

Гепатопротекторная активность берберина, конъюгированного с наночастицами селена

С. В. Козлов✉, доктор ветеринарных наук, доцент, профессор кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза»

С. В. Ларионов, доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН

Я. Б. Древко, кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры «Микробиология и биотехнология»

А. А. Шелковая, аспирант кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова

410012, г. Саратов, пр-кт им. Петра Столыпина зд. 4, стр. 3

✉Kozlovsv12@yandex.ru

Резюме. Работу проводили с целью оценки гепатопротекторной активности сконструированного лекарственного препарата на основе берберина, конъюгированного с наночастицами селена (BRB-SeNPs), для изучения его фармакодинамических свойств при повреждении клеток печени у животных. Оценка биологической активности препарата (BRB-SeNPs) проводили *in vitro* на изолированных гепатоцитах крыс с использованием тетрахлорметана (CCl_4) в качестве модельного гепатотоксина. Внесение 2 ммоль тетрахлорметана в культуральную среду для инкубации гепатоцитов приводит к снижению активности митохондриальных дегидрогеназ с $0,048 \pm 0,003$ мг/мл восстановленного формазана в интактной группе гепатоцитов, до $0,031 \pm 0,003$ мг/мл. При внесении препарата (BRB-SeNPs) в культуральную среду, содержащую (CCl_4), концентрация формазана не имела достоверных отличий от интактной группы гепатоцитов и составила $0,051 \pm 0,002$ мг/мл. Концентрация формазана в группе гепатоцитов, инкубируемых в питательной среде с (BRB-SeNPs) без гепатотоксина, составила $0,059 \pm 0,006$ мг/мл, что достоверно выше, чем у интактных клеток печени. Активность цитолитических ферментов в культуральной среде для инкубации интактных гепатоцитов АЛТ, АСТ и ЛДГ составила соответственно $29 \pm 4,1$ Е/л, $19 \pm 3,1$ Е/л и 226 ± 11 Е/л. Внесение (CCl_4) привело к повышению активности ферментов АЛТ до $99 \pm 14,2$ Е/л, АСТ – $79 \pm 15,3$ Е/л и ЛДГ – 582 ± 32 Е/л. Активность ферментов в питательной среде с внесением наряду с (CCl_4) препарата (BRB-SeNPs) была достоверно выше, чем в среде с интактными гепатоцитами и составила АЛТ – $44 \pm 6,1$ Е/л, АСТ – $29 \pm 6,7$ Е/л и ЛДГ – 327 ± 19 Е/л, но ниже, чем в контроле. Берберин, конъюгированный с наночастицами селена, препятствует снижению активности митохондриальных дегидрогеназ, нарушению целостности клеточных мембран гепатоцитов при воздействии на них тетрахлорметана. Демонстрирует высокий гепатопротекторный эффект, что делает его многообещающим средством для дальнейшего клинического испытания при лечении патологий печени у животных.

Ключевые слова: селен, Берберин, наночастицы, гепатоциты, нанотехнологии, биодоступность.

Для цитирования: Гепатопротекторная активность берберина, конъюгированного с наночастицами селена / С. В. Козлов, С. В. Ларионов, Я. Б. Древко и др. // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2025. №3 (71). С. 100-107. doi:10.18286/1816-4501-2025-3-100-107

Hepatoprotective activity of berberine conjugated with selenium nanoparticles

S. V. Kozlov✉, S. V. Larionov, Ya. B. Drevko, A. A. Shelkovaya

Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov

410012, Saratov, Pyotr Stolypin Ave., bldg. 4, 3

✉Kozlovsv12@yandex.ru

Abstract. The work was carried out to evaluate the hepatoprotective activity of the designed drug based on berberine conjugated with selenium nanoparticles (BRB-SeNPs) to study its pharmacodynamic properties in liver cell injury of animals. The biological activity of the preparation (BRB-SeNPs) was assessed *in vitro* on isolated rat hepatocytes using carbon tetrachloride (CCl_4) as a model hepatotoxin. The addition of 2 mmol carbon tetrachloride to the culture medium for hepatocyte incubation resulted in a decrease in the activity of mitochondrial dehydrogenases from 0.048 ± 0.003 mg/ml of reduced formazan in the intact group of hepatocytes to 0.031 ± 0.003 mg/ml. When the preparation (BRB-SeNPs) was added to the culture medium containing (CCl_4), the formazan concentration did not significantly differ from that in the intact group of hepatocytes and was 0.051 ± 0.002 mg/ml. The concentration of formazan in the group of hepatocytes incubated in the nutrient medium with (BRB-SeNPs) without hepatotoxin was 0.059 ± 0.006 mg/ml, which is significantly higher than that of intact liver cells. The activity of cytolytic enzymes in the culture

medium for incubation of intact hepatocytes ALT, AST and LDH was 29 ± 4.1 U / l, 19 ± 3.1 U / l and 226 ± 11 U / l, respectively. The introduction of (CCl₄) led to an increase in the activity of ALT enzymes to 99 ± 14.2 U / l, AST - 79 ± 15.3 U / l and LDH - 582 ± 32 U / l. The enzyme activity in the nutrient medium with the addition of (CCl₄) and the preparation (BRB-SeNPs) was significantly higher than in the medium with intact hepatocytes and was ALT - 44 ± 6.1 U/l, AST - 29 ± 6.7 U/l and LDH - 327 ± 19 U/l, but lower than in the control. Berberine conjugated with selenium nanoparticles prevents a decrease in the activity of mitochondrial dehydrogenases, disruption of the integrity of the cell membranes of hepatocytes when exposed to carbon tetrachloride. It demonstrates a high hepatoprotective effect, which makes it promising agent for further clinical testing in the treatment of liver pathologies of animals.

Keywords: selenium, Berberine, nanoparticles, hepatocytes, nanotechnology, bioavailability.

For citation: Hepatoprotective activity of berberine conjugated with selenium nanoparticles / S. V. Kozlov, S. V. Larionov, Ya. B. Drevko et al. // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2025;3(71): 100-107 doi:10.18286/1816-4501-2025-3-100-107

Исследования выполнены при финансовой поддержке РНФ в рамках гранта № 25-26-00115

Введение

Патологии печени занимают ключевые позиции в структуре заболеваний животных как заразной, так и незаразной этиологии. Для лечения нарушений гепатобилиарной системы предложено множество биологически активных соединений природного происхождения. Одним из наиболее перспективных является растительный метаболит, относящийся к группе изохинолиновых алкалоидов с высокой биологической и фармакологической активностью – берберин (BRB) [1].

Недавние исследования берберина не только подтвердили важность его применения в качестве лекарственной субстанции при заболеваниях различного генеза, таких как инфекции и желудочно-кишечные расстройства без каких-либо явных побочных эффектов, о которых сообщалось бы при традиционном или клиническом применении [2], но и доказали его антимикробное [3], противовирусное [4], жаропонижающее [2] и противовоспалительное [5] действия. Наряду с этим рядом исследователей доказана гепатопротекторная [6, 7] и противоопухолевая активность, [8], эффективность при неврологических [2] и метаболических расстройствах, а также гинекологических заболеваниях [9].

Несмотря на множество положительных эффектов данной субстанции, биодоступность берберина составляет всего 1 % от вводимой дозы. Берберин плохо всасывается при пероральном приёме из-за низкой растворимости и быстрого метаболизма при первом прохождении через печень, что приводит к низким концентрациям в плазме [2, 10, 11].

Для решения этой проблемы в последние годы увеличилось количество исследований, связанных с доставкой активных молекул с помощью наноносителей. В частности, накоплено большое количество информации об использовании наноносителей с различными структурными системами, в том числе наноносителей на основе липидов, микроэмульсий и наноэмульсий, этосом и трансферосом, полимерных наноносителей, неорганических наноносителей и гибридных наноносителей [12, 13]

Известно, что в последние десятилетия были разработаны и протестированы различные варианты наночастиц, однако такие показатели, как

биодоступность, биосовместимость, биоразлагаемость, токсичность, эффективность и селективность очень индивидуальны. Наиболее тесно это связано с природой наночастиц и их физико-химическими свойствами [14, 15, 16].

В связи с необходимостью разработки экологически безопасных, недорогих, простых и высокоэффективных лекарственных препаратов, используемых в терапевтических целях и имеющих незначительные побочные эффекты, особое внимание уделяется наночастицам на основе эссенциального микроэлемента селена (Se) [17].

Известно, что метаболизм Se происходит в печени, а его дефицит приводит к развитию серьёзных заболеваний этого органа. Кроме того, печень является депо большинства селенопротеинов, которые могут снижать окислительный стресс, подавлять рост опухолей и предотвращать другие повреждения печени [6].

В последние десятилетия исследования с использованием наночастиц, в частности наночастиц селена (SeNPs), показали хорошие перспективы. При всём разнообразии патологий печени (острые и хронические токсические повреждения, паразитарные, инфекционные, онкологические заболевания) применение SeNPs в различных исследованиях показывают результаты, подтверждающие их гепатопротекторное и противораковое действие как *in vitro* на клеточных культурах печени, так и *in vivo* на животных моделях [17].

Цель исследований – определение гепатопротекторной активности разработанного нами препарата на основе берберина, который сконъюгирован с наночастицами селена на примере ряда экспериментов на культурах изолированных гепатоцитов (*in vitro*) печени крыс, для изучения его фармакодинамических свойств при повреждении клеток печени у животных.

Материалы и методы

Работу проводили на базе кафедры «Болезни животных и ВСЭ» и ЦКП «Молекулярная биология» ФГБОУ ВО Вавиловского университета.

Объектом исследования служил инъекционный препарат со следующим составом: берберин –

87 мг/мл и селен в виде наночастиц – 1,3 мг/мл (BRB-SeNPs).

Для установления возможности использования в качестве гепатопротектора нами был проведен ряд экспериментов на культурах изолированных гепатоцитов. Культуры клеток были получены по методике, описанной в «Current Protocols in Cell Biology» (Wiley John. Current Protocols in Cell Biology—USA: Inc, 2003) в нашей модификации.

Гепатоциты получали методом выделения из печени крысы. Все манипуляции на животном выполняли с использованием средств для наркоза (изофлуран (isoflurane), PIRAMAL ENTERPRISES, Limited (Индия)).

Для перфузии печени использовали буферные растворы следующего состава:

- Буфер А (бескальциевый) – NaCl – 118 ммоль, KCl – 4,7 ммоль, динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) – 0,5 ммоль, NaHCO₃ – 25 ммоль, глюкоза – 5,5 ммоль, KH₂PO₄ – 1,2 ммоль;

- Буфер Б – CaCl₂ – 2,0 ммоль, MgSO₄ – 1,2 ммоль, до 1 л буфер А без ЭДТА, папаин 500 мг.

Перфузию печени проводили через воротную вену последовательно 20 мин буфером А, 15 мин буфером Б. Далее печень извлекали и проводили дальнейшие манипуляции на чашке Петри с Буфером А таким образом, чтобы от 75 % до 100 % ткани было погружено, измельчали и отфильтровывали через сито. Суспензию центрифугировали в течение 10 минут при 700 об/мин. Далее проводили трехкратную отмывку гепатоцитов в буфере Б без папаина.

Инкубацию гепатоцитов осуществляли в питательной среде ДМЕМ (БиоЛот) с 20 % FBS (БиоЛот) и добавлением 100 ед/мл пеницилина (gibco), 100 мкг/мл стрептомицина (gibco) и 292 мкг/мл L-глутамина (gibco), обогащенной эмбриональной сывороткой.

В качестве гепатотоксина в эксперименте был задействован четыреххлористый углерод (CCl₄).

Выделенные гепатоциты проводили в 6 этапов по 6 повторностей в концентрации 1х10⁵ кл/мл в питательную среду, для инкубации которых вносили исследуемые препараты в дозе 0,1 мг/мл по берберину. В качестве контроля был использован берберин, растворенный в питательной среде для культивирования гепатоцитов соответствующей концентрации.

Первая группа (интактная) (n=6) была составлена из культуры гепатоцитов и питательной среды для инкубации.

Во второй группе клеток (n=6) был применен CCl₄ 2 ммоль и исследуемый препарат (BRB-SeNPs) до концентрации 0,1 мг/мл по берберину.

В третью группу (n=6) вносили ксенобиотик (CCl₄) и субстанцию берберина (BRB).

Четвертая группа (контрольная) (n=6) содержала тетрахлорметан 2 ммоль.

В пятой группе (n=6) добавляли BRB-SeNPs до концентрации 0,1 мг/мл по берберину.

В шестую группу гепатоцитов (n=6) вносили BRB до достижения концентрации 0,1 мг/мл.

Жизнеспособность клеток гепатоцитов оценивали по активности митохондриальных дегидрогеназ восстанавливать нитротетразолевый синий бромид до гранул формазана в МТТ-тесте.

Целостность клеточных мембран определяли по активности клеточных аминотрансферраз (АЛТ, АСТ) и дегидрогеназы (ЛДГ) в среде инкубации.

Статистическую обработку полученных результатов изменений проводили по стандартным процедурам с помощью приложения Microsoft Excel 2019 (Microsoft Corp. USA) и пакета статистического анализа данных StatPlus 2015 professional 5.8.4 for Windows (StatSoftInc., USA) с использованием t-критерия Стьюдента для оценки достоверности различий между выборками для опытных и контрольных экспериментов. По результатам вычисления среднеарифметического (M) и стандартного отклонения (s) для данной выборки определяли стандартную ошибку среднеарифметического (m) и границы его доверительного интервала с учетом коэффициента Стьюдента t (n, p) при уровне значимости 95 % (p = 0,05) и числе измерений n = 6. Различия считали достоверными при p ≤ 0,05 уровне значимости.

Результаты

Применение препарата BRB-SeNPs в среде для инкубации гепатоцитов препятствует гепатотоксическому действию CCl₄, а в группах клеточной культуры гепатоцитов, в среду для инкубации которых добавляли только тетрахлорметан 2 ммоль, установлено достоверное снижение активности митохондриальных дегидрогеназ клеток на 35 %, по сравнению с интактной группой (рис. 1). При этом внесение препарата BRB-SeNPs в инкубационную среду, содержащую четыреххлористый углерод, препятствует снижению дыхательной активности гепатоцитов, где концентрация восстановленного формазана не имеет достоверных отличий от интактной группы клеточной культуры гепатоцитов. Как показано на рисунке 1, внесение в питательную среду субстанции берберина приводит к достоверному снижению митохондриального дыхания гепатоцитов на 19 % относительно клеток интактной группы. Однако, концентрация восстановленного формазана в данной группе все еще достоверно выше, чем в контроле на 16 %. Кроме того, в образцах, содержащих только препарат берберина, конъюгированного с наночастицами селена без токсина, отмечается достоверное увеличение активности митохондриальных дегидрогеназ гепатоцитов по сравнению с интактным контролем на 23 %. Внесение субстанции берберина в суспензию гепатоцитов не оказывает влияния на активность митохондриальных дегидрогеназ (P ≥ 0,05 при t = 2,57).

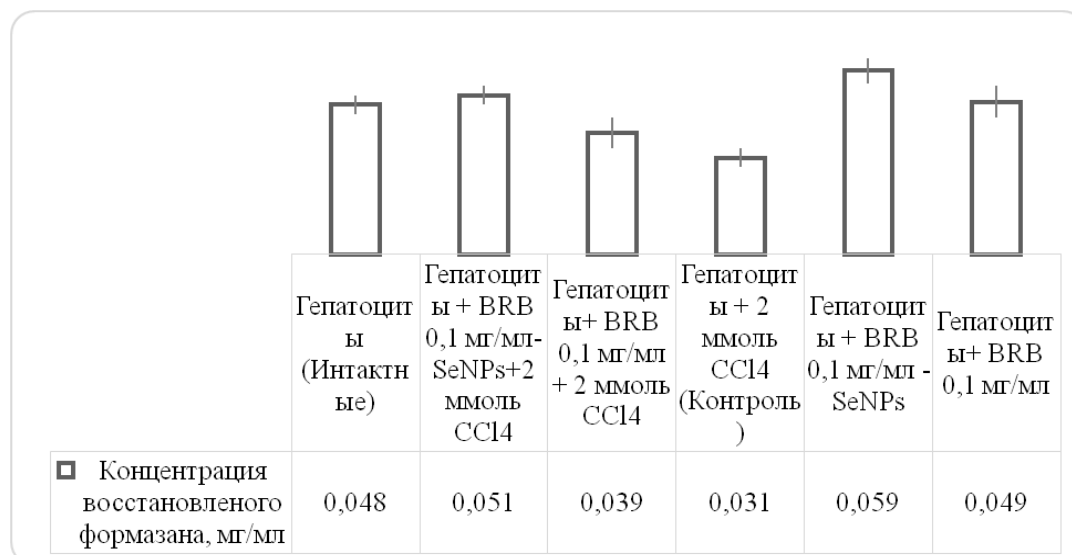


Рис. 1. Активность митохондриальных дегидрогеназ гепатоцитов в тесте МТТ.

Различие относительно интактной группы гепатоцитов и третьей, четвертой и пятой групп клеточных культур по накоплению формазана, а также относительно контрольной группы гепатоцитов статистически достоверно ($P \leq 0,05$ при $t = 2,57$).

Во время определения активности ферментов в среде инкубации гепатоцитов установлено повышение активности ферментов цитолиза в клеточной суспензии с внесением гепатотоксина CCl_4 в 3 раза относительно значений интактной группы клеток (табл. 1). Вместе с этим наблюдается повышение активности и в среде инкубации, где наряду с гепатотоксином вносили испытуемый препарат BRB-SeNPs в среднем на 45 %, что в 2 раза ниже, чем в контрольной группе гепатоцитов. Тогда как внесение в инкубационную среду препарата BRB-SeNPs и субстанции BRB не оказывало влияния на активность

данных ферментов в инкубационной среде, где данный показатель не отличался от значений интактной группы клеточной культуры.

Внесение субстанции берберина в среду для инкубации, содержащую гепатотоксин, не купировало достоверным образом роста активности указанных ферментов в ответ на воздействие CCl_4 , но сильно его ослабляло. Так, активности ферментов по сравнению с интактным контролем в среднем выше в 2 раза, однако в сравнении с контролем цитолиза они ниже в среднем на 90 %. Таким образом, применение сконструированного конъюгата BRB-SeNPs препятствует цитолитическому воздействию тетрахлорметана уже на клеточном уровне. Вместе с этим субстанция берберина также обладает цитопротективным действием, но в меньшей степени, чем разработанный препарат.

Таблица 1. Активность маркерных ферментов цитолиза в среде для инкубации гепатоцитов

№ п/п	Название образца	АЛТ, Е/л	АСТ, Е/л	ЛДГ, Е/л
1	Гепатоциты (Интактные)	29±4,1	19±3,1	226±11
2	Гепатоциты + BRB 0,1 мг/мл-SeNPs+2 ммоль CCl_4	44±6,1**	29±6,7**	327±19**
3	Гепатоциты+ BRB 0,1 мг/мл + 2 ммоль CCl_4	64±7,4**	43±7,6**	397±18**
4	Гепатоциты + 2 ммоль CCl_4 (Контроль)	99±14,2*	79±15,3*	582±32*
5	Гепатоциты + BRB 0,1 мг/мл -SeNPs	27±7,1	19±5,8	256±27
6	Гепатоциты+ BRB 0,1 мг/мл	28±6,6	21±5,8	229±18

Примечание: * Добавление CCl_4 вызывает рост активности АЛТ, АСТ и ЛДГ в сравнении с интактным контролем ($P \leq 0,05$ при $t = 2,57$); ** – внесение BRB-SeNPs и субстанции берберина вместе с CCl_4 снижает активность АЛТ, АСТ и ЛДГ, в сравнении с контролем цитолиза ($P \leq 0,05$ при $t = 2,57$)

На основании вышесказанного можно сделать заключение, что препарат BRB-SeNPs обладает гепатозащитным эффектом, препятствует разрушению гепатоцитов при воздействии на них гепатотоксина (CCl_4).

Обсуждение

Оценку биологической активности препарата BRB-SeNPs проводили *in vitro* на изолированных

гепатоцитах крысы с использованием четыреххлористого углерода (CCl_4) в качестве модельного гепатотоксина. Использование гепатоцитов в качестве биологического объекта имеет целый ряд преимуществ. Гепатоциты существенно увеличивают количественные возможности эксперимента сравнительно с целой печенью, при том, что они сохраняют интактную внутриклеточную ультраструктуру,

необходимую для адекватного воспроизведения на клеточном уровне специфических реакций целого органа.

На сегодняшний день четыреххлористый углерод является одним из самых популярных токсикантов, который используется для моделирования экспериментального поражения печени. Известно, что CCl_4 вызывает окислительный стресс и перекисное окисление липидов (ПОЛ) из-за образования высокоактивных радикалов, опосредованных цитохромом P450 (CYP2E1), что приводит к некрозу клеток печени, а при низких дозах преобладают переходные эффекты, такие как потеря ионов кальция клетками (Ca^{2+} секвестр), нарушение липидного гомеостаза, выделение цитокинов и апоптоз, с последующей регенерацией. Так же установлены некоторые аспекты, которые связаны с более высокими дозами или длительным воздействием, вызывают жировую дистрофию, фиброз, цирроз печени, а в ряде случаев рак. Кроме того, в остро токсичных дозах, когда некроз клеток печени превышает ее регенеративную способность, происходит летальная печеночная недостаточность. Поэтому четыреххлористый углерод был избран нами как эффективный токсикологический агент для моделирования экспериментального гепатита и цитолиза гепатоцитов [16, 17].

Анализируя полученные данные проведенного исследования на модели острого токсического повреждения гепатоцитов тетрахлорметаном, достоверно установлен гепатопротективный эффект как субстанции берберина, так и сконструированного нами препарата на основе берберина, конъюгированного с наночастицами селена.

Протективный эффект берберина на воздействие ксенобиотика CCl_4 объясняется прежде всего тем, что берберин усиливает активность эндогенных антиоксидантных ферментов, которые играют ключевую роль в борьбе с окислительным стрессом, который в данном случае вызывает CCl_4 . Это усиление происходит за счёт нескольких механизмов, включая активацию экспрессии генов и стабилизацию структур таких ферментов, как каталаза, супероксиддисмутаза и глутатионпероксидаза [6, 16, 17].

Механизм, лежащий в основе индуцированной берберинотом активации каталазы и супероксиддисмутаза, связан с его взаимодействием с различными сигнальными путями. Берберин активирует транскрипционный фактор (Nrf2), который контролирует экспрессию множества генов, отвечающих за антиоксидантную защиту клетки и метаболизм ксенобиотиков, а также играет ключевую роль в регуляции генов антиоксидантов [3, 18]. После активации ядерный фактор эритроидного происхождения 2 (Nrf2) перемещается в ядро и связывается с ARE (antioxidant response element) cis-действующие регуляторные элементы ответа на окислительный стресс в промоторах генов-мишеней, в том числе кодирующих каталазу и супероксиддисмутаза (СОД) [18]. Это связывание усиливает транскрипцию этих

генов, что приводит к увеличению синтеза и активности соответствующих ферментов [19]. Кроме того, активация берберинотом сигнального пути митоген-активируемой протеинкиназы (АМРК), которая контролирует энергетический баланс клетки, также способствует повышению уровня этих антиоксидантных ферментов. Доказано, что активация АМРК усиливает экспрессию антиоксидантных ферментов за счёт различных механизмов, включая стабилизацию Nrf2 и усиление его ядерной транслокации. Активируя сигнальные пути Nrf2 и АМРК, берберин обеспечивает значительное повышение уровня каталазы и супероксиддисмутаза, обеспечивая комплексную защиту от окислительного стресса [18, 19].

Вместе с этим субстанция берберина показала менее значимый эффект, чем наномодифицированный препарат на основе берберина, конъюгированный с наночастицами селена. Этот факт объясняется тем, что берберин имеет низкую биодоступность и быструю скорость метаболизации. Ограниченная биодоступность данного соединения является серьёзным препятствием для его клинического применения, но эти достижения в области технологий производства открывают путь к более эффективному использованию берберина в терапевтических целях [2, 3, 8].

Несмотря на то, что в последние десятилетия были разработаны и протестированы различные варианты наночастиц, такие показатели, как биодоступность, биосовместимость, биоразлагаемость, токсичность, эффективность и селективность, очень индивидуальны. Это в первую очередь связано с природой наночастиц и их физико-химическими свойствами [20].

В связи с необходимостью разработки экологически безопасных, недорогих, простых и высокоэффективных лекарственных препаратов, используемых в терапевтических целях и имеющих незначительные побочные эффекты, особое внимание уделяется наночастицам на основе эссенциального микроэлемента селена (Se) [6, 16, 17].

Известно, что метаболизм Se происходит в печени, а его дефицит приводит к развитию нескольких серьёзных заболеваний этого органа. Кроме того, печень является депо большинства селенопротеинов, которые могут снижать окислительный стресс, подавлять рост опухолей и предотвращать другие повреждения печени [17, 20].

Сконструированный нами препарат на основе берберина, конъюгированного с наночастицами селена, показал более высокие протективные свойства при воздействии четыреххлористого углерода на гепатоциты.

Заключение

Внесение 2 ммоль тетрахлорметана в культуральную среду для инкубации гепатоцитов приводит к снижению активности митохондриальных дегидрогеназ с $0,048 \pm 0,003$ мг/мл восстановленного формазана в интактной группе гепатоцитов, до

0,031±0,003 мг/мл ($P \leq 0,05$ при $t = 2,57$). При внесении препарата (BRB-SeNPs) в культуральную среду, содержащую (CCl_4), концентрация восстановленного формазана не имела достоверных отличий от интактной группы гепатоцитов и составила 0,051±0,002 мг/мл. Дыхательная активность гепатоцитов в среде для инкубации, содержащей (CCl_4), и берберин (BRB) была ниже, чем у интактных гепатоцитов 0,039±0,004 мг/мл ($P \leq 0,05$ при $t = 2,57$), но достоверно выше, чем в контрольной. Концентрация формазана в группе гепатоцитов, инкубируемых в питательной среде с (BRB-SeNPs) без гепатотоксина, составила 0,059±0,006 мг/мл, что достоверно выше ($P \leq 0,05$ при $t = 2,57$), чем у интактных клеток печени. Внесение субстанции (BRB) в среду для инкубации изменений активности митохондриальных дегидрогеназ не вызывало, концентрация формазана была 0,049±0,003 мг/мл.

Активность цитолитических ферментов в культуральной среде для инкубации интактных гепатоцитов АЛТ, АСТ и ЛДГ составила соответственно 29±4,1 Е/л, 19±3,1 Е/л и 226±11 Е/л. Внесение гепатотоксина (CCl_4) привело к резкому повышению

активности ферментов в инкубационной среде АЛТ до 99±14,2 Е/л, АСТ – 79±15,3 Е/л и ЛДГ – 582±32 Е/л ($P \leq 0,05$ при $t = 2,57$), что указывает на нарушение **порозности** клеточных мембран и выходу энзимов в межклеточное пространство. Активность ферментов в питательной среде с внесением наряду с (CCl_4) препарата (BRB-SeNPs) была достоверно выше, чем в среде с интактными гепатоцитами и составила АЛТ – 44±6,1 Е/л, АСТ – 29±6,7 Е/л и ЛДГ – 327±19 Е/л, ($P \leq 0,05$ при $t = 2,57$), но ниже, чем в контроле. Внесение (BRB) препятствовало цитолитическому действию (CCl_4), где активность ферментов в среде инкубации была АЛТ – 64±7,4 Е/л, АСТ – 43±7,6 Е/л и ЛДГ – 397±18 Е/л, что существенно ниже, чем в контроле, но выше, чем в среде с (CCl_4) и (BRB-SeNPs) ($P \leq 0,05$ при $t = 2,57$). Внесение в питательную среду (BRB-SeNPs), как и (BRB) не оказывает влияния на активность энзимов.

Берберин, конъюгированный с наночастицами селена, демонстрирует более высокий гепатопротекторный эффект, чем в свободном виде, что делает его многообещающим средством для дальнейшего клинического испытания при лечении патологий печени у животных.

Литература

1. Китаева М. П. Берберин – биологически активное вещество с цитостатическими свойствами // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: Сборник научных трудов Международной научной конференции, Москва, 17–18 декабря 2020 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2020. С. 385-392. doi: 10.52101/9785870190921_2021_8_385
2. Berberine: A review of its pharmacokinetics properties and therapeutic potentials in diverse vascular diseases / X. Ai, P. Yu, L. Peng, et al. // Frontiers in Pharmacology. 2021 Vol. 12 P. 762654. doi: 10.3389/fphar.2021.762654.
3. Therapeutic and biological activities of berberine: The involvement of Nrf2 signaling pathway / M. Ashrafzadeh, H. S. Fekri, Z. Ahmadi, et al. // Journal of Cellular Biochemistry. 2020 Vol. 121 No 2 P. 1575-1585. doi: 10.1002/jcb.29392
4. The role of berberine in Covid-19: potential adjunct therapy / A. O. Babalghith, H. M. Al-Kuraishy, A. I. Al-Gareeb, et al. // Inflammopharmacology. 2022 Vol. 30 No. 6 P. 2003-2016. doi: 10.1007/s10787-022-01080-1
5. Sarbadhikary P., George B. P., Abrahamse H. Inhibitory role of berberine, an isoquinoline alkaloid, on NLRP3 inflammasome activation for the treatment of inflammatory diseases // Molecules. 2021 Vol. 26 No. 20 P. 6238. doi: 10.3390/molecules26206238
6. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging / K. Jomova, R. Raptova, S. Y. Alomar, et al. // Archives of Toxicology. 2023 Vol. 97 No. 10 P. 2499-2574. doi: 10.1007/s00204-023-03562-9.
7. Berberine in non-alcoholic fatty liver disease - a review / A. Koperska, A. Wesołek, M. Moszak, et al. // Nutrients. 2022 Vol. 14, No. 17 P. 3459. doi: 10.3390/nu14173459
8. Almatroodi S. A., Alsahli M. A., Rahmani A. H. Berberine: An important emphasis on its anticancer effects through modulation of various cell signaling pathways // Molecules. 2022. Vol. 27. No. 18 P. 5889. doi: 10.3390/molecules2718588
9. Polycystic ovary syndrome management: a review of the possible amazing role of berberine / M. Rondanelli, V. Infantino, A. Riva, et al. // Archives of Gynecology and Obstetrics. 2020 Vol. 301. No. 1. P. 53-60. doi: 10.1007/s00404-020-05450-4
10. Berberine is a potential therapeutic agent for metabolic syndrome via brown adipose tissue activation and metabolism regulation / X. Hu, Y. Zhang, Yn Xue, et al. // Am J Transl Res. 2018 Vol. 10. No. 11. P. 3322-3329.
11. Singh N., Sharma B. Toxicological effects of berberine and sanguinarine // Frontiers in molecular biosciences. 2018. Vol. 5. P. 21.
12. Изучение возможности использования коллоидного селена в качестве наноразмерного средства внутриклеточной доставки / А. Ю. Исаева, С. А. Староверов, А. А. Волков и др. // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. 2012. Т. 48. №. 2-2 С. 225-227.

13. Effects of Selenium Nanoparticles on Preventing Patulin-Induced Liver, Kidney and Gastrointestinal Damage / Y. Qiu, X. Chen, Z. Chen, et al. // *Foods*. 2022 Vol. 11. No. 5. P. 749. doi: 10.3390/foods11050749
14. Горшунова С. В., Древко Я. Б. Наночастицы селена как кормовая добавка для сельскохозяйственных животных // *Зыкинские чтения : Материалы Национальной научно-практической конференции, посвященной памяти доктора медицинских наук, профессора Леонида Федоровича Зыкина, Саратов, 28 апреля 2023 года. Саратов: Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, 2023 С. 49-53.*
15. The Functions of Selenium and Selenoproteins Relating to the Liver Diseases / N. Shang, X. Wang, Q. Shu, et al. // *J Nanosci Nanotechnol*. 2019. Vol. 19. No. 4. P. 1875-1888. doi: 10.1166/jnn.2019.16287
16. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants / K. Jomova, S. Y. Alomar, S. H. Alwasel, et al. // *Archives of Toxicology*. 2024 Vol. 98. No. 5 P. 1323-1367. doi: 10.1007/s00204-024-03696-4
17. Goltyaev M. V., Varlamova E. G. The role of selenium nanoparticles in the treatment of liver pathologies of various natures // *International Journal of Molecular Sciences*. 2023 Vol. 24. No. 13 P. 10547. doi: 10.3390/ijms241310547
18. Roles of oxidative stress and Nrf2 signaling in pathogenic and non-pathogenic cells: A possible general mechanism of resistance to therapy / M. Hammad, M. Raftari, R. Cesário, et al. // *Antioxidants*. 2023 Vol. 12. No. 7 P. 1371. doi: 10.3390/antiox12071371
19. Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redox regulation / J. Pei, X. Pan, G. Wei, et al. // *Frontiers in Pharmacology*. 2023 Vol. 14. P. 1147414
20. Advanced application of nanotechnology in active constituents of traditional Chinese medicines / C. Qiu, J. Z. Zhang, B. Wu, et al. // *Journal of Nanobiotechnology*. 2023. Vol. 21. No. 1. P. 456. doi: 10.1186/s12951-023-02165-x

References

1. Kitaeva M. P. Berberine – a biologically active substance with cytostatic properties // *Modern trends in development of health-saving technologies: Collection of scientific papers of the International Scientific Conference, Moscow, December 17-18, 2020. - Moscow: Federal State Budgetary Scientific Institution "All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants", 2020. P. 385-392. doi: 10.52101/9785870190921_2021_8_385*
2. Berberine: A review of its pharmacokinetics properties and therapeutic potentials in diverse vascular diseases / X. Ai, P. Yu, L. Peng, et al. // *Frontiers in Pharmacology*. 2021. Vol. 12. P. 762654. doi: 10.3389/fphar.2021.762654.
3. Therapeutic and biological activities of berberine: The involvement of Nrf2 signaling pathway / M. Ashrafizadeh, H. S. Fekri, Z. Ahmadi, et al. // *Journal of Cellular Biochemistry*. 2020. Vol. 121 No. 2. P. 1575-1585. doi: 10.1002/jcb.29392.
4. The role of berberine in Covid-19: potential adjunct therapy / A. O. Babalghith, H. M. Al-Kuraishy, A. I. Al-Gareeb, et al. // *Inflammopharmacology*. 2022. Vol. 30 No. 6. P. 2003-2016. doi: 10.1007/s10787-022-01080-1
5. Sarbadhikary P., George B.P., Abrahamse H. Inhibitory role of berberine, an isoquinoline alkaloid, on NLRP3 inflammasome activation for the treatment of inflammatory diseases // *Molecules*. 2021. Vol. 26. No. 20. P. 6238. doi: 10.3390/molecules26206238
6. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging / K. Jomova, R. Raptova, S. Y. Alomar, et al. // *Archives of Toxicology*. 2023 Vol. 97 No. 10. P. 2499-2574. doi:10.1007/s00204-023-03562-9
7. Berberine in non-alcoholic fatty liver disease - a review / A. Koperska, A. Wesołek, M. Moszak, et al. // *Nutrients*. 2022 Vol. 14, No. 17 P. 3459. doi: 10.3390/nu14173459
8. Almatroodi S. A., Alsahli M. A., Rahmani A. H. Berberine: An important emphasis on its anticancer effects through modulation of various cell signaling pathways // *Molecules*. 2022. Vol. 27. No. 18. P. 5889. doi: 10.3390/molecules2718588
9. Polycystic ovary syndrome management: a review of the possible amazing role of berberine / M. Rondanelli, V. Infantino, A. Riva, et al. // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2020. Vol. 301. No. 1. P. 53-60. doi: 10.1007/s00404-020-05450-4
10. Berberine is a potential therapeutic agent for metabolic syndrome via brown adipose tissue activation and metabolic regulation / X. Hu, Y. Zhang, Yn Xue, et al. // *Am J Transl Res*. 2018. Vol. 10. No. 11. P. 3322-3329
11. Singh N., Sharma B. Toxicological effects of berberine and sanguinarine // *Frontiers in molecular biosciences*. 2018.Vol. 5. P. 21.
12. Study of the possibility of using colloidal selenium as a nanoscale intracellular delivery vehicle / A. Yu. Isaeva, S. A. Staroverov, A. A. Volkov, et al. // *Scientific notes of the educational institution Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine*. 2012. Vol. 48. No. 2-2 P. 225-227.
13. Effects of Selenium Nanoparticles on Preventing Patulin-Induced Liver, Kidney and Gastrointestinal Damage / Y. Qiu, X. Chen, Z. Chen, et al. // *Foods*. 2022. Vol. 11. No. 5. P. 749. doi: 10.3390/foods11050749

14. Gorshunova S. V., Drevko Ya. B. Selenium nanoparticles as a feed additive for farm animals // Zykinskie readings: Proceedings of the National scientific and practical conference dedicated to the memory of Doctor of Medical Sciences, Professor Leonid Fedorovich Zykin, Saratov, April 28, 2023. Saratov: Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, 2023. P. 49-53.
15. The Functions of Selenium and Selenoproteins Relating to the Liver Diseases / N. Shang, X. Wang, Q. Shu, et al. // J Nanosci Nanotechnol. 2019. Vol. 19. No. 4. P. 1875-1888. doi: 10.1166/jnn.2019.16287
16. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants / K. Jomova, S. Y. Alomar, S. H. Alwasel, et al. // Archives of Toxicology. 2024. Vol. 98. No. 5 P. 1323-1367. doi:10.1007/s00204-024-03696-4.
17. Goltyaev M. V., Varlamova E. G. The role of selenium nanoparticles in the treatment of liver pathologies of various natures // International Journal of Molecular Sciences. 2023. Vol. 24. No. 13. P. 10547. doi: 10.3390/ijms241310547
18. Roles of oxidative stress and Nrf2 signaling in pathogenic and non-pathogenic cells: A possible general mechanism of resistance to therapy / M. Hammad, M. Raftari, R. Cesário, et al. //Antioxidants. 2023 Vol. 12. No. 7. P. 1371. doi: 10.3390/antiox12071371
19. Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redox regulation / J. Pei, X. Pan, G. Wei, et al. // Frontiers in Pharmacology. 2023. Vol. 14. P. 1147414
20. Advanced application of nanotechnology in active constituents of traditional Chinese medicines / C. Qiu, J. Z. Zhang, B. Wu, et al. // Journal of Nanobiotechnology. 2023. Vol. 21, No. 1. P. 456. doi: 10.