитокинов были поставлены эксперименты на макрофагах. Для активации макрофагов мышам внутрибрюшинно вводили 5 мл 3% раствора пептона. Три дня спустя мышам внутрибрюшинно вводили 7 мл холодной среды 199, содержащей 10% бычьей сыворотки, антибиотики и 10 ед. гепарина. Через 1 мин из внутрибрюшинной жидкости были выделены и отмыты перитонеальные макрофаги, которые разводили до концентрации  $5 \times 10^6$  клеток/мл. Макрофаги пассировали в пластиковые Linbro-планшеты и инкубировали с препаратом ЭСХ сутки при 37 °С в атмосфере 5%  $\text{CO}_2$ . Через 24 ч супернатант, содержащий фактор некроза опухоли был тестирован с помощью культуры фибробластов линии L929. Оказалось, что препарат не влиял на секрецию фактора некроза опухоли перитонеальными макрофагами мышей.

На культуре специализированных клеток невриномы NGUK-1 показано, что препарат ЭСХ не влиял на число клеток в монослое, но в дозе 400 мкг/мл уменьшал включение [ $^3\text{H}$ ]тимидина в ДНК на 35,7% через 72 часа инкубации [6].

Эксперименты на клеточных культурах показали отсутствие цитотоксических эффектов препарата ЭСХ в дозах, эквивалентных терапевтическим.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Benz Ch., Angermuller S., Tox U., Kloters-Plachky, Riedel H.-D., Sauer P., Stremmel W., Stiehl A. Effect of tauroursodeoxycholic acid on bile-acid induced apoptosis and cytolysis in rat hepatocytes. //Journal of Hepatology.- 1998.- vol. 28.- P. 99-106.
2. Bomzon A., Ljubuncic P. Bile acids as endogenous vasodilators? //Biochem. Pharmacol.- 1995.- vol. 49, N 5.- P. 581-589.
3. Paul T., Paul S.F., Cammer G.J. Increases of intracellular magnesium promote glycodeoxycholate-induced apoptosis in rat hepatocytes. //J. Clin. Invest.- 1994.-vol. 94. P. 2183-2192.
4. Chirkin A.A., Danchenko E., Dorosh P. Apoptosis, necrosis and hepatotropic preparations //Medical Science.- 1999. - Vol. 5, Suppl.1.- P.109-115
5. Danchenko E.O., Chirkin A.A., Kutsenko N.G., Abakumova O.Yu., Tauschel H.-D. Determination of a insulin-like effect of extract salsola collina by means of epididymal lipocytes and regenerating hepatocytes /Exp. Toxic.Pathol.- 1996.-Vol. 48, № 5 - P. 342
6. Chirkin A.A., Danchenko E.O., Abakumova O.Yu. Effects of the hepatotropic preparations on the DNA metabolism and proliferation of neurinoma cells in vitro /Liver and nervous system: Abstract, Part III of the Liver Week Freiburg 1997, Falk Symposium № 103, Freiburg, 1997.- Д.11

### Глава 5. МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭКСТРАКТА СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ

Опыты были поставлены в соответствии со следующей схемой экспериментов:

0	Диета	20	21	22	25	31	41 сутки
	ЭСХ	ЧГЭ (70%)					
	1-й этап	2-й этап					

1-й этап: введение ЭСХ или ЭСХ совместно с атерогенной диетой

2-й этап: исследование пролиферации клеток печени

В эксперименте на белых крысах показано, что двадцатидневное введение препарата ЭСХ уменьшало содержание нуклеиновых кислот в гомогенатах печени на 8,3-9,5%, ДНК ядер - на 9,9% и РНК ядер гепатоцитов на 23,2%. Можно высказать два предположения: 1) препарат ЭСХ приводит к гибели части гепатоцитов (примерно 10%); 2) препарат ЭСХ увеличивает примерно на 10% гидратированную часть клеточной массы за счет биосинтеза белков. Второе предположение кажется более реальным, т.к. через 24 ч после операции частичной 70% гепатэктомии содержание нуклеиновых кислот в печени было одинаковым у крыс, получавших препарат ЭСХ, по сравнению с контролем. Через 10 суток после операции частичной гепатэктомии у крыс, получавших препарат ЭСХ, в отличие от контрольных животных, достигнута практически полная нормализация содержания нуклеиновых кислот в печени. Причиной более быстрого течения репаративной регенерации печени у крыс, получавших препарат ЭСХ, может быть синхронное вступление большего числа гепатоцитов в деление. Эту точку зрения подтверждают данные о биосинтезе ДНК в клетках печени через 24 ч после операции частичной гепатэктомии (таблица 4).

Установлено, что препарат ЭСХ усиливал включение [<sup>3</sup>H]тимидина в ДНК ядер гепатоцитов на 110,4%, а в гомогенатах - на 49,2%.

Таблица 4

Влияние препарата ЭСХ на биосинтез ДНК (имп/мг ДНК) у крыс через 24 часа после частичной гепатэктомии (митотическая фаза регенерации)

Группа крыс	Гомогенат печени	Ядра гепатоцитов
Интактные (n=7)	13871±1455	7280±730
Интактные+ЧГЭ (n=7)	51574±9286 <sup>1</sup>	53473±8917 <sup>1</sup>
Интактные+ЭСХ+ЧГЭ (n=12)	76848±3893 <sup>1,2</sup>	112486±6146 <sup>1,2</sup>

Примечание: <sup>1</sup> - достоверное отличие по сравнению с интактными крысами; <sup>2</sup> - достоверное отличие по сравнению с группой интактные + ЧГЭ

Препарат ЭСХ приводил к увеличению содержания триглицеридов в печени интактных крыс. Возможно, этот эффект связан с инсулиноподобным действием препарата на липоциты печени. Такое действие препарата ЭСХ сохранялось через 96 ч после операции частичной гепатэктомии. В отличие от контрольных крыс, у подопытных животных через 10 суток после частичной гепатэктомии достигнута полная нормализация содержания холестерина в ткани печени крыс.

Общий анализ этих данных позволяет сделать заключение о том, что препарат ЭСХ способен стимулировать репаративную регенерацию печени.

Двадцатидневное введение препарата ЭСХ привело к уменьшению содержания триглицеридов и общего холестерина в сыворотке крови. При этом выявлено уменьшение содержания холестерина ЛПВП в 2,7 раза. Содержание холестерина ЛПНП оставалось на контрольном уровне. Аналогичные сдвиги в показателях липидтранспортной системы были выявлены также через 96 ч после частичной гепатэктомии (более грубые нарушения у подопытных крыс по сравнению с контрольными). Однако, через 10 суток после частичной гепатэктомии у подопытных крыс выявлена тенденция к нормализации показателей липидтранспортной системы. При этом очень важно, что у подопытных крыс содержание холестерина ЛПВП полностью нормализовалось. Можно предположить, что препарат ЭСХ (возможно, за счет инсулиноподобного действия) стимулировал у интактных крыс процессы физиологической регенерации тканей. С этим можно связать как снижение уровня холестерина (использование для построения мембран), так и снижение уровня холестерина ЛПВП (снижение биосинтеза в дифференцирующихся клетках). На фоне стимулированной физиологической регенерации проявилось более эффективное течение репаративной регенерации печени.

Аналогичные рассуждения допустимы также для анализа соотношения свободного и эфирносвязанного холестерина. Через 10 суток после удаления 70% ткани печени у подопытных крыс обнаружена тенденция к нормализации соотношения свободного и эфирносвязанного холестерина.

При оценке белково-липидного состава ЛПВП установлено, что препарат ЭСХ увеличивал содержание аполипопротеинов ЛПВП на 54,9%, уменьшал содержание липидов ЛПВП на 25,3% и повышал величину белково-липидного коэффициента на 117,7%. Поэтому ранее приведенные данные о резком снижении количества холестерина ЛПВП едва ли соответствуют истинному уменьшению количества частиц ЛПВП. Предварительное введение препарата ЭСХ не оказало влияния на белково-липидный состав ЛПВП в процессе репаративной регенерации печени.

Аналогичные результаты были получены и при анализе белково-липидного состава апо-В-содержащих липопротеинов.

Поскольку препарат ЭСХ увеличивал содержание аполипопротеинов во всех основных классах липопротеинов (синтез этих белков происходит в печени, кишечнике и некоторых других тканях), можно предположить, что препарат ЭСХ обладает способностью стимулировать белоксинтезирующие системы клеток. Такой генерализованный эффект может быть связан с инсулиноподобным действием препарата. Косвенным подтверждением такого предположения может быть гипогликемическое действие

препарата ЭСХ. Интересно, что такой эффект ЭСХ сохранялся через 10 суток после операции частичной гепатэктомии. Препарат ЭСХ не оказывал повреждающего действия на ряд функций печени, поскольку содержание мочевины и билирубина в сыворотке крови у интактных крыс, а также в процессе репаративной регенерации печени не выходило за пределы нормальных величин.

Длительное применение препарата у интактных крыс привело к некоторому повышению активности АлАТ и АсАТ и снижению активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови. Однако в процессе репаративной регенерации печени достигнута более быстрая нормализация активности ферментов в сыворотке крови крыс, предварительно получавших препарат ЭСХ.

Таким образом, препарат ЭСХ обладает инсулиноподобным действием, которое проявляется гипогликемическим действием, стимуляцией синтеза ДНК, ускорением репаративной регенерации печени, усилением биосинтеза экспортных белков и мембраностабилизирующим эффектом.

В последующих экспериментах было изучено влияние препарата ЭСХ на метаболизм в условиях алиментарной гиперхолестеринемии. При воспроизведении алиментарной гиперхолестеринемии препарат ЭСХ не оказал существенного влияния на величины показателей липидтранспортной системы как у интактных крыс, так и при репаративной регенерации печени. Препарат не оказал влияния на соотношение свободного и эфирносвязанного холестерина. Препарат вызвал небольшое, хотя и достоверное, повышение уровня аполипопротеинов ЛПВП только у интактных крыс при воспроизведении алиментарной гиперхолестеринемии. Препарат ЭСХ не оказал существенного влияния на белково-липидный состав апоВ-содержащих липопротеинов, на содержание триглицеридов в печени, но он привел к более быстрой нормализации содержания холестерина в регенерирующей печени подопытных крыс; содержание нуклеиновых кислот в печени не изменилось, за исключением снижения уровня РНК в ядрах гепатоцитов. В процессе репаративной регенерации печени не найдено какого-либо закономерного действия препарата ЭСХ на содержание нуклеиновых кислот. Препарат ЭСХ не оказал стимулирующего влияния на включение [<sup>3</sup>H]тимидина в ДНК гепатоцитов. В условиях алиментарной гиперхолестеринемии оказался утраченным гипогликемический эффект препарата ЭСХ. Препарат ЭСХ не оказал закономерного влияния на динамику содержания мочевины и билирубина сыворотки крови в процессе репаративной регенерации печени. При воспроизведении алиментарной гиперхолестеринемии препарат ЭСХ несколько уменьшал гиперферментемию (активность щелочной фосфатазы и АлАТ). Однако в процессе репаративной регенерации печени никакого существенного действия на содержание ферментов в сыворотке крови препарат ЭСХ не оказывал.



Таким образом, в условиях алиментарной гиперхолестеринемии инсулиноподобный эффект препарата ЭСХ почти полностью утрачивался. При этом дополнительных повреждающих эффектов препарата ЭСХ на метаболизм и течение репаративной регенерации печени не было обнаружено. Отсутствие видимой фармакодинамики препарата ЭСХ при алиментарной гиперхолестеринемии связано, очевидно, с особенностями атерогенной диеты (включение 0,12% метилтиоурацила, подавляющего практически полностью функцию щитовидной железы). В связи с этим, в дальнейших исследованиях была использована модель транзиторной радиационно-индуцированной гиперхолестеринемии. Ранее было установлено, что после внешнего гамма-облучения в дозах 0,25 Гр - 5,0 Гр у крыс в интервале 10-30 сутки развивается гиперхолестеринемия ретенционного типа с максимумом на 17 сутки после облучения [2].

У крыс, облученных в дозе 0,25 Гр, препарат ЭСХ оказал гипохолестеринемическое действие (таблица 5).

При этом препарат повышал содержание триглицеридов и уменьшал количество холестерина ЛПВП. При сублетальной дозе облучения (5 Гр) препарат ЭСХ оказал выраженное нормолипидемическое действие (таблица 5). Аналогичное действие препарат ЭСХ оказал на соотношение свободного и эфирносвязанного холестерина.

Таблица 5

Влияние препарата ЭСХ на показатели липидтранспортной системы сыворотки крови у облученных крыс (ммоль/л) ( $X \pm \delta$ )

Группа крыс	Общий ХС	ХС ЛПВП	ХС ЛПОНП	ХС ЛПНП
Интактные	2,1±0,20	0,95±0,10	0,45±0,04	0,60±0,27
0,25 Гр	2,62±0,37 <sup>1</sup>	1,18±0,14	0,38±0,02 <sup>1</sup>	1,08±0,27 <sup>1</sup>
0,25 Гр +ЭСХ	2,13±0,20 <sup>2</sup>	0,79±0,07 <sup>1</sup>	0,53±0,04 <sup>1,2</sup>	0,80±0,25
5,0 Гр	2,84±0,25 <sup>1</sup>	1,81±0,12 <sup>1</sup>	0,35±0,04 <sup>1</sup>	0,76±0,19
5,0 Гр+ЭСХ	1,91±0,24 <sup>2</sup>	0,90±0,22 <sup>2</sup>	0,44±0,06 <sup>2</sup>	0,65±0,16

Примечание: <sup>1</sup> - достоверное отличие по сравнению с интактными крысами, <sup>2</sup>- достоверное отличие по сравнению с соответствующей группой облученных крыс.

У крыс, облученных в дозах 0,25 Гр и 5 Гр, препарат ЭСХ обеспечил гомеостатическое действие на содержание аполипопротеинов ЛПВП и существенно повысил содержание аполипопротеинов апо-В-содержащих липопротеинов. При обеих дозах облучения препарат ЭСХ нормализовал содержание холестерина в печени крыс. Содержание триглицеридов было снижено с помощью препарата ЭСХ только при малой дозе облучения

(0,25 Гр). У этих крыс препарат ЭСХ вызвал такие же изменения в содержании нуклеиновых кислот, как у интактных крыс. При сублетальной дозе облучения (5 Гр) препарат ЭСХ вызвал изменения нормализующего плана в содержании нуклеиновых кислот печени. После внешнего гамма-облучения оказался утраченным гипогликемический эффект препарата ЭСХ. Препарат не оказал никакого влияния на содержание мочевины и билирубина в сыворотке крови облученных крыс и уменьшил активность  $\gamma$ -глутаминилтрансферазы и АлАТ в сыворотке крови крыс, облученных в дозе 0,25 Гр. При более высокой дозе облучения препарат ЭСХ уменьшал активность АлАТ и АсАТ в сыворотке крови.

Таким образом, препарат ЭСХ сохранял гипохолестеринемическое действие у облученных крыс, но утрачивал в значительной мере инсулиноподобный эффект в условиях внешнего гамма-облучения.

Завершая этот раздел работы, можно заключить, что экстракт солянки холмовой способен проявлять инсулиноподобное действие у интактных крыс и практически не обладает цитотоксичностью в дозах до 200 мг/кг. При алиментарной гиперхолестеринемии, сопряженной с резким подавлением функции щитовидной железы, препарат полностью утрачивает нормолипидемическое и инсулиноподобное действие, но не усугубляет негативные изменения метаболизма. В условиях внешнего гамма-облучения сохраняется нормолипидемическое действие препарата, но утрачивается гипогликемический эффект [1,3].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Данченко Е.О., Чиркин А.А., Чиркина И.А., Гребенников И.Н., Таушел Х.Д. Действие экстракта *Salsola collina* на метаболизм и пролиферацию клеток *in vitro* и *in vivo* /В кн.: Актуальные вопросы гепатологии. Тез. докл., Гродно 1996.- С. 47
2. Чиркин А.А., Конопля Е.Ф., Степаненко Н.И. и др. Роль радиационного фактора в формировании дислипидемий в эксперименте и у населения Беларуси. Подходы к медикаментозной терапии выявленных типов дислипидемий /В кн.: Катастрофа на Чернобыльской АЭС и оценка состояния здоровья населения Республики Беларусь. Минск, 1991.-С. 170-186.
3. А.А.Chirkin, Е.О.Danchenko, Н.-D.Tauschel *Salsola collina*: effect on nucleic acid metabolism and cell proliferation /Progress in liver disease diagnostics. Abstracts of the Polish association for the study of the liver. Szczecin, 1996.- P.37

## Глава 6. СПЕЦИФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТА СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ

В конце 80-х и начале 90-х годов группой сибирских ученых были проведены фундаментальные исследования химического состава, специфической активности и токсичности препарата из солянки холмовой (А.И. Венгеровский, А.С.Саратиков, А.А.Семенов, В.С.Чучалин, И.М.Седых и др.). Приведем краткое описание их исследований.

1. Были изучены структурно-метаболические показатели печени при ее токсическом поражении тетрахлорметаном (1,25 мг/кг в 50% масляном растворе 4 дня), D-галактозамином (500 мг/кг в 5% водном растворе 2 дня), парацетамолом (2500 мг/кг в виде 20% водной суспензии 2 дня), этанолом (15 мл/кг 40% раствора 7 дней). Оценивали выживаемость животных, длительность сна после внутрибрюшинного введения гексенала в дозе 60 мг/кг, морфологические, биохимические и гистохимические изменения. В качестве препарата сравнения использовали водную суспензию силибинина ("Карсил", Болгария). Препараты ЭСХ и силибинин вводили интрагастрально в дозах 200 мг/кг одновременно с гепатотоксинами.

При тетрахлорметановом поражении печени выявлены дискомплексаия печеночных балок, отек вокруг синусоидных пространств, лимфоидно-гистиоцитарные инфильтраты. Количество центроlobулярных погибших гепатоцитов достигало 6% (в норме 0,9%). Нейтральный жир накапливался в виде крупных капель, заполняющих цитоплазму клеток во всех отделах долек. Препараты ЭСХ и силибинин примерно в одинаковой степени препятствовали развитию стеатоза и нарушению активности ферментов печеночной паренхимы. Экстракт солянки холмовой уменьшал количество погибших гепатоцитов до 1,6%, а силибинин - до 2,2%. Поражение печени D-галактозамином характеризовалось снижением активности дегидрогеназ цикла трикарбоновых кислот в 2,6-3,1 раза, оксибутиратдегидрогеназы в 2,2 раза, глюкозо-6-фосфатазы в 3,3 раза. Применение препаратов препятствовало этим изменениям, обеспечивая изменение их активности не более, чем на 24%. Парацетамол снижал также активность ферментов печени в среднем в 2 раза и приводил к некрозу центроlobулярных гепатоцитов до 3,4%. Оба гепатопротектора примерно в равной степени предотвращали эти изменения. Аналогичные изменения были зарегистрированы и при алкогольном поражении печени и применении гепатопротекторов. При всех моделях токсического поражения печени экстракт солянки холмовой и силибинин сохраняли содержание РНК, белка, сульфгидрильных групп и гликогена. Гексеналовый сон у леченых животных продолжался 21-34 мин, тогда как при интоксикации тетрахлорметаном, D-галактозамином, парацетамолом он удлинялся до 27-56 мин.

Аналогичные эксперименты были проведены проф. F.Leuschner на крысах Sprague-Dawley (контроль - введение гидроксипропилметилцеллюлезного геля, опыт - однократное введение 10 мл 2% тетрахлорметана на 1 кг массы тела, лечение - экстракт солянки холмовой 200 мг/кг и 400 мг/кг 4 дня и группа сравнения - введение силимарина 73,2%/кг 4 дня). По сравнению с животными, которым вводили тетрахлорметан, силимарин оказал нормализующее действие на продолжительность тиопенталового сна, содержание холестерина ЛПНП, триглицеридов, глюкозы и активность АлАТ, АсАТ и лактатдегидрогеназы. Препарат ЭСХ в той же дозе был значительно более эффективным, поскольку было выявлено нормализующее действие на продолжительность тиопенталового сна, содержание общего холестерина, холестерина ЛПВП и ЛПНП, триглицеридов, билирубина и глюкозы, а также активность глутатионредуктазы, АлАТ, АсАТ, щелочной фосфатазы и лактатдегидрогеназы. При более высокой дозе препарата было выявлено его гипогликемическое действие на фоне тетрахлорметановой интоксикации.

Исследованные сибирскими учеными гепатопротекторы (экстракт солянки холмовой и силибинин) улучшали экскреторную функцию печени и уменьшали синдром цитолиза гепатоцитов. В сыворотке крови крыс, затравленных тетрахлорметаном, ретенция бромсульфалеина (БСФ) возрастала в 4 раза, активность урокиназы - в 25 раз, АлАТ - в 8,6 раза, АсАТ - в три раза, печеночных изоферментов ЛДГ - в 2 раза. Содержание общего билирубина было увеличено в 3,8 раза, билирубина-глюкуронида - в 1,9 раза, а отношение конъюгированного билирубина к общему снижалось до 41% при норме 81%. Оба гепатопротектора оказывали положительное влияние на активность ферментов в сыворотке крови. Экстракт солянки холмовой достоверно эффективнее силибинина препятствовал увеличению в сыворотке крови содержания общего билирубина и в отличие от силибинина уменьшал содержание билирубина-глюкуронида. Связывание билирубина с глюкуроновой кислотой оба гепатопротектора повышали до 71%.

Антирадикальную активность препарата ЭСХ определяли по интенсивности окисления кумола в присутствии ингибитора азо-бис-изобутиронитрила и по связыванию устойчивого свободного радикала  $\alpha$ -дифенил- $\beta$ -пикрилгидразина. Оказалось, что экстракт солянки холмовой содержит большое количество ингибиторов свободнорадикальных реакций (0,17 моль/кг) с высокой функциональной активностью  $K_7$  ( $8,0 \times 10^4$  л/моль  $\times$  сек). Эти ингибиторы обладали способностью быстро связывать устойчивый свободный радикал. В связи с этим одним из вероятных механизмов действия экстракта солянки холмовой при тетрахлорметановой интоксикации может быть угнетение процессов перекисного окисления липидов в печени. При введении тетрахлорметана в печени увеличено содержание диеновых конъюгатов в 2,5 раза, оснований Шиффа - в 3,5 раза,

скорость образования  $Fe^{2+}$ -аскорбат и НАДФН-зависимого МДА - в 3,7 раза на фоне дефицита восстановленного глутатиона и сниженной активности глутатионредуктазы и антирадикальной активности липидов. При этом виде интоксикации экстракт солянки холмовой превосходил силибинин по способности предотвращать накопление диеновых конъюгатов и оснований Шиффа и несколько в большей степени, чем силибинин, ингибировал продукцию МДА, повышая концентрацию восстановленного глутатиона, активности глутатионредуктазы и антирадикальной активности липидов.

Для оценки антитоксической функции печени при тетрахлорметановой интоксикации оценивали метаболические процессы в микросомальной фракции печени. Одним из наиболее ярких проявлений повреждающего действия тетрахлорметана явилось угнетение антитоксической функции гепатоцитов: в микросомальной фракции печени затравленных животных содержание РНК снижалось в 1,6 раза, цитохрома Р-450 - в 1,9 раза, цитохрома  $b_5$  - в 1,7 раза, преобладал функционально инертный цитохром Р-420, уменьшалась как активность ферментов, осуществляющих окисление ксенобиотиков - амидопирин-N-деметилазы, гидроксилазы гексобарбитала, анилин-п-гидроксилазы, так и фермента второй стадии биотрансформации ксенобиотиков - глутатион-S-трансферазы, замедлялось окисление НАДФН и НАДН, умеренно возрастала активность НАДФН:ДХФИФ-, НТ- и цитохром-с-редуктаз, значительно повышалась активность феррицианидредуктазы. Цитохром Р-450 становился малостабильным и быстро подвергался тепловой инактивации. Степень его инактивации достигала 119,4% (в норме - 13,6%), поскольку через 30 мин цитохром Р-420 становился доминирующей формой гемопротейдов. Период полуинактивации цитохрома Р-450 укорачивался до 1,6 мин, а у интактных крыс он превышал срок наблюдения. Оба гепатопротектора препятствовали снижению концентрации микросомальной РНК, образованию цитохрома Р-420, ингибированию анилин-п-гидроксилазы и глутатион-S-трансферазы, ускоряли окисление НАДН, нормализовали активность НТ-редуктазы. Препарат ЭСХ оказался более эффективным, чем силибинин, при защите антитоксической функции печени..

В специальных экспериментах было показано, что препарат ЭСХ в дозе 100 мг/кг и его компоненты - алкалоиды (4 мг/кг), соли фенолкарбоновых кислот (20 мг/кг), стериновые гликозиды (5 мг/кг) и бетаин (10 мг/кг) примерно в равной степени защищают печень от повреждающего действия тетрахлорметана.

2. Острая токсичность препарата солянки холмовой: в дозах до 10000 мг/кг внутригастрально и внутрибрюшинно в форме водного раствора препарат ЭСХ не вызывает гибель мышей, крыс и кроликов в течение 2-х недель наблюдения. У животных не были нарушены координация движений, сохранялись рефлексы и не происходило угнетения дыхания.

3. Хроническая токсичность была оценена в экспериментах на крысах: животным в течение 6 месяцев интрагастрально вводили препарат ЭСХ в дозах до 700 мг/кг. За период наблюдения не было отмечено гибели животных и отклонений в развитии, массе тела и поведении. У животных не было обнаружено негативного влияния на содержание гемоглобина, количество эритроцитов и лейкоцитов; параметры ЭКГ; состояние ЦНС по тестам суммарно-порогового показателя и “открытого поля”; функцию печени по коэффициенту ретенции БСФ, активности сывороточных щелочной фосфатазы, АЛАТ и АсАТ и антиоксидантной функции по содержанию цитохрома Р-450, активности амидопирин-N-деметилазы, анилин-п-гидроксилазы; функцию почек по величине суточного диуреза, рН, наличию сахара, белка и креатинина в моче. У всех животных при вскрытии не обнаружены макроскопические и микроскопические нарушения во внутренних органах. Кроме этого хроническая активность экстракта солянки холмовой была оценена в экспериментах на 4-х собаках, которым в течение 6 месяцев скармливали таблетки препарата ЭСХ в дозе 100 мг на животное. Как и в экспериментах на крысах, препарат ЭСХ не вызвал никаких отклонений в поведении, общем состоянии и развитии собак. На протяжении всего эксперимента количественный и качественный состав крови собак не претерпевал существенных изменений. При патоморфологическом обследовании после завершения эксперимента в органах собак не было найдено макроскопических и микроскопических отклонений от нормы.

Таким образом, можно сделать заключение, что препарат экстракта солянки холмовой не обладает токсичностью в опытах, когда дозы препарата ЭСХ превышают рекомендуемые для человека на 1 кг массы при введении крысам в 140-490 раз, а при введении собакам в 9,3 раза [1, 2, 3].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Венгеровский А.И., Чучалин В.С., Седых И.М., Саратиков А.С. Гепатозащитные свойства экстракта из надземной части *Salsola collina* Pall. // Растительные ресурсы - 1989. - №1. - С.575-580

2. Саратиков А.С., Венгеровский А.И., Чучалин В.С. и др. Гепатозащитные свойства солянки холмовой // Химико-фармацевтический журнал. - 1990. - №6. - С.38-40

3. Семенов А.А., Чупин С.П., Кузнецов Э.Э. и др. Перспективы изучения лекарственных растений Восточной Сибири // Бюл. СО АМН СССР. - 1982. - №4. - С.41-46

## Глава 7. ОБОСНОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ

### 1. Применение традиционных препаратов

Препараты из солянки холмовой (*Salsola collina* Pall.) семейства ма-ревых (Chenopodiaceae) включают свободные стеринны ( $\beta$ -ситостерин, стигмастерин, кампестерин, 24-этилхолестанол), гликозиды этих стериннов, флавоноиды (трицин, трицин-7-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид, изорамнетин, изорамнетин-3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид, кверцетин-3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид и нарциссин)-1,6%, дубильные вещества - 3,01%, полисахариды - 2,2%, четвертичные аммониевые основания (глицинбетаин, холин), алколоиды (0,002-0,003% от массы воздушно-сухого сырья), ванилиновый спирт, жирные кислоты ( $\gamma$ -линоленовая кислота), каротиноиды, сапонины, аминокислоты (34,45% незаменимых аминокислот), калий, неорганические соли кальция, магния, алюминия [4,6]. При изучении фармакологических свойств найдено, что биологически активный комплекс солянки холмовой обладает гепатопротекторными свойствами: на экспериментальных моделях патологических процессов найдены его антигепатотоксическая и антиатеросклеротическая активности [2,7]. По мнению А.С.Саратикова и соавт. (1990) гепатозащитный эффект экстракта солянки холмовой обусловлен действием гликозидов стериннов, глицинбетаина и суммой алколоидов [2,6]. В последние годы на кафедре биохимии Витебского государственного медицинского университета проведен комплекс исследований, который показал, что препараты солянки холмовой не обладают цитотоксичностью в широком диапазоне доз, оказывают слабый инсулиноподобный эффект на культуре липоцитов и гепатопротекторное действие при физиологической и репаративной регенерации ткани печени [5, 10, 12, 13]. Возможной причиной этих эффектов может быть аминокислотный состав препаратов солянки холмовой. В связи с этим целью работы явилось изучение аминокислотного состава сухой травы *Salsola collina* Pall. ("Чай солянка холмовая"), спиртового 3% экстракта "Лохеин" ("Экстракт травы солянки холмовой"), сухого биологического комплекса "Экстракол" и применение этих препаратов для коррекции возрастных изменений метаболизма.

Замороженные в жидком азоте образцы печени крыс гомогенизировали в растворе 0,2N HClO<sub>4</sub> и исследовали супернатант после центрифугирования. Сухую траву солянки холмовой в количестве 2 г заваривали как чай и настаивали 30 мин. В супернатанте печени крыс, чае из сухой травы, лохеине и экстраколе определяли количество свободных аминокислот методом катионообменной хроматографии в одноколоночном варианте на автоматическом анализаторе аминокислот ААА-Т-339М (Чехия) [1]. В ря-

де экспериментов параллельно оценивали спектр свободных аминокислот с помощью ВЭЖХ на приборе “Waters-206” фирмы “Millipore-Waters” (США). Воспроизводимость использованных методов составила  $\pm 1,5\%$ . Количество аминокислот и низкомолекулярных азотсодержащих веществ печени выражали в мкмоль/кг, в препаратах солянки холмовой в мкмоль/л разведения. Для сравнения приведены данные об аминокислотном составе плазмы крови людей [8].

Группа пациентов обоего пола в возрастной группе 51-60 лет в количестве 12 человек принимала препараты солянки холмовой в следующей последовательности: 2 месяца чай из сухой травы 3 раза в день по 200 мл, 30 суток “отмывочный период”; 2 месяца лохеин по 15 мл 3 раза в день, 30 суток “отмывочный период”; 2 месяца экстракол по 3 пакета в день и заключительный контроль эффективности приема препаратов через 130 суток. В сыворотке крови пациентов определяли содержание общего холестерина, холестерина ЛПВП, ЛПОНП, ЛПНП, триглицеридов, глюкозы, мочевины, билирубина, а также активности  $\gamma$ -глутаминилтрансферазы ( $\gamma$ -ГГТ) методами сухой химии с помощью прибора “Рефлотрон-IV” (Роше-Берингер), активность аланин-аминотрансферазы (АлАТ), аспартат-аминотрансферазы (АсАТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) определяли с помощью наборов фирмы Кормэй ДиАна на анализаторе “Кормэй-Мульти”. Биохимические показатели имеют размерность: общий холестерин (ХС), ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, триглицериды (ТГ), мочевина, глюкоза - ммоль/л; креатинин, мочевиная кислота (урат) и билирубин - мкмоль/л;  $\gamma$ -глутаминилтрансфераза (ГГТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), аспартат-аминотрансфераза (АсАТ), аланин-аминотрансфераза (АлАТ) - Е/л; общий белок, альбумин - г/л и индекс атерогенности - ед. В периоде приема препаратов солянки холмовой все пациенты находились в состоянии “практического здоровья”.

Спектры свободных аминокислот печени, плазмы крови и препаратов солянки холмовой представлены в таблице 6.

Таблица 6

Свободные аминокислоты печени крыс, плазмы крови людей и препаратов солянки холмовой.

Наименование	Печень мкмоль/кг	Плазма мкмоль/л	Лохеин мкмоль/л	Экстра- кол мкмоль/л	Чай мкмоль/ л
Асп	4773 $\pm$ 520	17,7 $\pm$ 4,43	783,5	693,5	21,77
Тре	1204 $\pm$ 195	138 $\pm$ 33,2	821,5	552,7	5,87
Сер	7156 $\pm$ 1935	112 $\pm$ 27,8	657	512,3	28,16
Асн	379 $\pm$ 69	43,3 $\pm$ 19,5	+	+	+
Глу	32883 $\pm$ 7206	65,8 $\pm$ 23,7	1123	1005	41,78



Глн	4483±509	541±132	82	135,7	40,26
Про	+	278±90,7	199	90,9	-
Гли	5297±1716	241±57,5	807,5	601,2	28,98
Ала	2510±273	458±109	1466,5	1427	36,74
Цтр	93±23	31,5±11,0	142	55,0	+
Вал	1079±439	271±57,2	1190	872,9	+
Цис	304±106	122±19,9	80,5	64,3	+
Мет	201±63	26,2±8,44	73	251,7	+
Иле	114±25	78,2±26,0	752	420,7	+
Лей	221±20	143±43,6	1086	627	+
Тир	114±65	72,9±20,3	573	6311	35,32
Фен	136±27	65,1±15,7	786	628,7	+
Орн	583±122	70,4±16,7	210,5	197,9	439
Лиз	581±98	187,9±48,5	481,5	294,8	+
Гис	746±38	95,7±17,0	69,5	182,3	+
Три	+	38,6±18,5	+	+	+
Арг	+	104±30,6	+	+	+
Σ, мкмоль	62847	3226	11834	14924	678
Σ, г	6,91	0,36	1,25	1,64	0,075

Примечание: + качественное открытие присутствия аминокислоты  
- аминокислота отсутствует

Установлено, что в ткани печени по процентному содержанию свободные аминокислоты располагаются в последовательности: глутамат (52,3%), серин (11,38%), глицин (8,41%), аспартат (7,59%), глутамин (7,13%), аланин (3,99%), треонин (1,92%), валин (1,72%), гистидин (1,19%). На остальные аминокислоты, включая незаменимые (метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, лизин, триптофан), приходится менее 1% на каждую.

Известно, что после приема богатой белками пищи 57% полученных аминокислот окисляется до мочевины, 23% в неизменном состоянии попадает в общее кровообращение, 6% используется для синтеза белков плазмы и 14% депонируется в печени для синтеза белков организма [14]. Лейцин, изолейцин и валин не трансформируются в печени и попадают в общий кровоток, чтобы метаболизироваться в нервной ткани, мышцах и почках [15]. Поэтому низкое содержание незаменимых аминокислот в печени может быть следствием их использования для биосинтеза белков в гепатоцитах, а также в экстрапеченочных тканях.

Для обеспечения этих процессов необходима адекватная доставка аминокислот, что подтверждается анализом спектра свободных аминокислот в плазме крови: на первом месте - глутамин (16,76%), аланин (14,2%),

пролин (8,61%), глицин (7,49%), а затем располагаются незаменимые аминокислоты - валин (8,39%), лизин (5,81%), лейцин (4,44%), треонин (4,29%), изолейцин (2,42%), фенилаланин (2,02%), триптофан (1,20%), метионин (0,81%). Следовательно, для поддержания обмена белков необходимо введение в организм аминокислот, в том числе незаменимых.

Эндогенные потери незаменимых аминокислот составляют в среднем 80 мг/кг сутки. Потребности в незаменимых аминокислотах у взрослых: изолейцин 10-11 мг/кг, лейцин 12-14 мг/кг, лизин 9-12 мг/кг, метионин+лизин 11-14 мг/кг, фенилаланин+тирозин 13-14 мг/кг, треонин 6-7 мг/кг, триптофан 2,6-3,2 мг/кг, валин 11-14 мг/кг [3]. Наряду с биологически полноценным питанием эти потребности могут поддерживаться парэнтеральным и энтеральным введением смесей аминокислот. Утилизация внутривенно введенных аминокислотных препаратов выше, если в их состав включены аланин, пролин и глутамат [11].

Анализ аминокислотного состава препаратов солянки холмовой показал относительно высокое содержание в них незаменимых аминокислот. Так в лохеине на долю незаменимых аминокислот приходится 45,5%, что сравнимо с содержанием их в наиболее полном по аминокислотному составу препарате “Аминозин 10%” [3]. В лохеине оказалось в достаточном количестве необходимых для утилизации аминокислот аланина (12,88%), глутамата (9,86%) и пролина (1,75%). Обращает на себя внимание высокое содержание в лохеине аминокислот, которые поддерживают мочевинообразование в печени: аспартат (6,88%), цитруллин (1,25%), орнитин (1,85%). В препарате экстракол найдено высокое содержание тирозина, образуемого из незаменимой аминокислоты фенилаланин. В этом препарате также относительно высокое содержание незаменимых аминокислот: валин (5,85%), фенилаланин (4,21%), лейцин (4,20%), треонин (3,70%), изолейцин (2,82%), лизин (1,97%), метионин (1,69%); в препарате присутствуют также аланин (9,56%), глутамат (6,73%) и пролин (0,61%), а также аспартат (4,65%), орнитин (1,33%) и цитруллин (0,37%). В чае из сухой травы солянки холмовой найдено высокое содержание орнитина, а также глутамата, тирозина, аланина, глутамина, глицина, серина, аспартата и треонина.

В таблице 7 представлены другие низкомолекулярные азотсодержащие вещества. Установлено, что в препаратах солянки холмовой присутствуют таурин, необходимый для образования тауриновых конъюгатов в печени, и этаноламин, используемый в биосинтезе фосфолипидов. Кроме этого в лохеине найдены  $\beta$ -аланин (необходим для синтеза КоА) и полный набор аминотрикарбоновых кислот.

Таблица 7

Низкомолекулярные азотсодержащие вещества в печени крыс и препаратах солянки холмовой

Наименование	Печень мкмоль/кг	Лохеин мкмоль/л	Экстракол мкмоль/л	Чай мкмоль/л
Цистеинат	868±101	410	506,5	20,51
Таурин	4021±276	124,5	651,8	15,87
Фосфоэтаноламин	3634±472	-	-	-
Этаноламин	613±72	78,5	26,8	+
β-аланин	216±35	121	-	-
α-АМК	-	132,5	-	-
β-АМК	-	192,5	-	-
γ-АМК	-	539	-	-
Норлейцин	-	1,1	4,3	0,04

Таким образом, анализ аминокислотного состава препаратов солянки холмовой показывает пути их наиболее эффективного использования:

- 1) для поддержания и стимуляции сниженного обмена белков путем дополнительной доставки достаточно полного набора аминокислот, включая незаменимые;
- 2) для поддержания функционирования и энерготрат в нервной ткани, мышцах и почках за счет дополнительной доставки аминокислот с разветвленными радикалами (валин, лейцин, изолейцин);
- 3) для стимуляции мочевинообразования в печени и образования конъюгатов метаболитов и ксенобиотиков как компонентов ее антитоксической функции (аспартат, цитруллин, орнитин, таурин);
- 4) поскольку известно, что аминокислоты с разветвленными радикалами способны усиливать выделение инсулина [9], препараты солянки холмовой могут применяться с целью поддержания метаболизма за счет инсулиноподобных эффектов [13].

Для проверки этих предположений было предпринято исследование с целью использования гепатопротекторных и инсулиноподобных эффектов препаратов солянки холмовой для коррекции возрастных изменений метаболизма. Результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8

Влияние препаратов солянки холмовой на биохимические показатели сыворотки крови людей

Показатель	Чай		Лохеин		Экстракол		через 130 суток
	до	после	до	после	до	после	
ХС	5,52± 0,19	5,14± 0,26	5,49± 0,19	5,24± 0,14	5,50± 0,13	5,29± 0,12	5,36± 0,13
ХС ЛПВП	0,92±	1,19±	0,95±	1,04±	1,10±	1,20±	1,15±

	0,04	0,07*	0,04	0,04	0,04	0,03*	0,04**
ТГ	1,80± 0,14	1:67± 0,16	2,11± 0,08	1,97± 0,04	2,11± 0,05	1,98± 0,05	1,91± 0,07
ИА	3,96± 0,36	2,81± 0,33*	3,87± 0,32	3,24± 0,23	3,20± 0,26	2,69± 0,19	3,06± 0,28**
Билирубин	17,2± 1,50	9,9± 1,14*	20,1± 1,22	16,6± 0,74*	18,0± 0,69	15,1± 0,59*	14,4± 0,50**
Мочевина	5,35± 0,49	5,03± 0,40	5,40± 0,30	5,11± 0,21	5,05± 0,20	5,94± 0,20*	5,85± 0,19
Глюкоза	5,37± 0,16	5,17± 0,11	5,37± 0,16	5,05± 0,10	5,14± 0,12	4,83± 0,10*	4,85± 0,09**
γ-ГГТ	50,8± 3,42	22,7± 2,15*	52,8± 3,11	36,3± 3,22*	40,6± 3,31	30,6± 2,22*	29,8± 2,45**
АлАТ	51,8± 3,33	26,7± 2,63*	48,0± 4,30	29,9± 3,06*	40,0± 4,54	30,3± 3,56*	24,9± 2,04**
АсАТ	31,3± 2,69	24,1± 2,31*	36,4± 2,24	33,5± 3,58	46,4± 3,89	30,0± 2,65*	27,4± 2,09
ЩФ	86,3± 5,08	88,6± 5,01	84,5± 3,29	57,3± 4,76*	68,2± 4,03	47,4± 2,63*	46,8± 3,93**

Примечание:\* - достоверное различие с группой “до лечения”

\*\* - достоверное различие с исходными данными

ИА - индекс атерогенности.

У обследуемых лиц до лечения основные биохимические показатели метаболизма находились на уровне пограничных с нормой значений: сниженное содержание холестерина ЛПВП, повышенное содержание глюкозы, увеличение индекса атерогенности, а также активности γ-ГГТ, АлАТ и ЩФ. Лечение с использованием чая из сухой травы солянки холмовой обеспечило повышение уровня холестерина ЛПВП и снижение содержания билирубина, величины индекса атерогенности, активности γ-ГГТ, АлАТ и АсАТ. На этом этапе лечения не обнаружено достоверных изменений активности щелочной фосфатазы и уровня глюкозы. Полученные положительные эффекты от применения чая из сухой травы солянки холмовой оказались непродолжительными и полностью исчезли на протяжении месячного “отмывочного периода”. На следующем этапе лечения с применением лохеина было обнаружено уменьшение содержания билирубина и активности γ-ГГТ, АлАТ и ЩФ. Через 30 дней “отмывочного периода” эти положительные сдвиги также частично исчезли. Двухмесячное применение экстракола привело к достоверному повышению содержания

холестерина ЛПВП и мочевины, а также к уменьшению содержания билирубина, глюкозы и активности изучаемых ферментов сыворотки крови. Полученные изменения сохранились в течение 4,5 месяцев. По сравнению с исходными данными трехэтапное применение препаратов солянки холмовой оказало следующее положительное влияние на возрастные изменения обмена веществ:

- 1) повышение содержания холестерина ЛПВП;
- 2) снижение величины индекса атерогенности;
- 3) снижение концентрации билирубина ;
- 4) уменьшение уровня глюкозы;
- 5) нормализация активности  $\gamma$ -ГГТ, АлАТ и ЩФ.

Все перечисленные положительные сдвиги метаболизма могут быть объяснены действием препаратов солянки холмовой на основе их аминокислотного состава.

Из этих препаратов наиболее дешевым и доступным является “Чай соляника холмовая”, включающий высушенное нативное растение. Этот чай был испытан у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) с признаками легкой степени повреждения печени. Под наблюдением было 50 доноров (средний возраст  $36,8 \pm 0,8$  лет) и 40 больных ИБС (средний возраст  $48,7 \pm 1,0$  лет). Группа больных ИБС была отобрана из 400 обследованных, используя в качестве критерия включения сонографические и биохимические (содержание билирубина, активность  $\gamma$ -ГГТ, АлАТ и АсАТ) признаки легкой степени повреждения печени. Лечение проводили 60 дней: 28 больных получали ежедневно по 3 капсулы  $\gamma$ -линоленовой кислоты (200 мг неогландин); 12 больных получали 3 раза в день по 200 мл чая заваренного из столовой ложки “Чая солянка холмовая” (основная группа). Введение контрольной группы вызвано тем, что одним из действующих начал травы солянки холмовой является  $\gamma$ -линоленовая кислота. Полученные результаты представлены в таблице 9. Из анализа таблицы следует, что у больных ИБС до лечения была типичная картина нарушения липидтранспортной системы. В отобранной группе больных были выявлены признаки легкой степени повреждения печени без признаков холестаза.

Таблица 9

Влияние чая солянки холмовой и  $\gamma$ -линоленовой кислоты на биохимические показатели сыворотки крови больных ИБС

Показатель	Доноры	До лечения	$\gamma$ -линоленовая кислота	Чай солянки холмовой
Общий ХС	$4,57 \pm 1,12$	$5,38 \pm 0,15^1$	$5,44 \pm 0,17^1$	$5,12 \pm 0,27$
ХС ЛПВП	$1,52 \pm 0,05$	$0,89 \pm 0,04^1$	$1,15 \pm 0,07^{1,2}$	$1,19 \pm 0,06^1$
ХС ЛПНП	$2,53 \pm 0,11$	$3,66 \pm 0,13^1$	$3,52 \pm 0,16^1$	$3,20 \pm 0,19^1$
ХС ЛПОНП	$0,53 \pm 0,02$	$0,85 \pm 0,08^1$	$0,77 \pm 0,08^1$	$0,77 \pm 0,08^1$

ТГ	1,15±0,05	1,85±0,17 <sup>1</sup>	1,67±0,17 <sup>1</sup>	1,68±0,17 <sup>1</sup>
ИА	2,11±0,11	4,11±0,51 <sup>1</sup>	4,13±0,32 <sup>1</sup>	3,30±0,25 <sup>1</sup>
Билирубин	9,53±0,45	15,9±0,65 <sup>1</sup>	12,9±0,77 <sup>1</sup>	9,95±0,70 <sup>2</sup>
Мочевина	4,79±0,21	5,61±0,24 <sup>1</sup>	5,97±0,31 <sup>1</sup>	4,96±0,30 <sup>2</sup>
γ-ГГТ	20,9±1,9	51,2±7,8 <sup>1</sup>	25,8±3,36 <sup>2</sup>	22,6±0,95 <sup>2</sup>
АлАТ	21,3±0,9	43,8±0,50 <sup>1</sup>	56,1±2,53 <sup>1</sup>	26,7±4,14 <sup>2</sup>
АсАТ	22,6±0,9	36,5±3,2 <sup>2</sup>	24,2±3,43 <sup>2</sup>	24,9±3,43 <sup>2</sup>
ЩФ	87,4±2,2	84,8±4,3	91,0±4,62	88,6±4,73

Примечание: <sup>1</sup> - достоверное различие по сравнению с донорами; <sup>2</sup> - достоверное различие по сравнению с группой “до лечения”.

Установлено, что после лечения препаратом γ-линоленовой кислоты достоверно повысилось содержание холестерина ЛПВП и достоверно снизилась активность γ-ГГТ и АсАТ в сыворотке крови. У больных основной группы, получавших чай из солянки холмовой был выявлен более выраженный положительный эффект: достоверное повышение холестерина ЛПВП, уменьшение величины индекса атерогенности и полная нормализация маркеров поражения печени (содержание билирубина, мочевины и активности ферментов). Это связано, по всей видимости, с более оптимальной дозировкой γ-линоленовой кислоты в чае и действием ее в виде природной композиции с другими гепатотропными компонентами солянки холмовой (глицинбетаин, аминокислоты, микроэлементы и др.).

#### ВЫВОДЫ:

- У больных ИБС с признаками легкой степени повреждения печени чай из травы солянки холмовой оказывает нормализующие влияние на состояние липидтранспортной системы.
- У больных ИБС с признаками повреждения печени чай из травы солянки холмовой оказывает положительное гепатотропное действие.
- Учитывая недостаточную стабильность положительных эффектов и отсутствие цитотоксичности чая из солянки холмовой, для поддержания положительной фармакодинамики следует, вероятно, рекомендовать более продолжительное применение этой биологической добавки.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бенсон Дж., Патерсон Дж. Хроматографический анализ аминокислот и пептидов на сферических смолах и его применение в биологии и медицине/ Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков. - М., 1974. - С.9-84

2. Венгеровский А.И., Чучалин В.С., Седых И.М., Саратиков А.С. Гепато-защитные свойства экстракта из надземной части *Salsola collina* Pall.//Растительные ресурсы. - 1989. - №1. - С. 575-580
3. Вретлинд А., Суджян А. Клиническое питание. Стокгольм-Москва. 1990, Интерворд АВ, 354 с.
4. Кульмагамбетова Э.А., Прибыткова Л.Н., Душкин А.В., Адекенов С.М. Биологически активный комплекс *Salsola collina* Pall./ Физиолого-биохимические аспекты изучения лекарственных растений. Матер, конф. Новосибирск. 1998.- С.35
5. Луняк Н.К., Чиркин А.А., Данченко Е.О., Луняк Ю.С. Клинико-экспериментальный опыт сочетанного применения энтеросорбента и гепатопротектора для стабилизации гепатобилиарной системы/ Проблемы противолучевой защиты. Всероссийская конференция с международным участием. Матер. конф. М. - 1998. - С.135.
6. Саратиков А.С., Венгеровский А.И., Чучалин В.С. и др. Гепатозащитные свойства солянки холмовой // Химико-фармацевтический журнал. - 1990.-№6. - С.38-40
7. Токпаев А.Х. Фармацевтическая активность растительного препарата “Салсоколлин” в эксперименте / Автореф. дисс. ... канд. мед. наук., Караганда, 1977
8. Чиркин А.А., О कोरोков А.Н., Гончарик И.И. Диагностический справочник терапевта. Минск: “Беларусь”, 1992, 688 с.
9. Cahill G.F. Carbohydrates./”Parenteral Nutrition” (Eds. H.Meng, D.H.Law), 1970, Thomas Springfield, Illinois, USA. - P. 85.
- 10.Chirkin A.A., Danchenko E.O., Tauschel H.-D. *Salsola collina*: effect on nucleic acid metabolism and cell proliferation / Progress in liver disease diagnostics. Abstracts of the 1th Scientific Conferehce of the Polish association for study of the liver. - Szczecin - 1996. - P. 37
- 11.Dolif D., Jurgens P. Die Bedeutung der nichtessentiellen Aminosauern bei der parenteralen Ernährung / “Advances in Parenteral Nutrition”, 1970, G. Thieme Verlag, Stuttgart. - P. 126
- 12.Danchenko E.O., Demin E.S., Lunjak N.K., Chirkin A.A. Enteral way of treatment of acute alcoholic intoxication: a combination of enterosorbent and hepatoprotector // Alcohol and Alcoholism. - 1997. - Vol. 32, № 3. - P. 414
- 13.Danchenko E.O., Chirkin A.A., Kutsenko N.G. et al. Determination of insulin-like effekt of extract *Salsola collina* by means of epididymal lypocytes and regenerating hepatocytes // Experimental and Toxicologic Pathology. - 1996.-Vol.48, № 5. - P. 342
- 14.Elwyn D. The role of the liver in regulation of amino acid and protein metabolism / “Mammalian Protein Metabolism” (Ed. H.N.Munro), 1970, vol. 4. Acad. Press, New York and London. - P. 523

15. Miller L.L. The role of the liver and the non-hepatic tissues in the regulation of free amino acid levels in the blood / "Amino acid pools" (Ed. J.T.Holden), 1962, Elsevier, Amsterdam. - P. 708.

## 2. Лечение абстинентного синдрома

Как изложено выше, изучение химического состава препаратов солянки холмовой (*Salsola Collina* Pall.) показало отсутствие цитотоксичности, наличие антинекрозогенного действия и инсулиноподобного эффекта [1]. Аминокислотный состав этих препаратов обосновывает их применение при патологии печени и нервной системы [2]. При алкоголизме возникает поражение печени, связанное с действием НАДН и эндотоксинов. Поэтому целесообразно для лечения использовать энтеросорбент (связывание эндотоксинов) в комплексе с гепатопротектором [3]. Целью работы была апробация технологии лечения абстинентного синдрома комбинацией гепатопротектора лохеина ("Экстракт травы солянки холмовой") и энтеросорбента "Полифепан".

Под наблюдением было 60 больных, поступивших с диагнозом "хронический алкоголизм второй стадии в форме запойного пьянства, выраженный абстинентный синдром". До госпитализации пациенты потребляли свыше 100 мл алкоголя в день. Все больные были рандомизированы на две равные группы по 30 человек. Больные 1 группы получали принятую парэнтеральную терапию абстинентного синдрома, включающую внутривенное капельное введение физиологического раствора (0,9%) хлорида натрия - 400 мл + 5% раствор глюкозы - 400 мл + диазепам 0,5% - 6 мл; фурасемид 2 мл, 25% раствор сульфата магния 10 мл внутримышечно; витамин С 5% раствор внутривенно 5 мл, витамин В<sub>6</sub> 5% раствор внутримышечно 3 мл; сульфокамфокаин 10% раствор внутримышечно 2 мл. Больные 2 группы получали энтеральную терапию на основе последовательного применения лохеина и полифепана [1,4]. Пациенты групп 1 и 2 были сопоставимы по продолжительности алкогольной зависимости (10,3±1,5 года и 10,6±1,5 года), возрасту (44,5±1,7 года и 42,1±2,4 года), величине индекса Кетле (22,2 и 22,6).

При поступлении в больницу у пациентов регистрировали картину острого абстинентного синдрома, в том числе:

1) сомато-астенические симптомы - вегето-астенические (потливость, тахикардия, сухость во рту, слабость и др.); вегето-сосудистые (гиперемия и одутловатость лица, инъекция склер, головная боль, колебания артериального давления - преимущественно гипертензионная реакция, диспептические расстройства - тошнота, рвота, анорексия и др.);

2) неврологические симптомы (тремор, нарушения походки, высокие сухожильно-приостальные рефлекссы);



3) психотические расстройства (чувство тревоги, страха, подавленное настроение, идеи самоуничтожения, тоска, безысходность вплоть до идеи суицида, раздражительность, злобность, бессонница и др.).

Все три группы симптомов оценивали по четырехбалльной шкале, учитывая их выраженность.

В сыворотке крови 30 пациентов (по 15 человек из каждой группы), взятой в 8 часов утра натощак, производили лабораторно-биохимические исследования. Определяли содержание общего белка, альбумина, билирубина, мочевины, общего холестерина, холестерина ЛПВП, ЛПОНП, ЛПНП, триглицеридов, рассчитывали величину индекса атерогенности, количество апопротеинов А1, В, Lp(a), а также оценивали активность аланин-аминотрансферазы (АлАТ), аспартат-аминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутаминилтрансферазы (ГГТ).

При поступлении больных с абстинентным синдромом в состоянии острой посталкогольной интоксикации все три группы симптомов (сомато-вегетативные, неврологические и психотические) были выражены в одинаковой степени у пациентов 1 и 2 групп ( $3,60 \pm 0,16$  балла и  $3,65 \pm 0,13$  балла, соответственно). Субъективное улучшение у пациентов 2 группы по сравнению с пациентами 1 группы было выявлено уже через 3 суток после начала терапии ( $1,50 \pm 0,14$  балла против  $2,05 \pm 0,04$  балла,  $P < 0,01$ ). Следует подчеркнуть, что больные охотно шли на сотрудничество с врачом при выполнении энтеральной схемы лечения. Спустя 7 дней выраженность симптомов абстинентного синдрома уменьшилась в большей степени у больных, получавших энтеральную схему лечения ( $0,07 \pm 0,04$  балла против  $0,6 \pm 0,11$  балла в контроле,  $P < 0,001$ ).

При лабораторно-биохимических исследованиях такая динамика состояния больных нашла подтверждение. В таблице 10 представлены данные по общим показателям в сыворотке крови больных. Установлено, что при поступлении в больницу в сыворотке крови пациентов было повышено содержание холестерина, триглицеридов, мочевины, билирубина, мочевой кислоты, креатинина, апопротеина А1 и активности ферментов, кроме щелочной фосфатазы. В результате лечения с помощью обеих схем получены однотипные результаты: уменьшение активности АлАТ, АсАТ,  $\gamma$ -ГГТ, Р-амилазы. Энтеральный способ терапии способствовал повышению концентрации альбумина.

Таблица 10

Биохимические показатели сыворотки крови при использовании энтеральной и парэнтеральной схем лечения пациентов с абстинентным синдромом,  $\bar{X} \pm Sx$

Показатель	Группа 2 (основная)		Группа 1 (контроль)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения

Холестерин, ммоль/л	5,84±0,16	4,82±0,18 <sup>1</sup>	5,62±0,16	5,18±0,151 <sup>1</sup>
Холестерин ЛПВП, ммоль/л	1,56±0,05	1,55±0,06	1,60±0,09	1,47±0,059
Триглицериды, ммоль/л	1,53±0,09	1,31±0,165	1,41±0,08	1,64±0,159
Мочевина, ммоль/л	5,74±0,29	5,32±0,225	5,93±0,26	5,33±0,215
Билирубин, мкмоль/л	25,9±1,69	12,0±0,90 <sup>1</sup>	25,3±1,74	14,5±1,46 <sup>1</sup>
Глюкоза, ммоль/л	4,99±0,17	4,91±0,110	5,06±0,25	4,85±0,171
Калий, ммоль/л	4,70±0,12	4,78±0,084	4,69±0,17	4,60±0,096
Мочевая кислота, мкмоль/л	294±15,5	197±14,3 <sup>1</sup>	293±11,3	254±12,8 <sup>1</sup>
Креатинин, мкмоль/л	93,7±4,22	73,3±2,61 <sup>1</sup>	96,5±3,82	84,5±4,98 <sup>1</sup>
Р-амилаза, Е/л	114±10,0	82,1±7,69 <sup>1</sup>	110±9,6	78,5±6,93 <sup>1</sup>
γ-ГТТ, Е/л	128±25,5	55,9±18,2 <sup>1</sup>	121±30,0	64,3±17,0 <sup>1</sup>
АсАТ, Е/л	112±10,6	45,9±5,06 <sup>1</sup>	131±18,6	45,9±6,21 <sup>1</sup>
АлАТ, Е/л	101±10,0	36,0±4,33 <sup>1</sup>	98,4±8,55	39,0±4,80 <sup>1</sup>
ЩФ, Е/л	69,3±2,51	74,5±1,88	69,2±1,88	70,3±1,67
Альбумин, г/л	42,2±1,24	45,7±0,83 <sup>1</sup>	41,4±1,22	42,3±1,04
АпоА1, мг/дл	180±10	136±10,6 <sup>1</sup>	168±8,0	143±11,6 <sup>1</sup>
АпоВ, мг/дл	81,7±9,57	80±4,92	98±5,46	100,2±6,45
Lp(a), мг/дл	31,0±5,59	38,5±3,94	30,6±4,54	31,6±3,87

Примечание: <sup>1</sup> - достоверное отличие по сравнению с исходными данными

Следует подчеркнуть, что обе схемы лечения не привели к полной нормализации исследуемых показателей, в связи с чем необходимо продолжить лечение после выведения больных из состояния абстинентного синдрома.

Можно предположить следующий механизм положительного действия энтерального способа выведения больных из абстинентного синдрома полифепаном и лохеином:

1. Полифепан связывает токсины микроорганизмов кишечника и токсические молекулы, выделившиеся в проксимальных отделах пищеварительного тракта; в результате в дистальных отделах происходит реабсорбция очищенной жидкости, т.е. происходит “промывание” организма без существенного изменения объема крови (что неизбежно при парэнтеральной терапии);

2. Лохеин стимулирует биосинтетические процессы в клетках кишечника и печени, что способствует более быстрому восстановлению биохимических параметров сыворотки крови и проницаемости мембран.

## ВЫВОДЫ

\* Предложенный энтеральный путь выведения больных из абстинентного синдрома у хронических алкоголиков обладает аналогичной эффективностью по сравнению с общепринятой парэнтеральной дезинтоксикационной терапией, но не требует повторяющихся внутривенных и внутримышечных инъекций.

\* Предложенный способ выведения больных из абстинентного синдрома имеет признаки предпочтительности: желание больных применить энтеральный способ лечения, более быстрое субъективное улучшение состояния, некоторые признаки более физиологического действия на молекулярном уровне.

\* Предлагаемым способом можно ограничиться при выведении больного из состояния острой алкогольной интоксикации (лечение 5-7 суток).

\* Предлагаемый способ должен быть этапом в длительной реабилитации больных хроническим алкоголизмом, при которой следует длительно применять препараты из солянки холмовой.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Луняк Н.К., Луняк Ю.С. Проект "Фитос". Защити свою печень! М.: Фитос, 1999, 48 с.
2. Чиркин А.А., Данченко Е.О., Шейбак В.М. Аминокислотный состав препаратов солянки холмовой и их применение для коррекции возрастных изменений метаболизма //Вестник фармации. - 1998. - №4. - С.24-30
3. Chirkin A.A. Alcohol, dyslipoproteinemias and enterosorbents //Alcohol and Alcoholism. - 1997. - Vol. 32, № 3. - P. 369
4. Danchenko E.O., Demin E.S., Lunjak N.K., Chirkin A.A. Enteral way of treatment of acute alcoholic intoxication: a combination of enterosorbent and hepatoprotector //Alcohol and Alcoholism. - 1997. - Vol. 32, № 3. - P. 414

## ГЛАВА 8. ФАРМАКОДИНАМИКА НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ЭКСТРАКТА СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ

Биологическое действие препаратов солянки холмовой, их биостимулирующие эффекты определяются инсулиноподобным и антиоксидантным действием, а также аминокислотным составом (аминокислоты, необходимые для биосинтеза мочевины в печени, и аминокислоты с разветвленными радикалами, необходимые для проявления инсулиноподобного и нейротропного эффектов) [1-4]. Это позволяет рассматривать возможность применения экстракта солянки холмовой и аскохола в качестве эффектив-

ного компонента реабилитации людей в условиях санатория и профилактория (относительно короткие сроки применения). Для этого были разработаны специальные формы пищевых добавок в виде 3% сиропа и аскохола (добавление водорастворимого антиоксиданта витамина С). Целью работы было изучение влияния сиропа солянки холмовой и аскохола на биохимические показатели крови и общее состояние пациентов промышленного санатория-профилактория.

Исследования проведены на базе санатория-профилактория “Летцы”, где проходят реабилитацию и оздоровление работники Витебского отделения Белорусской железной дороги. Под наблюдением были 18 практически здоровых работников: 9 пациентов, которые получали ежедневно 3 раза в день по 15 мл 3% сиропа солянки холмовой с чаем (основная группа) и 9 пациентов, которые получали ежедневно 3 раза в день раствор сиропа шиповника (контрольная группа). Продолжительность приема пищевых добавок 12-14 дней при 18-дневном пребывании в санатории-профилактории. Кроме этого 20 пациентов с гиперхолестеринемией, гипертриглицеридемией, гипергликемией и гиперурикемией получали аскохол по 1 чайной ложке 3 раза в день с чаем (1 чайная ложка - 5 г содержит 50 мг экстракта солянки холмовой и 100 мг витамина С). Контрольную группу составляли 9 аналогичных пациентов, которые получали плацебо с витамином С. Продолжительность лечения составляла 45 дней и лечение осуществлялось в системе поликлиника - санаторий-профилакторий. Все пациенты основной и контрольной групп отбирались, используя принцип рандомизации; состояние их здоровья оценивалось при поступлении и в процессе пребывания в санатории-профилактории (кроме этого привлекались материалы цеховых врачей и поликлинические амбулаторные карты). Все исследования явились элементом оздоровления работников Витебского отделения Белорусской железной дороги в системе производственный участок-поликлиника-стационар-профилакторий. Кровь исследовали с помощью наборов фирмы Кормэй ДиАна на анализаторе Кормэй-Мульти, а также с помощью средств сухой химии на анализаторе Рефлотрон-IV фирмы Роше-Берингер.

### 1. Использование сиропа солянки холмовой

Пациенты основной группы охотно пили напитки с сиропом экстракта солянки холмовой (особенно, если сироп разбавлялся газированной водой). Ни один из пациентов не указал на негативные ощущения, связанные с приемом напитков с сиропом. Объективно отмечено улучшение психоэмоционального и соматического состояния пациентов основной группы, аналогичное таковому у лиц, принимавших сироп шиповника или находившихся в условиях общего оздоровления в санатории-профилактории.

Результаты биохимических исследований представлены в таблице 11.

Таблица 11

Применение сиропа с экстрактом солянки холмовой для коррекции метаболизма в условиях санатория-профилактория ( $X \pm \delta$ )

Показатель	Здоровые лица	Основная группа		Контрольная группа	
		До	После	До	После
Общий ХС	4,69±0,63	5,58±0,74	4,90±0,60 <sub>1</sub>	5,39±0,47	5,46±0,47
ХС ЛПВП	1,29±0,32	1,41±0,23	1,45±0,25	1,28±0,28	1,24±0,26
ХС ЛПНП	2,83±0,55	3,44±0,68	2,69±0,40 <sub>1</sub>	3,49±0,71	3,58±0,70
ТГ	1,11±0,55	1,57±0,88	1,65±0,52	1,29±0,53	1,41±0,56
ИА	3,38±2,41	3,04±0,81	2,44±0,46 <sub>2</sub>	3,40±1,15	3,60±1,11
Креатинин	88,2±18,39	99,3±22,7	94,9±24,7	82,1±34,7	93,7±18,2
Мочевина	5,76±1,40	5,56±1,08	6,07±1,39	5,34±1,45	4,99±1,39
Глюкоза	4,78±0,65	5,31±0,76	4,76±0,35 <sub>2</sub>	5,20±0,99	5,24±0,90
Общий белок	68,78±3,76	69,7±3,39	68,5±5,68	71,5±2,05	71,8±2,53
Альбумин	42,34±9,90	44,0±2,37	44,8±2,52	44,9±3,33	45,1±3,20
Урат	259,6±52,6	286±86,7	291±74,8	280±63,3	267±51,2
Билирубин	11,73±2,73	11,0±1,95	8,35±1,95 <sub>2</sub>	9,0±4,08	9,6±3,20
ГГТ	30,4±24,5	27,6±15,6	31,2±18,2	43,6±27,1	42,5±24,9
ЩФ	84,6±16,9	78,0±16,5	77,8±23,5	76,4±21,0	77,6±16,6
АсАТ	28,6±10,12	27,9±9,8	26,6±4,3	34,3±5,6	35,1±5,4
АлАТ	22,1±14,31	19,7±7,42	22,2±9,18	23,0±6,18	23,1±5,31

Примечание: <sup>1</sup> - если  $P < 0,05$ ; <sup>2</sup> - если  $P = 0,1 - 0,05$

Анализ данных таблицы показал, что до лечения биохимические профили сыворотки крови пациентов основной и контрольной групп были идентичными. Эти пациенты отличались от практически здоровых людей более высоким содержанием холестерина, холестерина ЛПНП и глюкозы. Эти особенности биохимического спектра обследованных пациентов можно связать с характером их работы на железнодорожном транспорте (хроническое нервно-психическое напряжение).

За время пребывания в санатории-профилактории биохимические параметры у лиц контрольной группы не претерпели изменений, а у пациентов основной группы обнаружено достоверное уменьшение содержания

общего холестерина и холестерина ЛПНП. По всей видимости, аминокислоты с разветвленными радикалами способствуют более эффективному снятию стрессовых нагрузок, что через снижение концентрации холестерина ЛПНП обеспечивает уменьшение общего холестерина.

Полученные сдвиги обеспечили некоторое уменьшение величины индекса атерогенности ( $P=0,1-0,05$ ). Кроме этого обнаружено, что солянка холмовая в виде сиропа при 12-14-дневном применении вызвала тенденцию ( $P=0,1-0,05$ ) к снижению уровней глюкозы и билирубина, что может рассматриваться как проявления инсулиноподобного и гепатопротекторного эффектов пищевой добавки.

Таким образом, можно считать целесообразным введение сиропа солянки холмовой в комплекс реабилитационных мероприятий в условиях промышленного санатория-профилактория по следующим позициям:

- отсутствие негативных субъективно и объективно регистрируемых эффектов от приема пищевой добавки;
- снижение уровня общего холестерина за счет холестерина ЛПНП как проявление антистрессорного действия;
- нормализация уровня глюкозы в результате проявления инсулиноподобного эффекта солянки холмовой;
- тенденция к снижению билирубинемии в результате гепатотропного действия пищевой добавки.

## 2. Использование аскохола

Аскохол применен у пациентов, имеющих признаки метаболического синдрома Х на протяжении 45 дней. Все больные отмечали хорошую переносимость пищевой добавки, отсутствие негативных ощущений и иных проявлений отрицательного действия аскохола. Биохимические показатели сыворотки крови этих пациентов представлены в таблице 12.

Исходные данные у пациентов основной и контрольной групп до лечения были одинаковыми: по сравнению со здоровыми лицами у них было повышено содержание общего холестерина, триглицеридов, глюкозы мочевой кислоты, билирубина, а также активности в сыворотке крови ГГТ, АсАТ и АлАТ. Эти изменения напоминали таковые при метаболическом синдроме Х. 45-дневное применение плацебо не привело к достоверным изменениям биохимических показателей сыворотки крови у пациентов контрольной группы. Применение аскохола у пациентов основной группы достоверно уменьшило содержание глюкозы и билирубина, вызвало тенденцию к уменьшению количества мочевой кислоты ( $P=0,1-0,05$ ), а также к достоверному увеличению содержания мочевины. Кроме этого, аскохол обеспечил достоверное уменьшение активности в сыворотке крови ГГТ и АсАТ, а также тенденцию к уменьшению активности щелочной фосфата-

зы и АлАТ. У этой категории пациентов препарат не повлиял на показатели липидтранспортной системы сыворотки крови.

Таблица 12

Влияние аскохола на биохимические показатели сыворотки крови людей ( $X \pm \delta$ ).

Показатель	Здоровые лица	Основная группа		Контрольная группа	
		До	После	До	После
Общий ХС	4,69±0,63	5,66±0,91	5,69±0,94	5,43±0,94	5,43±0,92
ХС ЛПВП	1,29±0,32	1,20±0,28	1,24±0,25	1,04±0,22	1,02±0,21
ХС ЛПНП	2,83±0,55	3,19±1,02	3,50±1,05	3,51±1,08	3,44±0,95
ТГ	1,11±0,55	2,77±1,84	2,01±0,32	2,19±1,18	2,11±1,06
ИА	3,38±2,41	4,06±1,83	3,79±1,51	4,71±1,48	4,46±1,18
Креатинин	88,2±18,4	107,2±39,8	90,5±20,7	104±15,6	99,8±13,7
Мочевина	5,76±1,40	5,35±1,65	6,55±1,26 <sub>1</sub>	6,02±1,99	5,95±1,56
Глюкоза	4,78±0,65	6,57±1,71	5,65±0,62 <sub>1</sub>	6,20±1,67	5,97±1,31
Общий белок	68,78±3,76	78,43±5,55	76,8±6,18	72,3±4,11	72,5±4,24
Альбумин	42,34±9,90	47,8±1,96	47,9±3,48	44,2±2,71	44,4±2,35
Урат	259,6±52,6	433,7±170	358±89,2 <sup>2</sup>	367±85,6	340±72,5
Билирубин	11,73±2,73	16,13±5,07	11,2±3,09 <sub>1</sub>	15,0±2,99	13,7±2,57
ГГТ	30,4±24,5	75,4±43,6	48,2±27,4 <sub>1</sub>	86,6±77,4	72,8±50,9
ЩФ	84,6±16,9	95,0±21,6	80,3±20,2 <sub>2</sub>	99,5±45,7	87,5±28,8
АсАТ	28,6±10,12	66,1±48,7	40,5±19,8 <sub>1</sub>	51,6±40,8	47,4±30,5
АлАТ	22,1±14,31	77,6±86,3	39,5±32,1 <sub>2</sub>	52,5±41,6	41,4±23,4

Примечание:<sup>1</sup> - если  $P < 0,05$ ; <sup>2</sup> - если  $P = 0,1 - 0,05$

Таким образом, применение аскохола у пациентов с проявлениями метаболического синдрома Х целесообразно по следующим позициям:

- снижение уровня глюкозы в крови за счет инсулиноподобного действия;
- повышение содержания мочевины и уменьшение уровня билирубина в сыворотке крови как проявление гепатотропного действия препарата;
- тенденция к нормализации активности ферментов сыворотки крови в результате позитивного мембранотропного действия пищевой добавки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Венгеровский А.И., Чучалин В.С., Седых И.М., Саратиков А.С. Гепато-защитные свойства экстракта из надземной части *Salsola collina* Pall. // Растительные ресурсы. - 1989. - в.1. - С.575-580
2. Саратиков А.С., Венгеровский А.И., Чучалин В.С., Седых И.М. и др. Гепатозащитные свойства солянки холмовой // Химико-фармацевтический журнал. - 1990. - №6. - С.38-40
3. Семенов А.А., Чупин С.П., Кузнецов Э.Э. и др. Перспективы изучения лекарственных растений Восточной Сибири // Бюл. СО АМН СССР. - 1982. - №4. - С.41-46
4. Чиркин А.А., Данченко Е.О., Шейбак В.М. Аминокислотный состав препаратов солянки холмовой и их применение для коррекции возрастных изменений метаболизма // Вестник фармации. - 1998. - №4. - С.24-30



## ОТЧЕТ

### об изучении сапецифической активности и токсичности экстракта травы солянки холмовой

В конце 80-х и начале 90-х годов группой сибирских ученых были проведены фундаментальные исследования химического состава, специфической активности и токсичности препарата из солянки холмовой (А.И. Венгеровский, А.С.Саратиков, А.А.Семенов, В.С.Чучалин, И.М.Седых и др.).

1. Были изучены структурно-метаболические показатели печени при ее токсическом поражении тетрахлорметаном (1,25 мг/кг в 50% масляном растворе 4 дня), D-галактозамином (500 мг/кг в 5% водном растворе 2 дня), парацетамолом (2500 мг/кг в виде 20% водной суспензии 2 дня), этанолом (15 мл/кг 40% раствора 7 дней). Оценивали выживаемость животных, длительность сна после внутрибрюшинного введения гексенала в дозе 60 мг/кг, морфологические, биохимические и гистохимические изменения. В качестве препарата сравнения использовали водную суспензию силибинина (“Карсил”, Болгария). Препараты ЭСХ и силибинин вводили интрагастрально в дозах 200 мг/кг одновременно с гепатотоксинами.

При тетрахлорметановом поражении печени выявлены дисконкомплексация печеночных балок, отек вокруг синусоидных пространств, лимфоидно-гистиоцитарные инфильтраты. Количество центролобулярных погибших гепатоцитов достигало 6% (в норме 0,9%). Нейтральный жир накапливался в виде крупных капель, заполняющих цитоплазму клеток во всех отделах долек. Препараты ЭСХ и силибинин примерно в одинаковой степени препятствовали развитию стеатоза и нарушению активности ферментов печеночной паренхимы. Экстракт солянки холмовой уменьшал количество погибших гепатоцитов до 1,6%, а силибинин - до 2,2%. Поражение печени D-галактозамином характеризовалось снижением активности дегидрогеназ цикла трикарбоновых кислот в 2,6-3,1 раза, оксibuтиратдегидрогеназы в 2,2 раза, глюкозо-6-фосфатазы в 3,3 раза. Применение препаратов препятствовало этим изменениям, обеспечивая изменение их активности не более, чем на 24%. Парацетамол снижал также активность ферментов печени в среднем в 2 раза и приводил к некрозу центролобулярных гепатоцитов до 3,4%. Оба гепатопротектора примерно в равной степени предотвращали эти изменения. Аналогичные изменения были зарегистрированы и при алкогольном поражении печени и применении гепатопротекторов. При всех моделях токсиче-

ского поражения печени экстракт солянки холмовой и силибинин сохраняли содержание РНК, белка, сульфгидрильных групп и гликогена. Гексеналовый сон у леченых животных продолжался 21-34 мин, тогда как при интоксикации тетрахлорметаном, D-галактозамином, парацетамолом он удлинялся до 27-56 мин.

Аналогичные эксперименты были проведены проф. F.Leuschner на крысах Sprague-Dawley (контроль - введение гидроксипропилметилцеллюлезного геля, опыт - однократное введение 10 мл 2% тетрахлорметана на 1 кг массы тела, лечение - экстракт солянки холмовой 200 мг/кг и 400 мг/кг 4 дня и группа сравнения - введение силимарина 73,2%/кг 4 дня). По сравнению с животными, которым вводили тетрахлорметан, силимарин оказал нормализующее действие на продолжительность тиопенталового сна, содержание холестерина ЛПНП, триглицеридов, глюкозы и активность АЛАТ, АсАТ и лактатдегидрогеназы. Препарат ЭСХ в той же дозе был значительно более эффективным, поскольку было выявлено нормализующее действие на продолжительность тиопенталового сна, содержание общего холестерина, холестерина ЛПВП и ЛПНП, триглицеридов, билирубина и глюкозы, а также активность глутатионредуктазы, АЛАТ, АсАТ, щелочной фосфатазы и лактатдегидрогеназы. При более высокой дозе препарата было выявлено его гипогликемическое действие на фоне тетрахлорметановой интоксикации.

Исследованные сибирскими учеными гепатопротекторы (экстракт солянки холмовой и силибинин) улучшали экскреторную функцию печени и уменьшали синдром цитолиза гепатоцитов. В сыворотке крови крыс, затравленных тетрахлорметаном, ретенция бромсульфалеина (БСФ) возрастала в 4 раза, активность урокиназы - в 25 раз, АЛАТ - в 8,6 раза, АсАТ - в три раза, печеночных изоферментов ЛДГ - в 2 раза. Содержание общего билирубина было увеличено в 3,8 раза, билирубина-глюкуронида - в 1,9 раза, а отношение конъюгированного билирубина к общему снижалось до 41% при норме 81%. Оба гепатопротектора оказывали положительное влияние на активность ферментов в сыворотке крови. Экстракт солянки холмовой достоверно эффективнее силибинина препятствовал увеличению в сыворотке крови содержания общего билирубина и в отличие от силибинина уменьшал содержание билирубина-глюкуронида. Связывание билирубина с глюкуроновой кислотой оба гепатопротектора повышали до 71%.

Антирадикальную активность препарата ЭСХ определяли по интенсивности окисления кумола в присутствии ингибитора азо-бис-изобутиронитрила и по связыванию устойчивого свободного радикала  $\alpha$ -дифенил- $\beta$ -пикрилгидраза. Оказалось, что экстракт солянки холмовой содержит большое количество ингибиторов свободнорадикальных реакций (0,17 моль/кг) с высокой функциональной активностью  $K_7$  ( $8,0 \times 10^4$  л/моль  $\times$  сек). Эти ингибиторы обладали способностью быстро связывать устойчивый

свободный радикал. В связи с этим одним из вероятных механизмов действия экстракта солянки холмовой при тетрахлорметановой интоксикации может быть угнетение процессов перекисного окисления липидов в печени. При введении тетрахлорметана в печени увеличено содержание диеновых конъюгатов в 2,5 раза, оснований Шиффа - в 3,5 раза, скорость образования  $Fe^{2+}$ -аскорбат и НАДФН-зависимого МДА - в 3,7 раза на фоне дефицита восстановленного глутатиона и сниженной активности глутатионредуктазы и антирадикальной активности липидов. При этом виде интоксикации экстракт солянки холмовой превосходил силибинин по способности предотвращать накопление диеновых конъюгатов и оснований Шиффа и несколько в большей степени, чем силибинин, ингибировал продукцию МДА, повышая концентрацию восстановленного глутатиона, активности глутатионредуктазы и антирадикальной активности липидов.

Для оценки антитоксической функции печени при тетрахлорметановой интоксикации оценивали метаболические процессы в микросомальной фракции печени. Одним из наиболее ярких проявлений повреждающего действия тетрахлорметана явилось угнетение антитоксической функции гепатоцитов: в микросомальной фракции печени затравленных животных содержание РНК снижалось в 1,6 раза, цитохрома Р-450 - в 1,9 раза, цитохрома  $b_5$  - в 1,7 раза, преобладал функционально инертный цитохром Р-420, уменьшалась как активность ферментов, осуществляющих окисление ксенобиотиков - амидопирин-N-деметилазы, гидроксилазы гексобарбитала, анилин-n-гидроксилазы, так и фермента второй стадии биотрансформации ксенобиотиков - глутатион-S-трансферазы, замедлялось окисление НАДФН и НАДН, умеренно возрастала активность НАДФН:ДХФИФ-, НТ- и цитохром-с-редуктаз, значительно повышалась активность феррицианидредуктазы. Цитохром Р-450 становился малостабильным и быстро подвергался тепловой инактивации. Степень его инактивации достигала 119,4% (в норме - 13,6%), поскольку через 30 мин цитохром Р-420 становился доминирующей формой гемопротеидов. Период полуинактивации цитохрома Р-450 укорачивался до 1,6 мин, а у интактных крыс он превышал срок наблюдения. Оба гепатопротектора препятствовали снижению концентрации микросомальной РНК, образованию цитохрома Р-420, ингибированию анилин-n-гидроксилазы и глутатион-S-трансферазы, ускоряли окисление НАДН, нормализовали активность НТ-редуктазы. Препарат ЭСХ оказался более эффективным, чем силибинин, при защите антитоксической функции печени..

В специальных экспериментах было показано, что препарат ЭСХ в дозе 100 мг/кг и его компоненты - алкалоиды (4 мг/кг), соли фенолкарбоновых кислот (20 мг/кг), стеринные гликозиды (5 мг/кг) и бетаин (10 мг/кг) примерно в равной степени защищают печень от повреждающего действия тетрахлорметана.

2. Острая токсичность препарата солянки холмовой: в дозах до 10000 мг/кг внутриастрально и внутробрюшинно в форме водного раствора препарат ЭСХ не вызывает гибель мышей, крыс и кроликов в течение 2-х недель наблюдения. У животных не были нарушены координация движений, сохранялись рефлексы и не происходило угнетения дыхания.

3. Хроническая токсичность была оценена в экспериментах на крысах: животным в течение 6 месяцев интрагастрально вводили препарат ЭСХ в дозах до 700 мг/кг. За период наблюдения не было отмечено гибели животных и отклонений в развитии, массе тела и поведении. У животных не было обнаружено негативного влияния на содержание гемоглобина, количество эритроцитов и лейкоцитов; параметры ЭКГ; состояние ЦНС по тестам суммарно-порогового показателя и "открытого поля"; функцию печени по коэффициенту ретенции БСФ, активности сывороточных щелочной фосфатазы, АЛАТ и АСАТ и антитоксической функции по содержанию цитохрома Р-450, активности амидопирин-N-деметилазы, анилин-n-гидроксилазы; функцию почек по величине суточного диуреза, рН, наличию сахара, белка и креатинина в моче. У всех животных при вскрытии не обнаружены макроскопические и микроскопические нарушения во внутренних органах. Кроме этого хроническая активность экстракта солянки холмовой была оценена в экспериментах на 4-х собаках, которым в течение 6 месяцев скармливали таблетки препарата ЭСХ в дозе 100 мг на животное. Как и в экспериментах на крысах, препарат ЭСХ не вызвал никаких отклонений в поведении, общем состоянии и развитии собак. На протяжении всего эксперимента количественный и качественный состав крови собак не претерпевал существенных изменений. При патоморфологическом обследовании после завершения эксперимента в органах собак не было найдено макроскопических и микроскопических отклонений от нормы.

Таким образом, можно сделать заключение, что препарат экстракта солянки холмовой не обладает токсичностью в опытах, когда дозы препарата ЭСХ превышают рекомендуемые для человека на 1 кг массы при введении крысам в 140-490 раз, а при введении собакам в 9,3 раза [1, 2, 3].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Венгеровский А.И., Чучалин В.С., Седых И.М., Саратиков А.С. Гепатопротективные свойства экстракта из наземной части *Salsola collina* Pall. // Растительные ресурсы - 1989. - №1. - С.575-580

2. Саратиков А.С., Венгеровский А.И., Чучалин В.С. и др. Гепатопротективные свойства солянки холмовой // Химико-фармацевтический журнал. - 1990. - №6. - С.38-40

3. Семенов А.А., Чупин С.П., Кузнецов Э.Э. и др. Перспективы изучения лекарственных растений Восточной Сибири // Бюл. СО АМН СССР. - 1982. - №4. - С.41-46

