

Силибин и печень: от фундаментальных исследований к клинической практике

Термины «расторопша пятнистая», «флавоноиды», «силитарин» и «силибин» часто используются взаимозаменяемо; тем не менее каждое из этих соединений обладает специфическими свойствами и эффектами. За последние 10 лет было опубликовано около 12 тыс. статей, посвященных этим веществам, применявшимся как антиоксиданты, химиопрофилактические, противоопухолевые средства и, особенно, как гепатопротекторы. Такой впечатляющий объем публикаций свидетельствует о том, что научный интерес к этим молекулам или классам молекул очень высокий во всем мире. В США и Европе около 65% пациентов с заболеваниями печени принимают растительные препараты; в европейском регионе затраты на использование силитарина только в Германии достигают 180 млн долларов. В то же время, несмотря на огромный массив литературы, на сегодня нет убедительных клинических данных, чтобы рекомендовать применение этих субстанций в клинической практике. Такое несоответствие обусловлено различными факторами, такими как качество клинических исследований, разнообразие диагнозов, отсутствие стандартизированных препаратов, а также использование различных режимов лечения и конечных точек. В наши дни, когда растительные препараты применяются все более широко (на что влияет как выбор врачей и пациентов, так и промоция компаний), по нашему мнению, назрела необходимость более внимательно сфокусироваться на данных соединениях, которые могут иметь благоприятные, плацебо- или токсические эффекты. В настоящем обзоре проведен анализ исследований, в которых изучалось влияние препаратов очищенного силибина в виде как свободной, так и конъюгированной молекулы на печеночные клетки или экспериментально индуцированное повреждение печени, а также на пациентов с различными заболеваниями печени.

Определение и характеристики силибина

Силибин и силитарин не являются синонимами. Силитарин представляет собой комплекс из по крайней мере 7 флавоногликанов, которые являются наиболее распространенным классом соединений, содержащихся в экстракте расторопши пятнистой, а также один флавоноид — таксифолин. Относительное содержание каждого соединения может варьировать в зависимости от происхождения растительного материала, поставщика и используемого процесса экстракции. Силибин составляет от 50 до 70% экстракта силитарина.

Силибин можно разделить в соотношении 1:1 на два диастереоизомера — силибин А и силибин В. Кроме того, силибин может быть представлен как изосилибин — смесь данных диастереоизомеров в равном соотношении. Концентрация силибина в большинстве фармацевтических препаратов, содержащих силитарин и представленных на рынке США и других стран, составляет от 20 до 40%.

Фармакокинетика и фармакодинамика

Флавоногликаны характеризуются низкой и изменчивой биодоступностью; например, уровень абсорбции силитарина может варьировать от 20 до 50%. Силибин был выделен как чистая субстанция для коммерческого использования. В исследовании по изучению фармакокинетических свойств силибина с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии было установлено, что связь между концентрацией и ответом была линейной в диапазоне концентраций 0,5–100 мкг/мл. После назначения крысам содержание силибина в плазме и гепатобилиарной системе быстро достигало равновесного состояния, при этом в желчи уровни неконъюгированного и общего силибина превышали таковые в плазме.

Применение силибина, как и других флавоногликанов, ограничивают плохая растворимость в воде, низкая биодоступность и плохое всасывание в кишечнике. Для решения этой проблемы были синтезированы различные производные силибина, такие как силибин бис-гемисукцинат, β-циклодекстриновый комплекс, силибин-N-метилглюкамин, силибина 11-О-фосфат и силибинфосфатидилхолин. Другой путь улучшения растворимости силибина состоит в ферментативном синтезе его β-гликозидов — β-галактозида, β-глюкозида, β-мальтозида и β-лактозида. Кроме того, синтезирован силибин в виде пролекарства с водорастворимым полимерным носителем (полиэтиленгликолем).

Конъюгирование с некоторыми молекулами может влиять на активность силибина. Например, способность связывать свободные радикалы у силибина-20-О-β-глюкуронида значительно ниже по сравнению с таковой свободного силибина. В то же время силибин-7-О-β-глюкуронид, у которого позиция С-20 не занята, связывает свободные радикалы значительно сильнее. Интересно, что один диастереоизомер силибина (В) подвергается конъюгации быстрее, чем другой (А); это означает, что изомеры силибина в организме человека метаболизируются с разной скоростью. Свободный и конъюгированный силибин характеризуются быстрым распределением в плазме и тканях, которое у мышей достигает максимальных уровней в пределах 1 ч после приема силибина в дозе 50 мг/кг. У крыс связывание силибина с белками плазмы составляет 70,3±4,6%.

У человека фармакокинетика силибина изучалась у здоровых добровольцев после назначения в различных дозах силитарина, чистого силибина и силибина, конъюгированного с фитосомой. Нон и соавт. (2006) первыми идентифицировали метаболиты силибина в плазме и определили его тканевые уровни у пациентов, употреблявших силибин. Было установлено, что у человека силибин подвергается множественным реакциям связывания, в частности с образованием силибинмоноглюкуронида, силибиндиглюкуронида, силибина моносульфата и силибинглюкоронида сульфата. После назначения 240 мг чистого силибина пиковая концентрация составила 240±54 нг/мл примерно через 2 ч и оставалась на этом уровне 4 ч. После перорального приема однократной дозы 560–600 мг силитарина (примерно соответствует 240 мг силибина) фракции свободного, сульфатированного и глюкуронированного силибина в плазме человека составили 17; 28 и 55% от общей принятой дозы соответственно; при этом отмечался более высокий процент глюкуронированного силибина В (71%), чем силибина А. В моче в виде свободного и связанного силибина обнаруживалось всего 1–7% от принятой дозы (в среднем 2,8±0,6 нг/мл).

Влияние повреждения печени на фармакокинетику силибина

У пациентов с компенсированным циррозом печени силибин назначали в виде фитосомы в дозе 120 мг 3 р/сут или силитарина, содержащего 84 мг силибина, 4 р/сут. Результаты показали, что цирроз печени не изменяет фармакокинетику силибина. Подобные данные были получены и у крыс с экспериментально индуцированным циррозом.

Фармакокинетику силибина изучали у пациентов с хроническим гепатитом (вызванным HCV-инфекцией или неалкогольной жировой болезнью печени — НАЖБП) и компенсированным циррозом. Экстракт расторопши пятнистой в однократной пероральной дозе 600 мг назначали здоровым добровольцам и трем группам пациентов; забор крови для анализа проводили на протяжении 24 ч. Силибин А и силибин В составляли 43% от суммы всех флавоногликанов силитарина у здоровых добровольцев и 31–38% у больных с патологией печени (у последних отмечалось повышенное накопление силикристина — 20–36%). Площадь под кривой (AUC, 0–24 ч) для суммы всех флавоногликанов силитарина у пациентов с вирусным гепатитом С, НАЖБП и HCV-ассоциированным циррозом была соответственно в 2,4; 3,3 и 4,7 раза выше, чем у здоровых добровольцев (p<0,03 для всех сравнений). Фармакокинетика силитарина коррелировала с уровнем каспаз в плазме — маркером воспаления печени; активность каспазы 3/7 коррелировала с AUC (0–24 ч) для суммы всех конъюгатов силитарина у всех участников (R²=0,52) и была в 5 раз выше у пациентов с HCV-ассоциированным циррозом (p≤0,005 по сравнению со здоровыми добровольцами). Таким образом, присутствие воспалительного процесса в печени, в частности в виде хронического воспаления, может влиять на биодоступность различных компонентов силитарина.

Взаимодействия и токсичность

Силитарин и силибин значительно различаются по своим взаимодействиям с метаболизирующими ферментами; причины этих различий пока не раскрыты. Силибин и его β-гликозиды в конечной концентрации силибина 100 мкмоль/л изучались *in vitro*, при этом силибин проявлял медленный ингибирующий эффект (IC₅₀ >200 мкмоль/л) на маркеры — субстраты CYP2E1, CYP2D6, CYP2C19 и CYP2A6. Силибин и β-лактозиды силибина не индуцировали экспрессию CYP1A2 и CYP3A4 и не влияли на индуцибельную экспрессию этих изоферментов.

В исследовании *in vivo* изучали метаболические взаимодействия силибина в дозах от 25 до 250 мкмоль/л и субстратов, метаболизируемых CYP3A4 или CYP2C9. Оказалось, что силибин может действовать как модулятор/инактиватор данных изоферментов; в дальнейших исследованиях предстоит уточнить механизм этого действия (конкуренция за место связывания, ингибирование связывания субстрата или метаболизма в определенном кармане активного сайта). Несмотря на наблюдения *in vitro*, силибин в концентрации 100 мкмоль/л не влиял на опосредуемый CYP3A4 метаболизм индинавира и других препаратов и не оказывал каких-либо эффектов на базальную и индуцибельную экспрессию мРНК CYP3A4.

Следует отметить, что вышеописанные взаимодействия силибина с субстратами ферментов не являются клинически значимыми, при этом его ингибиторный эффект возникает только в концентрациях, которые значительно превышают таковые при использовании физиологических доз. *In vitro* силибин ингибировал уридиндифосфатглюкуронилтрансферазы UGT1A6 и UGT1A9, но проявлял в 14–20 раз более высокую селективность к UGT1A1. Клиническая значимость данного феномена в настоящее время не известна, учитывая отсутствие публикаций, в которых бы указывалось на существование клинического взаимодействия с билирубином. UGT1A1 — единственный фермент, отвечающий за глюкуронизацию билирубина, при этом он принимает участие в глюкуронизации некоторых лекарственных препаратов. У животных силибин изменял гепатобилиарную элиминацию различных препаратов; кормление чистым силибином в дозах 100–200 мг/кг/сут приводило к повышению активности глутатион-S-трансферазы и хининредуктазы в печени, легких, желудке, коже и тонкой кишке, которое имело дозозависимый характер.

В работе Flaig и соавт. (2007) были получены доказательства того, что силибин можно назначать человеку в дозах, создающих онкопрофилактические концентрации, с минимальными побочными эффектами или их отсутствием. В этом исследовании изучались самые высокие из когда-либо использованных доз силибина — от 2,5 до 20 г силибинфосфатидилхолина в сутки, разделенных на 3 приема, которых назначали в течение 14 нед 13 мужчинам с карциномой предстательной железы в анамнезе. При повышении дозы с 15 до 20 г/сут силибин был отменен вследствие бессимптомной гипербилирубинемии, которая развивалась, по-видимому, в результате ингибирования глюкуронилтрансферазы UGT1A1. Тем не менее у всех пациентов гипербилирубинемия была легкой и разрешилась вскоре после отмены лечения.

Недостатки завершенных клинических исследований по оценке безопасности силибина такие же, как в исследованиях, изучавших его эффективность. Опираясь исключительно на результаты клинических исследований, посвященных оценке безопасности, прогнозировать судьбу фитопрепаратов весьма непросто, так как в реальных условиях пациенты обычно принимают несколько лекарственных средств синтетического, растительного и другого происхождения, используют разные лекарственные формы одного и того же вещества и «дополняют» терапию алкоголем и другими соединениями, часто на протяжении месяцев и лет. В рандомизированных исследованиях, сообщавших о побочных эффектах, их частота была примерно одинаковой в группах силибина и контроля. Большинство наблюдаемых побочных эффектов не были связаны с изучаемым препаратом или же их было невозможно отделить от симптомов сопутствующего заболевания, при этом на причинную связь указывалось очень редко. Данные относительно безопасности силибина у детей и у пожилых больных нет, так как исследования препарата в детской возрастной группе не проводились и проведено всего несколько исследований, включавших пациентов старше 65 лет. Побочные эффекты, ассоциированные с пероральным приемом силибина, представлены преимущественно диспепсией и встречаются очень редко. В одном клиническом исследовании сообщалось о головной боли, головокружении и зуде. Бессимптомная гепатотоксичность наблюдалась в недавних

исследованиях, включавших онкологических больных, у которых развивалась гипербилирубинемия и повышалась активность аланинаминотрансферазы (АЛТ); тем не менее эти эффекты проявлялись только на фоне терапии очень высокими дозами силибина в виде фитосом (10-20 г/сут). Кроме того, при лечении высокими дозами фитосомального силибина возможен слабительный эффект вследствие увеличения секреции и тока желчи. Также отмечались аллергические реакции, однако во всех случаях они были незначительными. Таким образом, имеющиеся на сегодня данные свидетельствуют о том, что расторопша пятнистая при использовании в дозах <5 г/сут практически не ассоциируется с побочными эффектами; последние могут развиваться при использовании доз >10 г/сут.

Эффекты силибина, наличие которых доказано в фундаментальных исследованиях

В клетках печени, а также в других типах клеток силибин действует как антиоксидант; прямой и/или непрямой (благодаря антиоксидантной активности) модулятор воспаления и фиброгенеза; прямой и/или непрямой модулятор некоторых внутрипеченочных путей метаболизма.

Антиоксидантное действие

Антиоксидантные эффекты силибина были продемонстрированы во всех типах изучаемых клеток. Силибин действует как антиоксидант, так как он подавляет образование радикалов, связывает некоторые виды радикалов (выступает как «мусорщик»), препятствует перекисному окислению липидов мембран (и, следовательно, модулирует проницаемость мембран) и повышает внутриклеточное содержание других «мусорщиков». Так, в условиях окислительного или нитрозированного стресса силибин подавляет образование супероксид-радикалов и оксида азота (NO), повышает содержание АТФ путем фосфорилирования АДФ, снижает концентрацию малонового диальдегида (МДА) и полностью нивелирует снижение уровней глутатиона, супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. Эти эффекты, являющиеся дозозависимыми, наблюдались в клетках Купфера, гепатоцитах, НерG2-клетках, в изолированных митохондриях гепатоцитов крыс, а также на моделях ишемии-реперфузии печени крыс. При экспериментально индуцированном повреждении печени у крыс через 1 ч после внутрижелудочного введения конъюгированного силибина (0,6 г/кг массы тела) его содержание в микросомах, определенное с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии, составило 2,5 мкг/мг белка, что соответствует конечной концентрации силибина 10 мкмоль/л. В этом эксперименте силибин предотвращал перекисное окисление липидов, восстанавливал проницаемость и дыхание митохондриальной и мембранной потенциал, а также защищал клетки от смерти.

Антиоксидантные эффекты силибина обусловлены еще и тем, что он действует как хелатор железа. Недавно было установлено, что дегидросилибин (ДГС) – окисленная форма силибина – обладает более высокой антиоксидантной активностью, чем силибин (примерно в 3 раза выше), возможно, из-за наличия ненасыщенных связей, которые обеспечивают водородсвязывающую способность. Кроме того, ДГС легче взаимодействует с клеточными мембранами благодаря более высокой липофильности.

Антиоксидантные эффекты силибина кратко представлены в таблице.

Противовоспалительное действие

Основной механизм противовоспалительного действия силимарина и силибина состоит в ингибировании NF-κB-контролируемого каскада преобразований. NF-κB (ядерный фактор каппа В) – индуцибельный и убиквитарно экспрессируемый ДНК-связывающий белок, действующий как фактор транскрипции генов, принимающих участие в воспалении, выживании, дифференциации и росте клеток. В нестимулированных клетках NF-κB секвестрируется в цитоплазму путем взаимодействия с ингибиторным протеином 1 каппа В альфа (IκBα). При активации под влиянием окислительного стресса NF-κB отделяется от IκBα, и IκBα разрушается. NF-κB транслоцируется в ядро и путем киназного фосфорилирования стимулирует активацию генов, поддерживающих воспаление. Доказано, что силибин ингибирует активацию и транслокацию NF-κB путем супрессии фосфорилирования и деградации IκBα. На модели острого повреждения печени, в которой мыши получали конканавалин А, силибин снижал плазменные уровни трансаминаз и концентрацию провоспалительных цитокинов в печени и плазме, ингибировал активацию NF-κB в печени и повышал плазменные и тканевые уровни интерлейкина (ИЛ)-10. У крыс с диметилнитрозамининдуцированным хроническим повреждением печени силибин, конъюгированный с фосфатидилхолином и витамином Е, назначаемый через желудочный зонд, предотвращал снижение массы тела и печени и уменьшал степень повреждения печени, которую оценивали по активности АЛТ и некротического воспаления. Эти эффекты ассоциировались с уменьшением активации и пролиферации звездчатых клеток как через 1, так и через 5 недель терапии.

Противовоспалительное действие силибина также связано с его способностью вмешиваться в многочисленные цитокининдуцированные сигнальные пути и оказывать понижающее регулирующее влияние на экспрессию индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS), подавлять экспрессию и активность циклооксигеназы (ЦОГ)-2 и образование лейкотриенов в тромбоцитах, лейкоцитах и эндотелиальных клетках человека. Кроме того, силибин подавляет активацию протеинкиназ и c-jun N-терминальной киназы.

Помимо антиоксидантного и противовоспалительного действия, силибин проявляет противовирусный эффект. В концентрации 20 мкмоль/л силибин подавлял экспрессию и репликацию вируса гепатита С (HCV) в инфицированных полиморфноядерных клетках, полученных от пациентов с хронической HCV-инфекцией.

Таблица. Антиоксидантные эффекты силибина

Дозы	Клетки	Эффекты
От 10 до 100 мкмоль/л Средняя, доза, на которой наблюдался эффект, – 29 мкмоль/л	Гепатоциты НерG2 Клетки Купфера Моноциты Раковые клетки	Уменьшение образования активных форм кислорода в митохондриях; хелация железа Уменьшение образования супероксид-аниона Снижение продукции NO Связывание липодиенил-, метил- и трихлорметил-радикалов Снижение концентрации перекиси водорода Защита липидов мембран от перекисного окисления

World Journal of Gastroenterology 2011, May 14, Vol. 17, Issue 18: 2288-2301


Продолжение следует.

Перевел с англ. **Алексей Терещенко**

3

КАРСИЛ® –

надасть печінці нових сил!

Показання до застосування*:
 **Токсичні ураження печінки:**
 для підтримуючого лікування
 у пацієнтів із хронічними
 запальними захворюваннями
 печінки або цирозом печінки

**Дія – гепатопротекторна
та антитоксична**

**Карсил® Форте –
гепатопротектор із зручною
кратністю прийому!**



**ПАНАЦЕЯ
ПРЕПАРАТ
РОКУ 2010**

80 таблеток, вагетні оболонки
КАРСИЛ® 22,5 мг
 Таблетки, вагетні оболонки
 Силимарин

30 капсул
КАРСИЛ® ФОРТЕ 30 мг
 ГЕПАТОПРОТЕКТОР
 Силимарин

Представництво АД «Софарма» в Україні
 пр. Московський, д. 9, 4 корпус,
 2 этаж, офіс 4-203
 Київ, 04073,
 тел./факс: +38 (044) 351-1369/70/71

sopharma

*Показання до застосування Карсил® Форте та Карсил® 22,5 мг наведено в інструкції до препарату. © 2010 Софарма. Усі права захищені.