

УДК 615.322:615.244:615.015.35

ЭКСТРАКТ КУКУРУЗЫ СТОЛБИКОВ С РЫЛЬЦАМИ СУХОЙ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ СРЕДСТВО ТЕРАПИИ ТОКСИЧЕСКИХ ГЕПАТИТОВ

© 2012 Л.Г. Дворникова, В.Ф. Турецкова, С.В. Замятина, О.Н. Мазко,
А.Г. Золовкина, И.В. Смирнов, Ю.Н. Щербаков, Н.Л. Волобой

Алтайский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 10.07.2012

В результате комплекса проведенных исследований установлено, что экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой является малоопасным веществом и обладает гепатопротекторным действием (в дозировке 100 мг/кг массы крысы), одним из механизмов действия которого является антиоксидантная активность. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности разработки на основе экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого препарата для лечения токсических заболеваний печени.

Ключевые слова: *экстракт сухой, кукурузы столбики с рыльцами, острая токсичность, гепатопротектор, токсический гепатит, антиоксидант*

На современном этапе развития общества отмечается мощное антропогенное воздействие на биосферу и человека. С воздухом, водой, пищей в организм человека попадают различные ксенобиотики, оказывающие неблагоприятное влияние на здоровье людей, следствием чего является широкое распространение во всем мире заболеваний печени, в том числе и токсической этиологии. Так, болезнями печени и желчевыводящей системы в Сибирском федеральном округе страдает в среднем более 2500 человек на каждые 100 тыс. населения [6]. Следует отметить, что ксенобиотики под действием цитохрома Р-450 превращаются в свободные радикалы и электрофильные интермедиа-ты, которые оказывают повреждающий эффект на гепатоциты, поэтому при терапии токсических гепатитов рационально использование гепатопротекторных препаратов, в основе механизма действия которых лежит антиоксидантная активность [2].

Дворникова Любовь Габдулбариевна, аспирантка. E-mail: lioubov.dv@mail.ru

Турецкова Вера Феопеновна, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармацевтической технологии

Замятина Светлана Владимировна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры фармакологии

Мазко Олеся Николаевна, ассистент кафедры фармакогнозии и ботаники

Золовкина Анна Геннадьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики

Смирнов Иван Владимирович, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники

Щербаков Юрий Николаевич, преподаватель кафедры фармакогнозии и ботаники

Волобой Нина Леонидовна, преподаватель кафедры фармакогнозии и ботаники

К группе гепатопротекторов - антиоксидантов, прежде всего, относятся лекарственные средства на основе растительных полифенолов, такие как Карсил, Силибор, Лив-52, ассортимент которых представлен в основном препаратами зарубежного производства, что свидетельствует об актуальности разработки и внедрения в фармацевтическую практику новых препаратов растительного происхождения из сырья, заготовленного в России [4]. В указанном аспекте представляет интерес кукуруза обыкновенная (*Zea mays L.*) – однолетнее травянистое растение семейства злаковые. Кукуруза выращивается как кормовая и зерновая культура во всем мире, в том числе и в Алтайском крае. Официальным лекарственным сырьем кукурузы обыкновенной являются столбики с рыльцами, содержащие комплекс фенольных соединений (флавоноиды, фенолокислоты, дубильные вещества). В настоящее время на фармацевтическом рынке России имеется только один препарат из указанного вида сырья – экстракт кукурузных рылец жидкий. Следует отметить, что в состав данного экстракта входит спирт этиловый 70%, применение которого при гепатитах нецелесообразно. С целью устранения вышеизложенного недостатка на кафедре фармацевтической технологии была разработана технология получения экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого методом многоступенчатого противоточного экстрагирования с последующей вакуумной сушкой [5].

Цель работы: изучение острой токсичности, гепатопротекторной и антиоксидантной активностей экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого.

Материалы и методы. Объектом исследования являлся экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой, полученный по технологии, разработанной на кафедре фармацевтической

технологии АГМУ, который представлял собой сыпучий порошок тёмно-коричневого цвета, специфического запаха, сладковатого вкуса, растворимый в воде и спирте этиловом 60%. Содержание флавоноидов в экстракте составляло $1,62 \pm 0,02\%$, фенолоксиглот – $4,31 \pm 0,09\%$, потеря в массе при высушивании – $3,44 \pm 0,17\%$ [7].

Эксперименты *in vivo* проводились в зимне-весенний период на сертифицированных животных обоего пола (крысы линии Wistar и нелинейные белые мыши), предоставленных Институтом цитологии и генетики СО РАН. Животные находились в стандартных условиях содержания при естественном световом режиме, свободном доступе к воде и пище. Эксперименты проводились в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ № 708н от 23.08.2010 г.). Опыты по изучению острой токсичности проводили на крысах массой тела 230-250 г и на мышках массой 19-21 г. Животные каждого вида были разделены на 3 группы по 5 самок и 5 самцов в каждой. Препарат вводили в дозах 3000, 5000, 7000 мг/кг для крыс и 7000, 11700 и 16300 мг/кг для мышей в виде водного раствора в 2-3 приема в течение 6 часов. Токсическое воздействие исследуемого препарата оценивали по клинической картине интоксикации и выживаемости животных в течение 14 дней. Массу тела животных регистрировали до введения препарата и на 14 сутки наблюдения [8].

Изучение гепатопротекторной активности проводили на крысах массой 195-245 граммов. Экспериментальный острый гепатит вызывали путем внутрижелудочного введения животным 1 мл 25% масляного раствора тетрахлорметана в течение 6 суток. Экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой (в дозировках 100 и 200 мг/кг) и препарат сравнения – Легалон (200 мг/кг) вводили перорально в виде суспензии в 2% крахмальном клеестере 1 раз в сутки в течение 21 дня после формирования модельной патологии. На 28 день эксперимента крыс под легким эфирным наркозом забивали декапитацией с последующим забором биоматериалов (кровь, печень) для исследований [8]. Для первичной оценки гепатопротекторной активности использовали скрининговые тесты: определяли выживаемость животных, изменение массы тела и коэффициент массы печени. С целью более углубленного изучения влияния экспериментальных препаратов на течение гепатита оценивали биохимические показатели крови крыс, характеризующие функции печени [8]. Уровни глюкозы, альбумина, общего билирубина, общего холестерина, триглицеридов и мочевины в сыворотке крови животных определяли фотометрически с помощью наборов реактивов фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Активность ферментов аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) и

щелочной фосфатазы (ЩФ) определяли фотометрическим кинетическим методом с использованием наборов фирмы «Human, GmbH» (Германия).

Для определения общей антиоксидантной (ОАА) и общей прооксидантной (ОПА) активности *in vitro* использовали 2% и 4% водные растворы экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого. ОАА оценивали по способности препарата подавлять Fe^{2+} /аскорбат-индуцированное окисление твин-80 в модельной системе с последующим колориметрическим измерением продуктов окисления твин-80, ассоциированных с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). ОПА определяли по способности препарата индуцировать окисление твин-80 [1].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программного обеспечения Statistica 6.1. Данные представлены в виде среднего значения (M) и стандартной ошибки среднего значения (m). Соответствие выборок закону нормального распределения оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Для проверки статистических гипотез о различии между исследуемыми группами использовали критерии Манна-Уитни, Стьюдента и Уилкоксона. Исследуемые показатели контрольной группы оценивали по сравнению с показателями интактных животных, показатели других групп – по сравнению с контрольными животными.

Результаты и их обсуждение. В эксперименте по изучению острой токсичности выявлено, что при внутрижелудочном введении экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого в максимально допустимых дозах мышам (7000, 11700 и 16300 мг/кг) и крысам (3000, 5000, 7000 мг/кг) симптомы острого отравления отсутствовали. В первые сутки отмечалось некоторое разжижение фекальных масс, возможно связанное с желчегонным действием изучаемого препарата, а также снижение потребности животных в воде в связи с большими объемами введения препарата в виде водного раствора. В последующие дни все животные были активны, обладали нормальной координацией движений, стандартной реакцией на внешние раздражители, обычной частотой и глубиной дыхательных движений, нормальной консистенцией фекальных масс, частотой мочеиспускания и окраской мочи, имели хороший аппетит и нормальный внешний вид. Результаты опытов не позволили определить LD_{50} изучаемого препарата, так как в течение 14 суток эксперимента гибели животных не было отмечено. Прирост массы тела в среднем составил у крыс $60,07 \pm 1,18$ г, у мышей – $5,68 \pm 0,37$. Согласно полученным результатам изучаемый экстракт отнесен к IV классу опасности (малоопасные вещества) [3].

Обобщенные данные опытов по определению гепатопротекторной активности изучаемого экстракта представлены в таблице, из которой видно, что развитие токсического гепатита у животных контрольной группы характеризовалось

снижением выживаемости до 73,3% (в интактной группе – 100%), снижением массы тела (в среднем на 15%) и увеличением коэффициента массы печени (на 19,4%). Интоксикация тетрахлорметаном сопровождалась гиперферментемией, свидетельствующей о разрушении гепатоцитов и развитии холестаза, а также увеличением в сыворотке крови

контрольных животных содержания холестерина, триглицеридов, мочевины и билирубина (до $1,74 \pm 0,19$; $1,73 \pm 0,25$; $5,15 \pm 0,40$ и $6,25 \pm 0,90$ ммоль/л соответственно) и снижением концентрации глюкозы и альбумина по сравнению с интактной группой на 35% и 32% соответственно.

Таблица. Влияние экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого на течение экспериментального острого токсического гепатита

Показатель	Группа наблюдения				
	интактная	контрольная	экстракт 100 мг/кг	экстракт 200 мг/кг	легалон 200 мг/кг
Скрининговые тесты					
выживаемость, %	100,0	73,3	100,0	100,0	100,0
коэффициент массы печени, мг/г	$33,5 \pm 0,50$	$40,0 \pm 1,05$	$35,3 \pm 1,05$	$34,3 \pm 1,26$	$33,7 \pm 1,16$
изменение массы тела, г	+ 15,0	- 30,0	+ 60,0	+51,0	+ 30,0
Биохимические показатели					
АЛТ, Е/л	$58,6 \pm 3,9$	$110,4 \pm 8,1^*$	$78,0 \pm 5,4^*$	$93,9 \pm 3,7$	$74,8 \pm 6,3^*$
АСТ, Е/л	$196,6 \pm 6,0$	$312,6 \pm 27,9^*$	$274,0 \pm 11,4$	$286,0 \pm 13,1$	$303,3 \pm 19,0$
ЩФ, Е/л	$374,0 \pm 18,4$	$645,6 \pm 45,8^*$	$393,2 \pm 27,2^*$	$438,0 \pm 17,1^*$	$469,4 \pm 53,4^*$
ГГТ, Е/л	$2,28 \pm 0,67$	$3,36 \pm 1,48$	$2,65 \pm 0,64$	$4,53 \pm 0,93$	$2,02 \pm 0,46$
глюкоза, ммоль/л	$7,70 \pm 0,45$	$5,00 \pm 0,28^*$	$4,81 \pm 0,69$	$5,70 \pm 0,39$	$5,36 \pm 0,23$
альбумин, г/л	$69,5 \pm 0,7$	$47,1 \pm 3,6^*$	$53,5 \pm 1,4$	$47,2 \pm 1,4$	$37,1 \pm 2,9^*$
билирубин, мкмоль/л	$4,03 \pm 0,66$	$6,25 \pm 0,90$	$6,28 \pm 1,41$	$5,61 \pm 1,24$	$5,90 \pm 0,48$
холестерин, ммоль/л	$1,42 \pm 0,10$	$1,74 \pm 0,19$	$0,55 \pm 0,12^*$	$0,66 \pm 0,08^*$	$1,13 \pm 0,13$
триглицериды, ммоль/л	$1,60 \pm 0,06$	$1,73 \pm 0,25$	$0,72 \pm 0,04^*$	$0,76 \pm 0,07^*$	$1,60 \pm 0,27$
мочевина, ммоль/л	$4,66 \pm 0,34$	$5,15 \pm 0,40$	$3,22 \pm 0,22^*$	$2,61 \pm 0,23^*$	$3,96 \pm 0,12^*$

Примечание: * различия статистически значимы при $p < 0,05$

Представленные в таблице данные свидетельствуют о том, что исследуемый препарат и препарат сравнения Легалон ослабляли гепатотоксическое действие тетрахлорметана: выживаемость крыс повысилась до 100%; масса тела животных увеличилась на 30-60 г; коэффициент массы печени снизился в среднем на 15%. В группе животных, получавших экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой в дозировке 100 мг/кг, наблюдалось статистически значимое снижение активности АЛТ, ГГТ и ЩФ по сравнению с показателями контрольной группы (на 29%, 21% и 39% соответственно), сопоставимое с препаратом сравнения (32%, 39% и 27% соответственно). Активность АСТ в сыворотке крови животных, получавших экстракт в указанной дозировке, по сравнению с данным показателем контрольных животных снижалась, однако статистически значимых различий выявлено не было. Применение экстракта в большей дозировке (200 мг/кг) не приводило к статистически значимому снижению активности АЛТ, АСТ и ЩФ по сравнению с контрольной группой, и сопровождалось еще большим увеличением активности ГГТ до $4,53 \pm 0,93$ Е/л (в контрольной группе – $3,36 \pm 1,48$ Е/л).

Введение крысам экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого в дозировке 100 мг/кг привело к снижению уровней холестерина, триглицеридов и мочевины в плазме крови по сравнению с контрольной группой на 68%, 58% и 37% соответственно. У крыс, получавших изучаемый экстракт в дозировке 200 мг/кг, частично восстанавливался уровень глюкозы (до $5,70 \pm 0,39$ ммоль/л). Во всех случаях действие экспериментального препарата было сопоставимо или превышало эффект Легалона. При этом введение экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого практически не повлияло на уровни альбумина и билирубина, однако восстановления данных показателей не наблюдалось и в группе животных, принимавших препарат сравнения.

При определении антиоксидантной активности *in vitro* 2% раствор экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого проявил антиоксидантную активность, подавив Fe^{2+} /аскорбат-индуцированное окисление твин-80 на $46,0 \pm 1,10\%$ (ОАА). В этой же концентрации препарат индуцировал окисление твин-80 на $22,0 \pm 2,54\%$ (ОПА). С увеличением концентрации экстракта в растворе до 4% ОАА снизилась в 3,8 раза и составила $12,2 \pm 2,43\%$. При этом

ОПА, наоборот, увеличилась до $49,5 \pm 1,78\%$, т.е. в 2,2 раза. Следует отметить, что полученные *in vitro* результаты согласуются с результатами опытов *in vivo*, в которых большую эффективность проявляет экстракт в дозировке 100 мг/кг. Ухудшение большинства биохимических показателей экспериментальных животных с увеличением дозировки экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого, по-нашему мнению, может быть обусловлено значительным повышением прооксидантной активности.

Выводы: в результате проведенных экспериментов выявлено, что экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой является малоопасным веществом и проявляет гепатопротекторные свойства при экспериментальном остром токсическом гепатите, вызванном тетрахлорметаном, в основе механизма действия которых лежит антиоксидантная активность, подтвержденная в опыте *in vitro*. Полученные данные могут быть положены в основу создания препарата для терапии заболеваний печени токсической этиологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Брюханов, В.М. Влияние культуры клеток маакии амурской на течение экспериментального нефролитиаза / В.М. Брюханов и др. // Бюллетень СО РАМН. 2010. Т. 30. №5. С. 125-132.
2. Венгеровский, А.И. Фармакологические подходы к регуляции функций печени // Бюллетень сибирской медицины. – Томск, 2002. Т.1. С. 25-29.
3. ГОСТ 12.1.007-76. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. Введ. 1977-01-01. – М.: Стандартиформ, 2007. 7 с.
4. Государственный реестр лекарственных средств. Официальное издание Министерства здравоохранения и медицинской промышленности Российской Федерации. – М., 2009. Т1. Ч1. 642 с.
5. Дворникова, Л.Г. Установление оптимальных параметров экстрагирования биологически активных веществ из кукурузы столбиков с рыльцами / Л.Г. Дворникова, В.Ф. Турецкова // Актуальные вопросы фармацевтической науки и образования: материалы межрег. научн. конференции с международ. участием, посвящ. 70-летию фарм. факультета СибГМУ. – Томск, 2011. С. 49-53.
6. Заболеваемость населения России в 2009 году: стат. мат.: в 3 ч. / Минздравсоцразвития РФ, Департамент развития мед. помощи и курортного дела, ФГУ «ЦНИИ организации и информатизации здравоохранения» Росздрава. – М., 2010. Ч. 2. 170 с.
7. Николаева, Н.В. Исследование стандартизации экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого / Н.В. Николаева, Л.Г. Дворникова, В.Ф. Турецкова // Актуальные проблемы фармакологии и фармации. – Барнаул, 2011. Вып. VIII. С. 149-154.
8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. П.У. Хабриева. 2-е изд. – М.: Медицина, 2005. 832 с.

CORN COLUMNS SILK DRY EXTRACT AS POTENTIAL MEANS OF TOXIC HEPATITISES THERAPY

© 2012 L.G. Dvornikova, V.F. Turetskova, S.V. Zamyatina, O.N. Mazko, A.G. Zolovkina, I.V. Smirnov, Yu.N. Shcherbakov, N.L. Voloboy

Altay State Medical University

As a result of complex carried-out researches it is established that corn columns silk dry extract is low-dangerous substance and possesses hepatoprotective action (in a dosage of 100 mg/kg of rat weight), one of which mechanisms of action is antioxidative activity. The obtained data testify to expediency of development on the basis of corn columns silk dry extract the preparation for liver toxic diseases treatment.

Key words: *extract dry, corn columns silk, sharp toxicity, hepatoprotector, toxic hepatitis, antioxidant*

Lyubov Dvornikova, Post-graduate Student. E-mail: liubov.dv@mail.ru
Vera Turetskova, Doctor of Pharmacy, Professor, Head of the Pharmaceutical Technology Department
Svetlana Zamyatina, Candidate of Medicine, Assistant at the Pharmacology Department
Olesya Mazko, Assistant at the Pharmacognosy and Botany Department
Anna Zolovkina, Candidate of Medicine, Associate Professor at the Department of Biochemistry and Clinical Laboratory Diagnostics
Ivan Smirnov, Candidate of Medicine, Associate Professor, Head of the Pharmacognosy and Botany Department
Yuriy Shcherbakov, Teacher at the Pharmacognosy and Botany Department
Nina Voloboy, Teacher at the Pharmacognosy and Botany Department