

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ГРАНУЛ КАКАОВЕЛЛЫ

Ю.С. Покровская, А.В. Симонян, В.Б. Писарев, В.В. Новочадов
Волгоградский государственный медицинский университет, Россия

Поиск и создание новых эффективных гепатопротекторных средств, благоприятно влияющих на функционирование системы желудочно-кишечного тракта, является одной из актуальных проблем современной медицины. Одним из путей решения этой проблемы явилась разработка потенциального лекарственного средства на основе какаовеллы – веллакао.

Целью работы является создание гранулированной формы веллакао, изучение технологических характеристик полученных гранул и исследование эффективности их действия в опытах *in vivo* в условиях моделирования хронического эндотоксикоза.

Какаовелла – отход переработки какао-бобов, применяющийся в качестве заменителя порошка какао, для выделения алкалоида теобромина, также на его основе разработана паста в качестве пищевой добавки в кондитерские изделия [1].

Нами разработана технология получения гранул веллакао, включающая следующие стадии: подготовительные работы, увлажнение порошка какаовеллы водой, влажное гранулирование, сушка гранулята при температуре не выше 60°C, сухое гранулирование, упаковка, маркировка и оценка качества гранул.

Исследования показали, что гранулы какаовеллы, приготовленные методом влажного гранулирования, имеют оптимальные значения влажности (5,4%), прочности на истирание (97%) и отличную сыпучесть.

Гранулы веллакао, приготовленные методом влажного гранулирования обладают хорошей распадаемостью.

Приказом МЗ РФ № 335 (14.11.97.) разрешено к медицинскому применению лекарственное средство кавехол (регистр. № 97/335/10), получаемое из какаовеллы, содержащее в своем составе аминокислоты (82–85%), в том числе и все незаменимые, обладающее антиоксидантным, желчегонным, гепатопротекторным, радиопротекторным и энтеросорбционным действием [2, 3, 6, 8].

С этих позиций, представляет интерес изучение возможности совершенствования технологического процесса получения суммы аминокислот из какаовеллы с целью увеличения содержания свободных аминокислот в рассматриваемом лекарственном препарате. Разработаны методики получения суммы аминокислот из какаовеллы путем ферментативного и кислотного гидролиза. Последующая сравнительная характеристика этих методик показала, что наилучшие результаты достигаются в результате кислотного гидролиза какаовеллы.

Гидролиз осуществляют под действием 6 н HCl. Точную навеску образца помещают на дно пробирки, так чтобы материал не оставался на ее стенках. В пробирку вносят пипеткой 6 н HCl в двухсоткратном количестве по отношению к количеству сырья. Над кислородным пламенем сужают диаметр пробирки, не ослабляя при этом ее стенки; раствор замораживают (смесью ацетона и сухого льда или в переохлажденном спирте). Затем образец сырья эвакуируют через кран с помощью масляного вакуумного насоса, после чего кран закрывают и запаивают отверстие пробирки. Пробирку вносят в воздушный термостат и выдерживают при $110 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 20 часов. По окончании гидролиза пробирку охлаждают, надрезают запаянный конец и разбивают. Кислоту удаляют в вакуумном испарителе при 40°C. Остаток после испарения растворяют в буферном растворе и направляют на анализ, который осуществляли с помощью аминокислотного анализатора марки Т 339.

Результаты кислотного гидролиза какаовеллы представлены в таблице 1.

Из приведенной таблицы видно, что какаовелла весьма богата по аминокислотному составу, особенно в отношении аспарагиновой, глутаминовой кислот и аргинина, что свидетельствует о возможности ее применения в качестве сырья для получения суммы аминокислот, с целью последующей разработки на ее основе потенциальных гепато- и радиопротекторных средств, а также средств для парентерального питания.

Из всего вышеизложенного видно, что большой практический интерес представляет изучение ее гепатопротекторной активности.

С этой целью была проведена оценка эффективности действия гранул какаовеллы в условиях моделирования хронического эндотоксикоза (ЭТ). Работа выполнена с применением 22 белых крыс. В исследовании использована модель хронического ЭТ, разработанная на кафедре патологической анатомии ВолГМУ [4]. Морфологическому исследованию во всех сериях экспериментов были подвергнуты ткани печени, почек, легких и сердца у крыс на 7-е и 21-е сутки [4, 5]. При морфологическом исследова-

нии тканей внутренних органов были использованы общепринятые методики с окрасками гематоксилином и эозином [7].

Таблица 1

Аминокислотный состав какаоеллы до и после проведения кислотного гидролиза

Идентифицированные аминокислоты	Свободные аминокислоты в какаоелле (до гидролиза), мг(%)	Свободные аминокислоты в какаоелле (после гидролиза), мг/г
Аспаргиновая кислота	115,25±0,06	21,79
Треонин	100,36±0,03	7,03
Серин	24,37±0,09	6,71
Глутаминовая кислота	8,45±0,10	28,34
Пролин	128,47±0,06	9,54
Глицин	68,07±0,04	4,94
Аланин	47,67±0,03	5,29
Валин	11,24±0,05	5,22
Метионин	43,78±0,05	1,96
Изолейцин	98,41±0,05	5,91
Лейцин	26,33±0,03	9,32
Тирозин	96,71±0,07	5,71
Фенилаланин	192,3±0,01	6,16
Гистидин	39,35±0,02	4,80
Лизин	10,84±0,09	8,82
Аргинин	11,60±0,07	10,76

В печени развитие хронического ЭТ сопровождалось прогрессирующей дистрофией и некрозами гепатоцитов с реакцией микроциркуляции макрофагов и лимфоцитов на них. Изменения перисинусоидальных клеток и сосудистая перестройка способствовали поддержанию в печени умеренно выраженного внутритканевого цитолиза, а к 30 суткам выявились признаки гепатофиброза.

Изменения в печени при использовании гранул какаоеллы были незначительными и ограничивались умеренной дистрофией с единичными некрозами гепатоцитов, реакция макрофагов была минимальной.

К важным количественным характеристикам описываемого процесса в печени, по результатам исследования базовой модели были отнесены: уменьшение объемной доли (ОД) гепатоцитов и среднего (СО) их ядер, возрастание ОД сосудов и соединительной ткани, увеличение СО ядер клеток Купфера. Наиболее ярким признаком нарастания доли соединительной ткани при снижении ОД и СО ядер гепатоцитов. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2

Влияние гранул какаоеллы на показатели морфометрии печени ($M \pm m$) при хроническом эндотоксикозе у крыс

Экспериментальные группы	Сроки эксперимента	
	7 сут	21 сут
ОД соединительной ткани, % (контроль – 1,8±0,5)		
Базовая модель	6,4±0,5	9,3±0,7
Гранулы какаоеллы	3,0±0,3*	5,4±0,7*
ОД гепатоцитов, % (контроль – 63,5±2,9)		
Базовая модель	58,0±3,4	51,4±3,0
Гранулы какаоеллы	63,1±3,7	59,2±3,7
СО гепатоцитов, мкм ³ (контроль – 340,4±10,5)		
Базовая модель	301,5±17,0	299,0±14,7
Гранулы какаоеллы	334,6±15,7	331,5±16,5
СО клеток Купфера, мкм ³ (контроль – 668,0±15,1)		
Базовая модель	894,1±46,3	815,8±56,2
Гранулы какаоеллы	695,0±23,0*	706,5±30,2*

Примечание: * - различия с показателями в базовой модели

Важным преимуществом предлагаемого лекарственного средства – гранул какаоеллы является полифункциональный характер действия: его гепатопротекторное действие сочетается с антиоксидантным, мембраностабилизирующим (по желчегонной и мембраностабилизирующей активности препарат превосходит дибунол и витамин Е), желчегонным (по желчегонной активности препарат превышает активность фламينا), радиопротекторным и энтеросорбционным действием. Интересным моментом является способность гранул веллакао ограничивать рост соединительной ткани в печени на фоне ее хронического повреждения.

Выводы. В результате проведенных исследований установлено, что наиболее оптимальной и удобной в применении лекарственной формой какаоеллы являются гранулы, отвечающие всем требованиям, предъявляемым к данной лекарственной форме. Важным преимуществом предлагаемого лекарственного средства является полифункциональный характер его действия.

Результаты исследований *in vivo* показали, что использование гранул какаоеллы приводит к значительному ограничению всех морфометрических проявлений вторичного повреждения ткани печени при хроническом ЭТ.

Таким образом, анализ свойств какаоеллы позволяет сделать заключение о том, что она является ценным сырьем для получения лекарственных средств для профилактики и лечения заболеваний гепатобиллиарной системы, а также средств для парентерального питания.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.С. 1679679 СССР МКИ А 23 G 1/00. Способ получения пищевой добавки из какаоеллы для кондитерских производств / Э.Т. Оганесян, А.В. Симонян и др. Заявлено 15.08.88. Зарегистрировано 22.05.91.
2. Временная фармакопейная статья 42-2957-97 Кавехол.
3. Временная фармакопейная статья 42-2958-97 Гранулы кавехола.
4. Новочадов В.В. Липиды и вторичное повреждение почек при экспериментальном эндотоксикозе // Актуальные проблемы морфологии: Тр. Сибирского мед. Ун-та. – Томск, 2002. – С. 105-106.
5. Новочадов В.В. Патология липидного обмена при эндотоксикозе. Автореф. дисс.... д.м.н. – Волгоград, 2001. – 35 с.
6. Пат. 2033176 РФ МКИ А 61 К 35/78. Способ получения средства, обладающего гепатопротекторным, желчегонным и антиоксидантным действием / Оганесян Э.Т., Симонян А.В. и др. Заявлено 07.05.91. Зарегистрировано 20.04.95.
7. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Руководство по гистологической технике. – М.: Медицина, 1996. – 242 с.
8. Симонян А.В., Покровская Ю.С. Изучение сорбционных свойств какаоеллы // VII Междунар. съезд "Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения": Матер. съезда. – СПб., 2003. – С. 88.

HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF CACAO SHELL GRANULES

J.S. Pokrovskaya, A.V. Simonyan, V.B. Pisarev, V.V. Novochadov
Volgograd State Medical University, Russia

Searching and creation of new effective hepatoprotective medicines is the issue of the modern medicine. Development of potential medical product on basis of Cacao shell – vellacao – is one of the decision ways of this problem. The purpose of the present work was creation of vellacao granule forms, study of granules' technological characteristics and their action efficiency *in vivo* using the model of chronic endotoxikosis. It is revealed that granules are the most optimal and convenient medicinal form in Cacao shell application that meets all made requirements. Techniques of amino acids extraction from cacao shell were developed on the basis of acid and enzymatic hydrolyses. The subsequent comparative characteristic of these techniques has shown, that the best results are achieved by using acid hydrolysis technique of cacao shell. *In vivo* study showed, that usage of cacao shell granules resulted in significant restriction of all morphometrical displays of secondary liver tissue damage in chronic endotoxikosis. The important advantage of an offered medical product is multifunctional character of its action. Thus, the analysis of cacao shell properties has allowed drawing a conclusion that it is valuable raw material for medical products manufacturing for preventive maintenance and treatment of hepatobiliary system diseases, and also as means for parenteral feeding.