

# ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕПАТОЗАХИСНОЇ АКТИВНОСТІ ПРЕПАРАТУ “ГЕПАДИФ” В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТУ

Л.В.Яковлева, О.Б.Леницька, О.В.Геруш\*

Національний фармацевтичний університет  
Буковинський державний медичний університет\*

*Ключові слова: гострий гепатит; гепадиф; гепатопротекторна активність*

*Висвітлені результати скринінгового дослідження гепатопротекторної дії нового оригінального комбінованого препарату “Гепадиф” за умов експериментальної патології печінки, викликаній введенням тетрахлорметану. Препарат “Гепадиф” є новим оригінальним комплексним гепатопротектором, до складу якого входять: карнітину оротат, карнітину гідрохлорид, антитоксична фракція печінкового екстракту, а також групи вітамінів В (В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>). За рахунок складових компонентів для препарату можна передбачити наявність детоксикаційної, антиоксидантної, антихолестатичної, антифіброзуючої дії та здатність стимулювати регенерацію гепатоцитів при ураженні печінки та метаболічних розладах. Гепатопротекторні властивості досліджуваного препарату визначали для 2-х лікарських форм (ін’єкційної та пероральної) за декількома рівнями доз. За результатами дослідження встановили найбільш перспективну дозу препарату “Гепадиф”, яка проявляє виражені гепатопротекторні властивості. Аналіз проведеного дослідження показав також переваги внутрішньошлункового шляху введення досліджуваного препарату.*

Патології печінки займають провідне місце серед хвороб органів травлення. За даними ВООЗ у світі більше 2 млрд людей з патологією печінки, що у 100 разів перевищує розповсюдженість ВІЛ-інфекції [18]. Кожен рік у країнах СНД реєструється від 500 тис. до 1 млн людей, які страждають на захворювання печінки. В Україні за останні 10 років розповсюдженість захворювань печінки збільшилася на 20,1% [1].

Сьогодні актуальним є пошук, вивчення та створення нових високоєфективних комбінованих лікарських препаратів, призначених для профілактики та лікування захворювань гепатобіліарної системи, які при тривалому застосуванні позитивно впливали б на

усі ланки механізму розвитку патології та були безпечними [1, 2].

Препарат “Гепадиф” є новим оригінальним комплексним гепатопротектором. За рахунок компонентів, які входять до складу препарату: карнітину оротату, карнітину гідрохлориду, антитоксичної фракції печінкового екстракту, а також групи вітамінів В (В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>), можна передбачити наявність детоксикаційної, антиоксидантної, антихолестатичної, антифіброзуючої дії та здатність стимулювати регенерацію гепатоцитів при ураженні печінки та метаболічних розладах [8, 10, 12-17].

З метою визначення основних ланок механізму дії в ЦНДЛ НФаУ було проведено фармакологічне вивчення гепатопротекторних вла-

стивостей препарату “Гепадиф”. Завданням першого етапу дослідження було експериментальне визначення залежності між гепатопротекторною ефективністю та дозою препарату “Гепадиф” в умовах гострого гепатиту у щурів, викликаного введенням тетрахлорметану.

## Матеріали та методи

Об’єкт дослідження препарат “Гепадиф” у двох лікарських формах — порошок для ін’єкцій (серія №08HDI01) та капсули (серія №71108) виробництва “Хан Сео Фарм. До., Лтд”, Сеул, Корея. Новий оригінальний гепатопротектор у залежності від форми випуску має різний склад (табл. 1).

Відсутність на фармацевтичному ринку України аналогічного за складом референтного препарату дозволила обрати препарат “Гептрал”, який відповідає досліджуваному препарату за спектром показань до застосування та наявністю відповідних лікарських

Л.В.Яковлева — доктор фармац. наук, професор, завідувачка Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

О.В.Геруш — канд. фармац. наук, завідувач кафедри фармакоекономіки Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці)

Таблиця 1

**Склад препарату “Гепадиф” залежно від форми випуску**

Склад	1 капсула	1 флакон
Карнітину оротат	150 мг	300 мг
Карнітину гідрохлорид	-	184 мг
Антиоксична фракція екстракту печінки	12,5 мг	25 мг
Аденіну гідрохлорид	2,5 мг	-
Піридоксину гідрохлорид	25 мг	25 мг
Ціанокабаламін	0,125 мг	0,25 мг
Рибофлавін	0,5 мг	-
Аденозин	-	5 мг

форм. При проведенні дослідження використовували препарат “Гептрал” виробництва фірми “ХОС-ПІРА С.П.А.”, Італія також у двох лікарських формах — флаконах для ін’єкцій (серія №68B518E02C) і таблетках (серія №671268E01). До складу референтного препарату входить амінокислота адеметіонін або сульфаденозил-L-метіонін, який бере участь у важливих біологічних процесах як донор метильних груп у багатьох реакціях трансметилування, як попередник біохімічних тіолових сполук (цистеїну, таурину, глутатіону, коензиму А та ін.). Завдяки цьому гептрал проявляє гепатопротекторні властивості, які були доведені багатьма експериментальними та клінічними дослідженнями [8].

Дози препарату “Гепадиф” були обрані, виходячи з мінімальної, середньої та максимальної добової доз для людини, які при перерахунку за допомогою коефіцієнтів видової стійкості за Риболовцевим Ю.Р. [3] на тварину (щура) склали для ін’єкцій — 21, 42 та 68 мг/кг відповідно, а для капсул — 17, 34 та 68 мг/кг відповідно. Дози референтного препарату “Гептрал” 50 мг/кг (для ін’єкцій) та 100 мг/кг (для таблеток) при проведенні дослідження розраховували аналогічно [3, 5]. Досліджуваний препарат та референтний препарат вводили тваринам залежно від лікарської форми та у відповідності до передбачуваних шляхів введення для препаратів у клінічній практиці:

порошок для ін’єкцій вводили у вигляді розчину внутрішньоочеревинно, капсули (таблетки) — внутрішньошлунково у вигляді суспензії з твіном-80.

Усі дослідження були проведені на 120 білих безпородних щурах масою 200-220 г. Усі тварини були розподілені на 10 груп по 12 тварин у кожній: 1-а група — інтактний контроль (ІК), 2-а група — позитивний контроль (ПК), 3, 4, 5-а групи — тварини, яким вводили внутрішньоочеревинно препарат “Гепадиф” у дозах 17, 34 та 68 мг/кг відповідно, 6, 7, 8-а групи — тварини, яким вводили внутрішньошлунково препарат “Гепадиф” в дозах 21, 42 та 68 мг/кг відповідно, 9-у групу складали тварини, яким вводили внутрішньоочеревинно референтний препарат “Гептрал” у дозі 50 мг/кг, 10-у групу складали тварини, яким вводили внутрішньошлунково референтний препарат “Гептрал” у дозі 100 мг/кг.

Гострий тетрахлорметановий гепатит у щурів (2-10-ї груп) викликали шляхом одноразового внутрішньошлункового введення 50% олійного розчину тетрахлорметану в дозі 1 мл/100 г маси тіла за методичними рекомендаціями [3].

Досліджувані препарати та референтні препарати вводили в день введення тетрахлорметану за 1 годину до і через 2 години після введення останнього, а також через 24 години після останнього введення гепатотоксину. Через годину після останнього введення

препаратів по 5-6 тварин кожної групи, які залишилися живими, відбирали для визначення показників жовчовиділення, холато- та жовчоутворення, а у другій підгрупі визначали масовий коефіцієнт печінки (МКП) та біохімічні показники [3, 4, 6, 7, 9, 11].

**Результати та їх обговорення**

Враховуючи гострий та тяжкий перебіг даної патології, в групі ПК спостерігали виживаність тварин на рівні 83%. За клінічними ознаками тварини групи ПК були адинамічними, мали неохайний вигляд, скуйовджену шерсть, що пов’язано з діареєю, ознаками анорексії. Ураження печінки тетрахлорметаном у групі ПК супроводжувалось достовірним відносно ІК підвищенням у 1,4 рази МКП, що є результатом зростаючого набряку печінкової тканини і вказує на порушення гемодинаміки.

Підтвердженням руйнівних процесів у печінці у тварин групи ПК було порушення жовчовиділення, що виявилось в достовірному відносно ІК гальмуванні швидкості секреції жовчі. Наслідком розвитку деструктивних змін у гепатоцитах під дією вільнорадикальних метаболітів тетрахлорметану стало зниження синтезу холестерину, про що свідчить достовірне відносно ІК зниження в жовчі вмісту холестерину, який бере участь у багатьох синтетичних процесах, у тому числі синтезі ліпопротеїнів клітинних мембран та жовчних кислот (ЖК). На цьому тлі відбувається достовірне зниження відносно ІК рівня ЖК.

Гостре отруєння тетрахлорметаном викликало у тварин групи ПК значні зміни біохімічних показників, характерні для даної патології. Пряма мембранотоксична дія вказаного ксенобіотика проявилась розвитком цитолізу гепатоцитів, про що свідчить достовірне відносно групи ІК підвищення рівня ферменту АлАТ у 2,5 рази. Достовірне зниження рівня глікогену відносно ІК у тканинах печінки підтверджує порушення синтетичних та обмінних

Таблиця 2

**Вивчення гепатопротекторної дії препарату “Гепадиф” на моделі гострого гепатиту, викликаного введенням тетрахлорметану**

Досліджувані показники	n	Групи тварин									
		інтактний контроль	позитивний контроль (патологія)	досліджуваний препарат “Гепадиф” (ін’єкції)			досліджуваний препарат “Гепадиф” (капсули)			референтний препарат “Гептрал” (ін’єкції)	референтний препарат “Гептрал” (таблетки)
Шлях введення		-	-	внутрішньоочеревинний			внутрішньошлунковий			внутрішньоочеревинний	внутрішньошлунковий
Доза, мг/кг		-	-	17	34	68	21	42	68	50	100
Вживаність, %	12	100	83	83	83	100	83	83	100	83	83
МКП	6	2,99±0,07	4,17±0,07*	4,72±0,19*	3,86±0,34*	4,88±0,17*	4,15±0,15*	4,02±0,16*	4,10±0,21*	4,32±0,29*	4,15±0,14*
Інтенсивність жовчовиділення, мг/хв/100 г	6	4,42±0,53	1,88±0,84*	1,10±0,44*	1,22±0,47*	1,96±0,22*	3,52±0,52***	2,52±0,72	3,04±1,10***	0,67±0,42*	0,12±0,01*
Біохімічні показники в жовчі											
Холестерин, мг/%	6	13,69±1,83	8,09±1,89*	3,34±1,45***	6,88±0,79*	8,91±2,28	19,13±4,46**	14,82±1,99**	17,82±3,63**	19,53±10,52	50,97±5,49***
ЖК, мг/%	6	473,10±89,97	246,54±21,64*	341,81±49,27	389,88±42,61**	389,31±24,35**	391,88±16,31**	430,92±25,74**	358,01±20,72**	359,29±32,64**	280,44±40,17
Біохімічні показники в сироватці АлАТ, ммоль/год·л	6	0,69±0,04	1,74±0,03*	1,67±0,03*	1,63±0,09*	1,65±0,08*	1,98±0,14*	1,69±0,04*	1,77±0,06*	1,72±0,02*	1,61±0,12*
Біохімічні показники в гомогенаті печінки											
Глікоген, мг/100 г	6	998,58±191,36	215,45±102,72*	118,89±24,11*	133,62±27,53*	372,57±73,51*	462,89±67,82***	869,88±177,08*	478,95±48,27***	580,01±67,57***	406,94±46,42*
ТБК-активні продукти, мкмоль/г	6	96,72±8,80	76,15±6,86*	68,97±7,20*	64,74±1,16*	86,97±9,60	52,99±5,27*	66,67±9,29*	68,80±10,23*	78,46±7,60*	54,91±5,81*
GS-H, мкмоль/г	6	0,69±0,17	2,76±0,73*	1,36±0,63	2,59±0,63*	3,79±0,35*	1,94±0,30*	2,63±0,53*	1,33±0,03*	1,49±0,10*	1,60±0,43*

## Примітки:

- 1) n — кількість тварин у групі;
- 2) \* — відхилення показника достовірне по відношенню до показника інтактного контролю,  $p \leq 0,05$ ;
- 3) \*\* — відхилення показника достовірне по відношенню до показника позитивного контролю,  $p \leq 0,05$ ;
- 4) \*\*\* — відхилення показника достовірне по відношенню до референтного препарату,  $p \leq 0,05$ .

процесів у печінці (насамперед вуглеводного обміну).

Як наслідок порушень метаболічної та синтетичної функцій печінки розвиток патології супроводжувався активацією фізіологічного компенсаторного антиоксидантного захисту організму, що відбулося на зміні біохімічних показників у гомогенаті печінки, а саме достовірному зниженні вмісту ТБК-реактивних на тлі достовірного збільшення пулу GS-H.

З наведених у табл. 2 даних видно, що 100% виживаність тварин спостерігали при внутрішньоочеревинному та внутрішньошлунковому введенні препарату “Гепадиф” лише в максимальній дозі 68 мг/кг, що перевищувало показники у відповідних групах препаратів порівняння, де виживаність не перевищувала показник ПК 83%.

Виразну тенденцію до відновлення процесів жовчовиділення та достовірні відносно ПК зміни процесів холестеринуутворення спостерігали на тлі внутрішньошлункового введення препарату “Гепадиф” в усіх досліджуваних

дозах. За інтенсивністю жовчовиділення капсули “Гепадиф” у дозах 21 та 68 мг/кг достовірно перевищували показники референтного препарату “Гептрал”. Внутрішньоочеревинне введення гепадифу в дозах 34 та 68 мг/кг та внутрішньошлункове введення в дозах 21, 42 та 68 мг/кг сприяло відновленню процесів холатоутворення в печінці, про що свідчить достовірне підвищення відносно ПК рівня ЖК у жовчі.

Зниження інтенсивності жовчовиділення на тлі введення референтного препарату відбулося порушенням процесів жовчоутворення лише у тих тварин, яким гептрал вводили внутрішньошлунково в дозі 100 мг/кг, що призвело до достовірного відносно груп ІК та ПК компенсаторного підвищення рівня холестерину в жовчі та тенденції до зниження вмісту ЖК. При внутрішньоочеревинному введенні гептралу в дозі 50 мг/кг порушень процесів жовчоутворення не спостерігали.

Відновлення утворення глікогену до рівня ІК спостерігали на тлі внутрішньошлункового введення

гепадифу в дозі 42 мг/кг. Також достовірно підвищення цього показника відносно показника групи ПК спостерігали при внутрішньошлунковому введенні гепадифу в дозах 21 та 68 мг/кг, але зазначені зміни показників не досягли рівня ІК та достовірно відрізнялися від нього. Виразну тенденцію до підвищення рівня глікогену в гомогенаті печінки спостерігали на тлі внутрішньоочеревинного введення препарату “Гепадиф” в дозі 68 мг/кг. Підвищення глікогену в тканинах печінки також спостерігали на тлі введення референтного препарату в обох лікарських формах, однак ці зміни також не досягли рівня ІК.

Про активацію фізіологічного компенсаторного захисту АОС організму та пригнічення процесів ліпоперексидації свідчать дані таблиці 2: на тлі введення досліджуваного та референтного препаратів в усіх досліджуваних дозах достовірно збільшувався рівень GS-H відносно ІК, що приводило до достовірного зниження відносно ПК вмісту ТБК-реактивних

Жодна доза досліджуваного та референтного препаратів не виявила позитивного впливу на МКП та цитолітичні процеси в печінці (АлАТ), які залишалися на рівні показника групи ПК, що пов'язано з дуже тяжким перебігом патології, яка призводила до тяжких порушень у печінці.

#### ВИСНОВКИ

Отримані результати допомогли визначити наявність найбільш виражених гепатопротекторних властивостей препарату "Гепадиф" у дозі 68 мг/кг, яка відповідає максимальній терапевтичній дозі для людини. Загальний аналіз отриманих даних показав, що пре-

парат "Гепадиф" проявляє більш виражені гепатопротекторні властивості при внутрішньошлунковому введенні, що пов'язано з біотрансформацією компонентів препарату під час процесів метаболізму та передбачає переваги пероральної лікарської форми при застосуванні в клініці.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бородіна Т.В., Бутко Я.О., Омеляненко З.П., Чернова Т.М. // *Вісник фармації*. — 2004. — №4. — С. 68-71.
2. Губергеріц Н.Б., Голуб Е.Ю. // *Сучасна гастроентерол.* — 2008. — Т. 42, №4. — С. 63-67.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомєнд. / За ред. О.В.Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
4. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В. *Биохимические исследования в клинике*. — Элиста: АПП "Джангар", 1998. — 250 с.
5. *Компендіум 2001/2002 — лікарські препарати* / За ред. В.М.Коваленка, О.П.Вікторова. — К.: МОРІОН, 2001. — 1536 с.
6. Мирошниченко В.П., Громашевская Л.Л., Касаткина М.Г., Козачек Г.А. // *Лабораторное дело*. — 1978. — №3. — С. 149-153.
7. Прохорова М.И., Тупикова З.Н. *Большой практикум по углеводному и липидному обмену*. — М., 1965. — С. 219.
8. Ротенко А.А., Дугин С.Ф., Крылин В.В. и др. // *Современные наукоемкие технол.* — 2006. — №4. — С. 16-19.
9. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. *Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты* / В кн.: *Современные методы в биохимии*. — М.: Медицина, 1977. — С. 66-68.
10. Ahn E.M., Cho S.C., Lee M., Cha Y.S. // *Br. J. Nutr.* — 2007. — Vol. 98, №2. — P. 373-379.
11. Beutler E.D., Duron Q., Kelly B.M. // *J. Laboratories Clinical Medicine*. — 1963. — Vol. 61, №5. — P. 882.
12. Crill C.M., Helms M.A. // *Nutr. Clin. Pract.* — 2007. — Vol 22, №2. — P. 204-213.
13. Debska-Slizien A., Kaweska A., Wojnarowski K. et al. // *J. Ren. Nutr.* — 2007. — Vol. 17, №4. — P. 275-281.
14. Krahenbuhl S. // *Life Sci.* — 1996. — Vol. 52, №19. — P. 1579-1599.
15. Lieber C. // *J. Hepatol.* — 2000. — Vol. 32, №1 (Supple). — P. 113-128.
16. Pierre G., Macdonald A., Gray G. et al. // *J. Inherit. Metab. Dis.* — 2007. — Vol. 30, №5. — P. 815.
17. Russell S. // *Curr. Opin. Pediatr.* — 2007. — Vol. 19, №2. — P. 206-210.
18. Sherlock S., Dooley J. // *Tent. edition*. — 1997. — P. 385-400.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,  
вул. Мельникова, 12. Тел. (57) 714-12-58.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 05.11.2009 р.