



ARTICOL DE CERCETARE

## Influența comparativă a coptizinei bisulfat și berberinei bisulfat asupra evoluției hepatitei toxice acute: studiu experimental

Rodica Peredelcu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*Catedra de farmacologie și farmacie clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.*

**Data primirii manuscrisului: 29.01.2019**  
**Data acceptării spre publicare: 06.05.2019**

**Autor corespondent:**

Rodica Peredelcu, asistent universitar  
 Catedra de farmacologie și farmacie clinică  
 Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”  
 bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004  
 e-mail: rodica.peredelcu@usmf.md

**Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat**

Până în prezent nu a fost cercetată influența comparativă a coptizinei bisulfat și a substanței de referință, berberinei bisulfat, asupra evoluției hepatitei toxice acute.

**Ipoteza de cercetare**

Descrierea rezultatelor preclinice obținute ar facilita studiul proprietăților farmacologice ale coptizinei bisulfat în cercetările clinice ulterioare, cu adaptarea tratamentului asociat al maladiei.

**Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu**

Articolul elucidează date despre indicii hepatici obținuți la administrarea coptizinei bisulfat în dozele 1 mg/kg și 5 mg/kg timp de 7 și 14 zile, comparativ cu administrarea berberinei bisulfat, în doze și termeni similari. În premieră s-a dovedit eficiența coptizinei bisulfat asupra hepatitei toxice acute, comparativ cu berberina bisulfat care, practic, nu a influențat evoluția hepatitei toxice experimentale în dozele cercetate, fiind inferioară coptizinei bisulfat.

**Rezumat**

**Introducere.** Relatări despre efectele farmacologice și toxicologice ale extractelor din rostopască se întâlnesc frecvent, însă, în foarte puține lucrări se cercetează acțiunea alcaloizilor puri, preponderent ai berberinei bisulfat. Din aceste considerente, scopul cercetării actuale a fost evaluarea eficienței coptizinei bisulfat asupra parametrilor hepatici în hepatita toxică experimentală, comparativ cu berberina bisulfat.

RESEARCH ARTICLE

## The comparative influence of coptisine bisulfate and berberine bisulfate on the evolution of acute toxic hepatitis: experimental study

Rodica Peredelcu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*Chair of pharmacology and clinical pharmacy, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.*

**Manuscript received on: 29.01.2019**  
**Accepted for publication on: 06.05.2019**

**Corresponding author:**

Rodica Peredelcu, assistant professor  
 Chair of pharmacology and clinical pharmacy  
 Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy  
 165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004  
 e-mail: rodica.peredelcu@usmf.md

**What is not known yet, about the topic**

So far, the comparative influence of coptisine bisulfate and a reference substance, berberine bisulfate, on the development of acute toxic hepatitis has not been investigated.

**Research hypothesis**

The description of the obtained preclinical results would facilitate the study of the pharmacological properties of coptisine bisulfate in further clinical research as well as the adaptation of associated disease treatment.

**Article's added novelty on this scientific topic**

The article elucidates liver indicators obtained with coptisine bisulfate administered in doses of 1 mg/kg and 5 mg/kg for 7 and 14 days compared to berberine bisulfate in similar doses and terms. For the first time, the efficacy of coptisine bisulfate on acute toxic hepatitis was demonstrated compared to berberine bisulfate, which practically did not influence the evolution of experimental toxic hepatitis at investigated doses, being inferior to coptisine bisulfate.

**Abstract**

**Introduction.** There are frequent reports of the pharmacological and toxicological effects of the celandine extracts, but very few works about the action of pure alkaloids, mainly berberine bisulfate. For these reasons, the current research goal was to evaluate the efficacy of coptisine bisulfate on hepatic parameters in experimental toxic hepatitis compared to berberine bisulfate.

**Material și metode.** Este un studiu prospectiv, comparativ, experimental. Acordul Comitetului de Etică a Cercetării a fost obținut. Au fost incluse 110 animale experimentale, sănătoase din punct de vedere medical, care nu au fost înrolate în alte studii științifice până la momentul cercetării preclinice și cărora li s-a modelat hepatita toxică acută cu tetraclorură de carbon ( $\text{CCl}_4$ ) și li s-a administrat coptizina bisulfat (coptizina) și berberina bisulfat (berberina). Lotul martor a inclus câte 5 animale intacte, cărora li s-a administrat subcutanat ulei de măsline steril. După eutanasiere, a fost recoltat sângele pentru studiul parametrilor biochimici în Laboratorul Central de Cercetări Științifice a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Relevanța statistică între diferite loturi s-a calculat în baza valorilor medii, deviației și erorii standard, testului de semnificație t-Student.

**Rezultate.** La modelarea hepatitei toxice acute prin  $\text{CCl}_4$  s-a constatat o majorare semnificativă a activității ALAT, cu o creștere mai puțin importantă a activității AsAT. Administrarea coptizinei în doza de 1 mg/kg timp de 7 zile pe fundalul  $\text{CCl}_4$  a preîntâmpinat majorarea activității transaminazelor, menținându-le în limitele animalelor din lotul martor, fapt confirmat și prin menținerea valorilor coeficientului de Ritis, iar în doza de 5 mg/kg, practic, nu a preîntâmpinat majorarea activității ALAT, cu o diminuare a AsAT. În aceste condiții, coeficientul de Ritis a constituit 1,42 în lotul cu coptizina față de 1,18 în cel cu  $\text{CCl}_4$ . La utilizarea berberinei în doza de 1 mg/kg timp de 7 zile, pe fundalul modelării afecțiunii hepatice, s-a constatat că activitatea AsAT era în limitele valorilor animalelor din lotul martor, în timp ce activitatea ALAT a crescut esențial față de lotul martor și chiar cel cu  $\text{CCl}_4$ ; în doza de 5 mg/kg, activitatea transaminazelor a crescut atât față de lotul martor, cât și față de cel cu hepatită experimentală, confirmat și prin coeficientul de Ritis, cu valori la nivelul animalelor cu leziune hepatică.

**Concluzie.** La animalele cu hepatită experimentală, coptizina manifestă un efect protector în doza de 1 mg/kg, timp de 7 zile, prevenind dezvoltarea afecțiunii hepatice. În doza de 5 mg/kg, aceasta, practic, nu preîntâmpină leziunea toxică a tetraclorurii de carbon, după 14 zile determinând chiar o majorare a activității transaminazelor. Astfel, putem relata un efect dependent de doză, fiind obținute date științifice care confirmă că extractele din *Chelidonium majus* pot manifesta hepatotoxicitate proporțională cu doza.

**Cuvinte cheie:** coptizina, berberina, tetraclorură de carbon, hepatotoxicitate, transaminaze.

## Introducere

Rostopasca, *Chelidonium majus* L., este o plantă medicinală din familia *Papaveraceae*, care în popor poartă numele de „buruiană sfântă”, „negelăriță”, „iarba rânduncii”. Se consideră rezistentă atât pe timp torid și secetos de vară, cât și pe timp rece de iarnă, când poate fi găsită sub zăpadă.

Despre rostopască se cunoaște încă din antichitate. Lucrările lui Paracelsus, Dioscordies indicau despre proprietățile miraculoase și benefice ale plantei. Astăzi, ea poate fi întâlnită în Europa, America de Nord, Asia, inclusiv, Republica Moldova.

**Material and methods.** It is a prospective, comparative, experimental study. The Agreement of the Ethics Committee of Research is obtained. There were 110 experimental animals included, healthy from a medical point of view and not enrolled in other scientific studies until the pre-clinical research. They were treated with carbon tetrachloride ( $\text{CCl}_4$ ) to induce toxic hepatitis and coptisine bisulfate (coptisine) and berberine bisulfate (berberine) were used as a remedy. The witness group included 5 intact animals, which received sterile olive oil subcutaneously. After euthanasia, the blood was collected for the study of biochemical parameters in the Central Laboratory of Scientific Research of the *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy. The statistical relevance between different groups was calculated based on the mean values, the deviation and the standard error, the t-Student significance test.

**Results.** In the modeling of acute toxic hepatitis by  $\text{CCl}_4$  there was a significant increase in ALT activity with a less important increase in AST activity. Administration of coptisine at a dose of 1 mg/kg for 7 days after  $\text{CCl}_4$  prevented the increase of transaminase activity, keeping them within the witness group ranges, which was confirmed by maintaining the De Ritis Ratio and at a dose of 5 mg/kg practically did not prevent the increase of the ALT activity with a decrease in the AST. Under these conditions, the De Ritis Ratio was 1.42 in the group with coptisine versus 1.18 in the  $\text{CCl}_4$  one. The use of berberine at the dose of 1 mg/kg for 7 days on the background of liver disease modeling revealed that the activity of AST was within the limits of the animals in the witness group, while that of ALT increased essentially from the witness group and even the  $\text{CCl}_4$  group; in the 5 mg/kg dose, transaminase activity increased both from the witness group and experimental hepatitis group, confirmed by the De Ritis Ratio values of animals with hepatic injury.

**Conclusion.** According to the results, we can deduce that in animals with experimental hepatitis, coptisine exhibits a protective effect at the dose of 1 mg/kg for 7 days, preventing the development of liver disease, while in the dose of 5 mg/kg practically does not prevent the toxic lesion of carbon tetrachloride, after 14 days even causing an increase in transaminase activity. Thus, we can report a dose-dependent effect, obtaining scientific data that extracts from *Chelidonium majus* may exhibit hepatotoxicity.

**Key words:** coptisine, berberine, carbon tetrachloride, hepatotoxicity, transaminases.

## Introduction

Celandine, *Chelidonium majus* L., is a medicinal plant of the *Papaveraceae* family, also called “holy weed”, “nipplewort”, and “swallowwort”. It is considered resistant both to torrid and dry summer and winter’s cold weather, when it can be found under the snow.

Celandine has been known since antiquity; the works of Paracelsus, Dioscordies, showed the miraculous and beneficial properties of the plant. Today it can be found in Europe, North America, Asia, and in the Republic of Moldova as well.

Interesul sporit față de efectele farmacologice ale plantei s-a păstrat până în zilele noastre, cercetătorii științifici încercând tot mai frecvent să cerceteze activitatea farmacologică a alcaloizilor prezenți în *Chelidonium majus*.

Conform Zielinska S. *et al.* (2018) și Ye X. *et al.* (2009), una dintre indicațiile cele mai răspândite ale rostopască este patologia hepatică. Se consideră că proprietățile hepatoprotectoare sunt atribuite alcaloizilor izochinolinici – berberina, coptizina, sanguinarina, cheleretrina etc., prezentând efect benefic asupra funcțiilor ficatului și care manifestă un șir de efecte farmacologice, precum: antioxidant, coleretic, antiinflamator și imunomodulator (coptizina, berberina, protopina, cheleritrina, sanguinarina, acidul chelidonic) [11, 12].

Gîlca M. *et al.* (2010), Maji A. *et al.* (2015), au demonstrat în studii experimentale că extractul din rostopască nu alterează în normă funcțiile ficatului, dar extractul și alcaloizii pot preveni leziunile hepatice induse de  $\text{CCl}_4$ , paracetamol, prin diminuarea activității enzimelor (AlAT, AsAT, FA) și nivelului bilirubinei [3, 6]. Un rol important prezintă efectul antioxidant, ce previne acțiunea negativă a stresului oxidativ asupra hepatocitelor, fiind mai pronunțat la extractul din rostopască ce conține un sumar de alcaloizi. Acest efect este cauzat, după părerea Ye X. *et al.* (2009) și Zielinska S. *et al.* (2018), de captarea radicalilor liberi (hidroxil, peroxil, hipoclorid) și anionilor (superoxid, singlet) prin creșterea activității enzimelor antioxidante (catalaza, superoxid reductaza, superoxid dismutaza MnSOD) și ameliorarea markerilor de distrugere a celulelor și inflamației: nivel scăzut al proteinei TNF- $\alpha$ , IL-6, NF $\kappa$ B, p65, cas-3, iNOS [11, 12].

În Monografia OMS (2010) este remarcat că, la administrarea intragastrală a extractului din rostopască (doze de 12,5, 62,5 și 125 mg/kg de 2 ori pe săptămână timp de 3 săptămâni), s-a determinat reducerea veridică a activității AlAT, AsAT, fosfatazei alcaline, LDH și nivelului bilirubinei cu restabilirea nivelului colesterolului, modificat la administrarea tetraclorurii de carbon, iar la examinarea histologică s-a determinat micșorarea numărului hepatocitelor necrotizate și a crescut de 2 ori eliminarea bilei [13].

Mitra *et al.* (1996), Gîlca M. *et al.* (2010), au demonstrat prin studii experimentale efectul hepatoprotector al berberinei și coptizinei la animale de laborator cu hepatită toxică indusă cu tetraclorură de carbon. Ei au determinat scăderea necrozei celulare, absența fibrozei și reducerea nivelului de lipide. Mecanismele de acțiune hepatoprotectoare au presupus ameliorarea stresului oxidativ, prin restabilirea peroxidării lipidelor, speciilor intracelulare de oxigen reactiv, nivelului glutatationului redus (GSH) și normalizarea apoptozei scăzute prin fragmentarea nucleului, eliberarea citocromului C, activarea caspazei 3 [3, 7]. Conform datelor obținute de Chai F. *et al.* (2018), coptizina a manifestat un efect protector asupra leziunilor hepatice la administrarea timp de 7 zile șoarecilor; prin reducerea nivelului de lipopolizaharide și D-galactozamină (LPS/D-GalN). Hepatotoxicitatea cauzată de toxic a fost, de asemenea, ameliorată *in vivo* la șoareci și *ex vivo* în culturi de hepatocite [2]. Au fost reduși la nivele intermediare parametrii biochimici (activitățile AlAT, AsAT și fosfataza alcalină) la animalele de control și la cele

The increased interest in the pharmacological effects of the plant has been preserved to this day, with scientific researchers increasingly trying to investigate the pharmacological activity of the alkaloids present in *Chelidonium majus*.

According to Zielinska S. *et al.* (2018) and Ye X. *et al.* (2009), one of the most widespread indications of the celandine is the liver pathology. It is considered that the hepatoprotective properties are attributed to the isoquinoline alkaloids – berberine, coptisine, sanguinarine, chelerythrine etc., which have a beneficial effect on the liver functions and exhibit a range of pharmacological effects such as antioxidant, choleric, anti-inflammatory and immunomodulatory (coptisine, protopine, berberine, chelerythrine, sanguinarine, chelidonic acid) [11, 12].

Gîlca M. *et al.* (2010), Maji A. *et al.* (2015), have shown in their experimental studies that celandine extract does not alter liver function, and the extract and alkaloids can prevent  $\text{CCl}_4$ -induced and paracetamol-induced liver damage by decreasing enzyme activity (ALT, AST, ALP) and bilirubin levels [3, 6]. An important role is represented by the antioxidant effect with the negative effect of the oxidative stress on the hepatocytes, being more pronounced in the extract from the celandine which contains a number of alkaloids. This effect is caused, in the view of Ye X. *et al.* (2009) and Zielinska S. *et al.* (2018), by the capture of free radicals (hydroxyl, peroxy, hypochlorite) and anions (superoxide, singlet) by increasing the activity of antioxidant enzymes (catalase, superoxide reductase, superoxide dismutase MnSOD) and improving markers of cell destruction and inflammation: decreased level of TNF- $\alpha$ , IL-6, NF $\kappa$ B, p65, cas-3, iNOS [11, 12].

In the WHO Monograph (2010), it is noted that the oral administration of the extract from the celandine (doses of 12.5, 62.5 and 125 mg/kg twice a week for 3 weeks) resulted in a true reduction in activity of ALT, AST, alkaline phosphatase, LDH and bilirubin levels with the cholesterol level stabilizing, modified at the administration of carbon tetrachloride. Histological examination showed a decrease in the number of necrotizing hepatocytes and a double increase in the elimination of the bile [13].

Mitra *et al.* (1996), Gîlca M. *et al.* (2010), demonstrated, in experimental studies, the hepatoprotective effect of berberine and coptisine in laboratory animals with carbon tetrachloride induced toxic hepatitis. They have reduced cell necrosis, lack of fibrosis and reduced lipid levels. Mechanisms of hepatoprotective action have supposedly ameliorated oxidative stress by restoring lipid peroxidation, intracellular reactive oxygen species, reduced glutathione (GSH) and normalization of apoptosis decreased by nucleus fragmentation, cytochrome C release, caspase 3 activation [3, 7]. According to the data obtained by Chai F. *et al.* (2018), coptisine showed a protective effect on hepatic injuries for mice during a 7 day course by reducing the level of lipopolysaccharides and D-galactosamine (LPS/D-GalN). Hepatotoxicity caused by the toxin was also decreased *in vivo* in mice and *ex vivo* in hepatocyte cultures [2]. Biochemical parameters (ALT, AST and alkaline phosphatase activities) were reduced to intermediate levels in control animals and

tratate cu tetraclorură de carbon conform datelor obținute de către Ye X. *et al.* (2009), Hu Y. *et al.* (2017) [5, 11].

Zielinska S. *et al.* (2018), în studii clinice cu produse care conțin extract de *Chelidonium majus*, au stabilit că la pacienții cu afecțiuni hepatobiliare (colecistită, colangită, colecistită, sindrom postcolecistectomic, hepatită toxică alcoolică) se atestă îmbunătățirea semnificativă a parametrilor clinici, instrumentali și de laborator (bilirubină, transaminaze, tabloul sângelui). Cercetările preclinice, efectuate pe hamsteri și șobolani (cărora le-a fost înlăturată vezica biliară și n-au răspuns la tratamentul tradițional), au demonstrat acțiune colecistokinetică prin stimularea musculaturii vezicii biliare de către berberină [12].

În baza datelor literaturii științifice menționate anterior, s-a constatat efectul hepatoprotector al coptizinei și berberinei, alcaloizi protoberberinici cu conținut bogat în *Chelidonium majus*. Având în vedere că Republica Moldova este considerată o zonă endemică a afecțiunilor hepatobiliare, este necesar studiul metodelor noi de tratament hepatoprotector cu eficiență și randament sporit. Beneficiul farmaco-economic al rostopascăi este faptul că ea nu este pretențioasă la creștere și poate fi găsită, practic, în toate anotimpurile și în toate zonele țării. O altă latură pozitivă este metoda nouă, mai puțin costisitoare, de obținere a sării bisulfat de coptizină, care permite investigarea mai profundă a unor acțiuni farmacologice ale coptizinei, elaborată de către cercetătorii conferențieri I. Casian și A. Casian din cadrul Laboratorului de analiză, standardizare și control al medicamentului (Centrul Științific al Medicamentului din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu”). Întrucât berberina a fost cercetată în studii mai vaste, în care a fost stabilit efectul său hepatoprotector, dar, totodată, s-a atestat și efectul ei toxic, argumentarea necesității a fost de a realiza cercetări preclinice comparative ale berberinei și coptizinei. Dovezile preclinice ce țin de toxicitatea și efectul hepatoprotector al coptizinei au fost insuficiente, fapt ce a contribuit la cercetarea proprietăților ei hepatoprotectoare.

### Material și metode

Cercetarea noastră include un studiu experimental, comparativ și prospectiv, efectuat în cadrul Catedrei de farmacologie și farmacie clinică, care a fost îndeplinit în conformitate cu cerințele Comitetului de Etică a Cercetării, ce țin de controlul și supravegherea experimentelor pe animale. Protocolul cercetării a fost înaintat pentru aprobare Comitetului de Etică a Cercetării și în data de 24 martie 2012 a fost obținut un aviz favorabil.

Coptizina bisulfat a fost obținută din extract hidroalcoolic de *Chelidonium majus*, prin purificarea preliminară a extractului vegetal, tratarea cu acid sulfuric la pH-ul 3,0-3,5 și cristalizarea bisulfatului de coptizină la pH-ul 1,0-1,2. Procedeu elaborat de către Casian I. și Casian A. (2011) este simplu, econom și permite investigarea mai profundă a unor acțiuni farmacologice ale coptizinei, precum și implementarea acestei substanțe în industria farmaceutică [1].

În studiul preclinic au fost incluși 110 șobolani albi, de ambele sexe, crescuți în vivariul Universității de Stat de Me-

those treated with carbon tetrachloride according to data obtained by Ye X. *et al.* (2009) and Hu Y. *et al.* (2017) [5, 11].

Zielinska S. *et al.* (2018), have found, in clinical trials with products containing *Chelidonium majus*, that significant improvements in clinical, instrumental and laboratory parameters (bilirubin, transaminases, blood test) have been reported in patients with hepatobiliary disorders (cholelithiasis, colangitis, cholecystitis, postcolecistectomic syndrome, alcoholic hepatitis). Preclinical researches performed on hamsters and rats (which have had their gallbladder removed and have not responded to traditional treatment) have demonstrated cholecystokinetic action by stimulating the gallbladder musculature with berberine [12].

Based on the above-mentioned scientific literature, the hepatoprotective effect of coptisine and berberine, protoberberine alkaloids, with a content rich in *Chelidonium majus*, was found. Taking into consideration that the Republic of Moldova is considered an endemic area of hepato-biliary diseases, it is necessary to study the new hepatoprotective treatment methods with increased yield and efficiency. The pharmacoeconomic benefit of celandine is that it is not demanding to specific grow conditions, thus can be found practically in all seasons and in all areas of the country. Another positive side is the new, less costly, method of obtaining coptisine bisulfate salt, allowing a deeper investigation of some pharmacological actions of coptisine, discovered by lecturers I. Casian and A. Casian, from the Laboratory of Analysis, Standardization and Drug Control (Scientific Drug Center of the *Nicolae Testemițanu* SUMPh). Since berberine has been examined in larger studies, where the hepatoprotective effect has been established, but its toxic effect has been confirmed as well, the reason for its necessity was to carry out preclinical comparative research of berberine and coptisine. Preclinical evidence of the toxicity and hepatoprotective effect of coptisine was insufficient, which contributed to the investigation of its hepatoprotective properties.

### Material and methods

Our research includes an experimental, comparative and prospective study conducted at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, which was performed according to the Ethics Committee's requirements for the control and surveillance of animal experiments. The research protocol was submitted for approval to the Research Ethics Committee and a favorable notice was obtained on 24 March 2012.

Coptisine bisulfate was obtained from the *Chelidonium majus* hydroalcoholic extract by preliminary purification of the plant extract, treatment with sulfuric acid at a pH of 3.0-3.5 and crystallization of coptisine bisulfate at a pH of 1.0-1.2. The procedure developed by Casian I. and Casian A. (2011) is simple, economical and allows for a deeper investigation of some pharmacological actions of coptisine, as well as the implementation of this substance in the pharmaceutical industry [1].

In the preclinical study, 110 white rats of both genders, who were medically healthy and who were not included in other preclinical researches until the beginning of the research,

dicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, sănătoși din punct de vedere medical și care nu au fost incluși în alte cercetări preclinice până la momentul demarării cercetării. Greutatea corporală a șobolanilor a fost cuprinsă între 170 și 250 grame, vârsta – 12 săptămâni. Animalele experimentale au fost repartizate în 2 loturi a câte 5 animale, care au constituit loturile martor, și în 10 loturi a câte 10 animale, care au constituit loturile de control și cele tratate cu coptizină și berberină, în condiții stabile de umiditate relativă 40-60% și temperatură constantă de  $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ , în încăpere separată, fiind amplasate în cuști de polipropilen cu rumeguș de lemn ca așternut. Toate animalele au avut acces liber la hrană și apă după 40 minute de la administrarea perorală a substanței cercetate. Având în vedere faptul că cercetările experimentale aveau o durată de 7 zile și 14 zile, animalele erau cântărite repetat o dată la 3 zile, ajustând dozele administrate de coptizină și berberină la oscilațiile masei corporale, astfel asigurând dozele cercetate corecte de administrare.

Hepatita toxică acută (HTA) s-a modelat prin administrarea parenterală la șobolani a soluției uleioase sterile de tetraclorură de carbon cu concentrația 50% în ulei de măsline – reieșind din calculul a câte 0,4 ml/100 g timp de 4 zile.

În scopul determinării acțiunii coptizinei și berberinei asupra hepatitei toxice acute modelate, s-au realizat studii comparative ale influenței coptizinei în doze de 1 și 5 mg/kg și berberinei în doze de 1 și 5 mg/kg în termen de 7 și 14 zile asupra evoluției hepatitei experimentale, cu analiza parametrilor biochimici obținuți: alaninaminotransferaza (AlAT), aspartataminotransferaza (AsAT), fosfataza alcalină (FA), gamma-glutamyltranspeptidaza (GGTP), bilirubina și fracțiile ei la utilizarea substanțelor menționate.

Animalele au fost repartizate în 12 loturi experimentale. Șobolanilor din lotul 1 și 7 li s-a administrat subcutanat, o dată în zi, soluție sterilă din ulei de măsline, în doza 0,4 ml/100 g timp de 4 zile, care au servit drept loturi martor; șobolanilor din lotul 2 și 8 li s-a administrat soluție 50% tetraclorură de carbon în ulei de măsline steril, în doză 0,4 ml/100 g timp de 4 zile, fiind considerate drept loturi de control. Șobolanilor din loturile 3 și 9, paralel cu  $\text{CCl}_4$ , din prima zi li s-a administrat enteral coptizină bisulfat în doză 1 mg/kg timp de 7 și 14 zile, respectiv, iar celor din loturile 4 și 10 – coptizină bisulfat în doza de 5 mg/kg timp de 7 și 14 zile, respectiv. Berberina bisulfat în doză 1 mg/kg timp de 7 și 14 zile a fost administrată animalelor din loturile 5 și 11, iar în doza de 5 mg/kg – în loturile 6 și 12, fiind asociată cu soluția 50%  $\text{CCl}_4$ .

Șobolanii din loturile 1-6 au fost eutanasiați cu eter la a 8-a zi, iar cei din loturile 7-12 – la a 15-a zi de producere a patologiei, cu colectarea sângelui și determinarea parametrilor biochimici, caracteristici afecțiunii hepatice, în laboratorul de biochimie al Laboratorului Central de Cercetări Științifice, USMF „Nicolae Testemițanu”.

Prelucrarea statistică a datelor obținute s-a calculat în baza valorilor medii, deviației și erorii standard, testului de semnificație t-Student cu ajutorul pachetului de programe „Statistics for Windows, Release 6.0 StatSoft, Inc.”

were raised in the vivarium of the *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy. The body weight of the rats was 170-250 grams, the age – 12 weeks. The experimental animals were divided into 2 groups of 5 animals, which consisted of the control groups and 10 groups of 10 animals (control and coptisine + berberine treated groups) under stable humidity conditions of 40-60% and a constant temperature of  $24\pm 2^{\circ}\text{C}$  in a separate room, being placed in polypropylene cages with wood sawdust as bedding. All animals had free access to food and water 40 minutes after the oral administration of the investigated substance. In view of the fact that the experimental research had a duration of 7 days and 14 days, the animals were repeatedly weighed every 3 days, the administered coptisine and berberine doses being adjusted to the body mass oscillations, thus ensuring the correct doses of administration.

Acute Toxic Hepatitis (ATH) in rats was modeled by parenteral injection of sterile carbon tetrachloride solution with a 50% concentration in olive oil, resulting from the calculation of 0.4 ml/100 g for 4 days.

In order to determine the action of coptisine and berberine on acute modeled toxic hepatitis, comparative studies of the influence of coptisine at doses of 1 and 5 mg/kg and berberine at doses of 1 and 5 mg/kg within 7 and 14 days on the evolution of experimental hepatitis were developed, with the analysis of the obtained biochemical parameters: alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), alkaline phosphatase (ALP), gamma-glutamyl transferase (GGT), bilirubin and its fractions when using the above-mentioned substances.

The animals were divided into 12 experimental groups. Rats from groups 1 and 7 received sterile olive oil solution subcutaneously once per day at a dose of 0.4 ml/100 g for 4 days, serving as reference batches; the rats of groups 2 and 8 received a 50% carbon tetrachloride solution in sterile olive oil at a dose of 0.4 ml/100 g for 4 days, being considered as controls. Rats from groups 3 and 9, besides receiving  $\text{CCl}_4$ , were given enteric coptisine bisulfate from the first day, at a dose of 1 mg/kg for 7 and 14 days respectively, and those in batches 4 and 10 were given coptisine bisulfate at the dose of 5 mg/kg for 7 and 14 days, respectively. Berberine bisulfate, at a dose of 1 mg/kg for 7 and 14 days, was administered to the animals in groups 5 and 11, and at a dose of 5 mg/kg – to the animals in groups 6 and 12, being associated with 50%  $\text{CCl}_4$  solution.

Rats from lots 1-6 were euthanized with ether on the 8<sup>th</sup> day, while those in groups 7-12 – on the 15<sup>th</sup> day of pathology production, with blood and biochemical parameters characteristic of liver disease, documented in the laboratory of biochemistry of the Central Laboratory of Scientific Research, *Nicolae Testemitanu* SUMPh.

The statistical processing of the obtained data was calculated based on the mean values, the deviation and the standard error; the t-Student significance test using the software package “Statistics for Windows, Release 6.0 StatSoft, Inc.”

## Rezultate

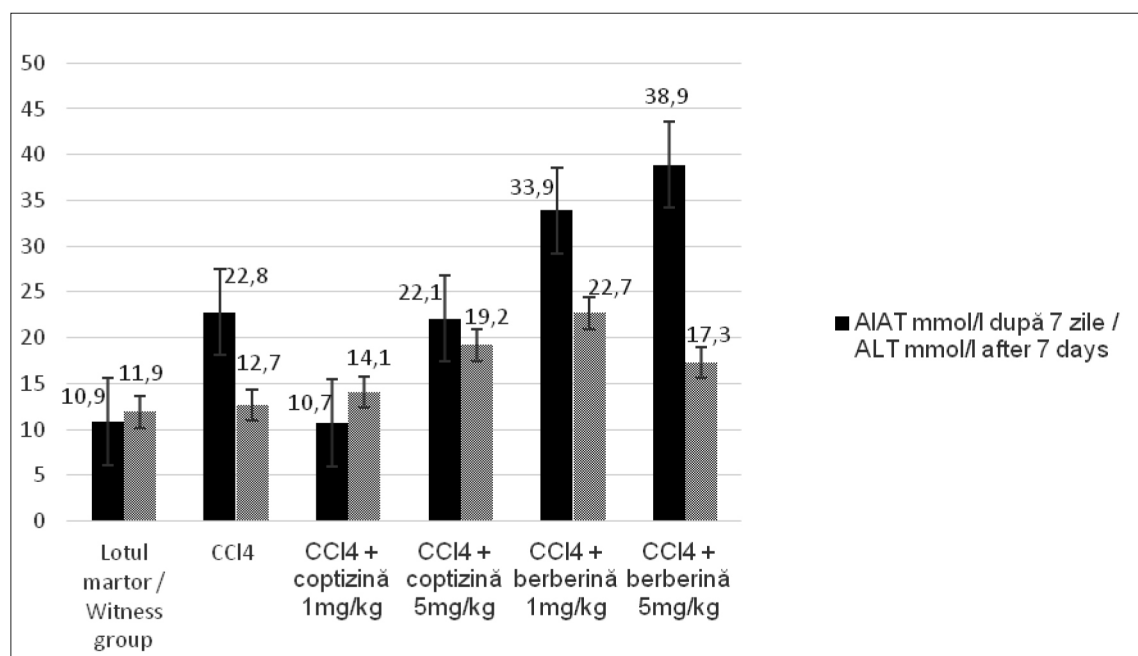
S-a constatat că, în prezența HTA, a crescut pronunțat activitatea ALAT, fapt ce denotă alterarea hepatocitelor prin eliberarea a 80% din fracția citoplasmatică a ALAT din activitatea totală a enzimei în ficat. Totodată, a crescut cu 40% și activitatea AsAT în ser, fracția citoplasmatică a căreia era de doar 20% din totalul enzimei în ficat. Pe acest fondal, a scăzut de 2 ori și coeficientul de Ritis. La administrarea coptizinei în doza de 1 mg/kg timp de 7 zile (șobolanilor cu hepatită toxică experimentală), s-a restabilit activitatea transaminazelor la nivelul valorilor animalelor din lotul martor; cu menținerea valorilor coeficientului de Ritis. Coptizina în doza de 5 mg/kg, practic, nu a preîntâmpinat majorarea activității ALAT și a redus nivelul activității AsAT, astfel coeficientul de Ritis constituind 1,42 în lotul cu coptizină în raport cu valoarea de 1,18 în HTA. La utilizarea berberinei în doza de 1 mg/kg timp de 7 zile în aceleași condiții, s-a atestat creșterea semnificativă a valorilor activității ALAT comparativ cu lotul martor și cel cu HTA, și a scăzut pronunțat coeficientul de Ritis. La administrarea berberinei în doza de 5 mg/kg timp de 7 zile, activitatea transaminazelor a sporit față de lotul martor și la utilizarea tetraclorurii de carbon, confirmat prin coeficientul de Ritis (valorile fiind la nivelul animalelor cu leziune hepatică) (Figurile 1, 2 și 3).

Peste 14 zile după modelarea hepatitei experimentale, valorile activității ALAT s-au restabilit, practic, la nivelul lotului martor, cele ale AsAT fiind sub valorile acestuia; coeficientul de Ritis a reprezentat 1,6, în raport cu 2,3 (lotul martor). La administrarea coptizinei în doza de 1 mg/kg, au persistat valorile activității AsAT în limitele lotului martor, pe când valorile ALAT au crescut nesemnificativ, coeficientul de Ritis majorându-se până la 1,8 față de 1,6 în lotul cu  $\text{CCl}_4$ . Este de remarcat

## Results

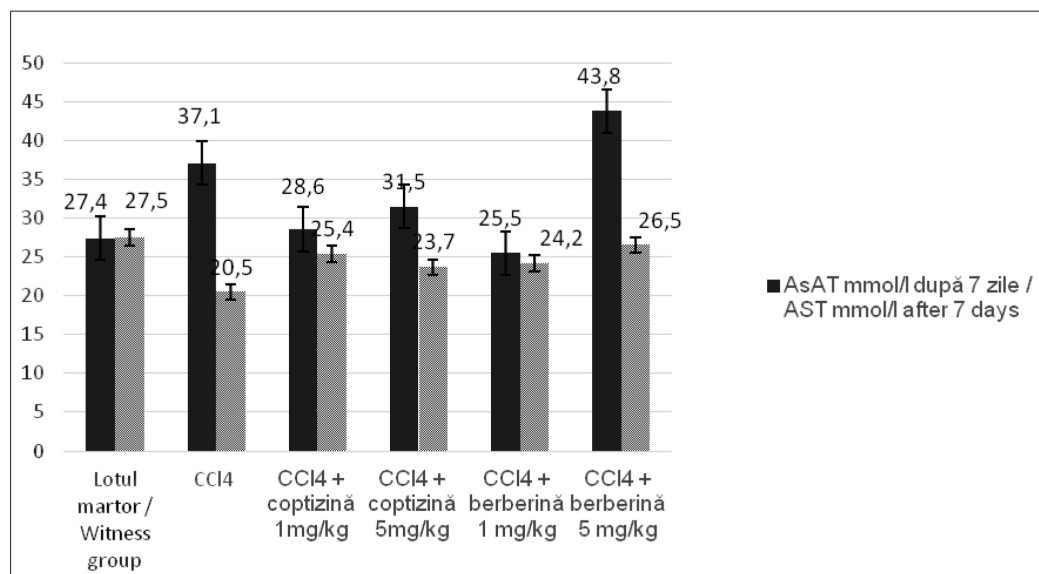
It was found that ATH increased the activity of ALT, which denotes the alteration of hepatocytes by releasing 80% of the cytoplasmic fraction of ALT from the total activity of the enzyme in the liver. At the same time, the serum AST activity increased by 40%, the cytoplasmic fraction of which is only 20% of the total enzyme in the liver. Based on this, the de Ritis ratio decreased twice. When coptisine was administered at a dose of 1 mg/kg for 7 days (rats with experimental toxic hepatitis), transaminase activity was restored to the values of the animals in the witness group, while maintaining the de Ritis ratio. Coptisine, at the dose of 5 mg/kg, practically did not prevent the increase of ALT activity, reducing the AST activity, so the de Ritis ratio constituted 1.42 in the coptisine group versus 1.18 in ATH. When berberine was used at the dose of 1 mg/kg for 7 days under the same conditions, the significant increase in ALT activity values was recorded, compared to the witness and ATH groups, and the de Ritis ratio declined significantly. When administering berberine at the dose of 5 mg/kg for 7 days, the transaminase activity increased, as compared to the witness group and the carbon tetrachloride group, confirmed by the de Ritis ratio (the values being as the ones of the animals with hepatic injury) (Figures 1, 2 and 3).

Fourteen days after the experimental hepatitis modeling, the ALT activity values were restored nearly at the witness group level, the AST being below its values; the de Ritis ratio was 1.6, compared to 2.3 in the witness group. When coptisine was administered at a dose of 1 mg/kg, the values of AST activity remained within the limits of the witness group, while ALT values insignificantly increased, with the de Ritis ratio increasing to 1.8 versus 1.6 in the  $\text{CCl}_4$  group. It should be noted that at the dose of 5 mg/kg for 2 weeks, coptisine increased the



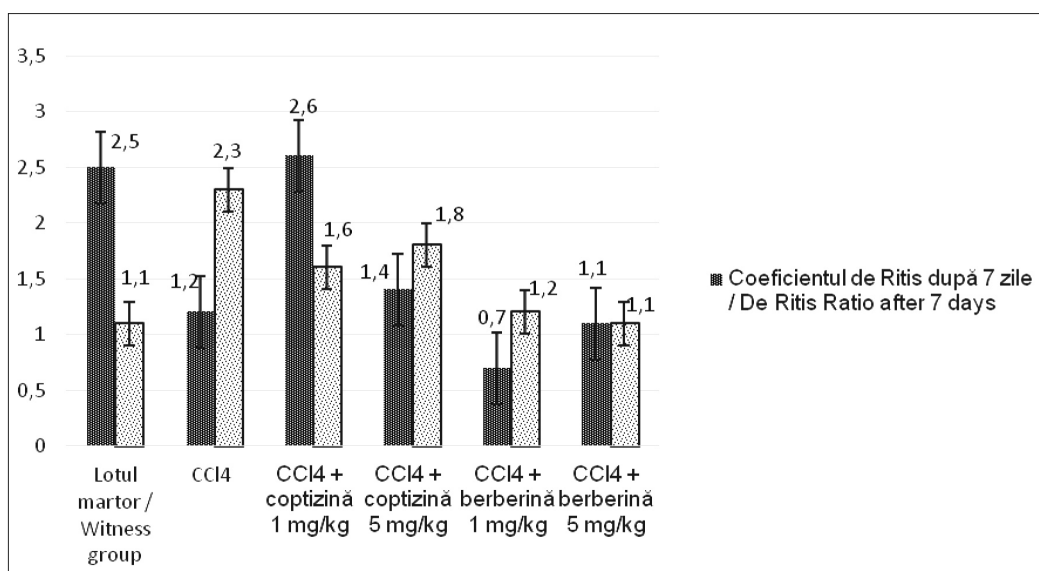
**Fig. 1** Activitatea ALAT sub acțiunea coptizinei și berberinei în doze de 1 și 5 mg/kg.

**Fig. 1** ALT activity under the influence of coptisine and berberine at doses of 1 and 5 mg/kg



**Fig. 2** Activitatea AsAT în HTA sub acțiunea coptizinei și berberinei în doze de 1 și 5 mg/kg.

**Fig. 2** AST activity in ATH under the influence of coptisine and berberine at doses of 1 and 5 mg/kg.



**Fig. 3** Coeficientul de Ritis în HTA sub acțiunea coptizinei și berberinei în doze de 1 și 5 mg/kg.

**Fig. 3** De Ritis Ratio in ATH under the influence of coptisine and berberine at doses of 1 and 5 mg/kg.

faptul că în doza de 5 mg/kg timp de 2 săptămâni, coptizina a sporit activitatea ALAT, iar a AsAT a scăzut sub valorile lotului martor. În dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg, berberina în cadrul hepatitei toxice acute a sporit activitatea ALAT față de animalele intacte și cele cu tetraclorură de carbon. Coeficientul de Ritis a fost sub valorile lotului martor (Figurile 1, 2, 3).

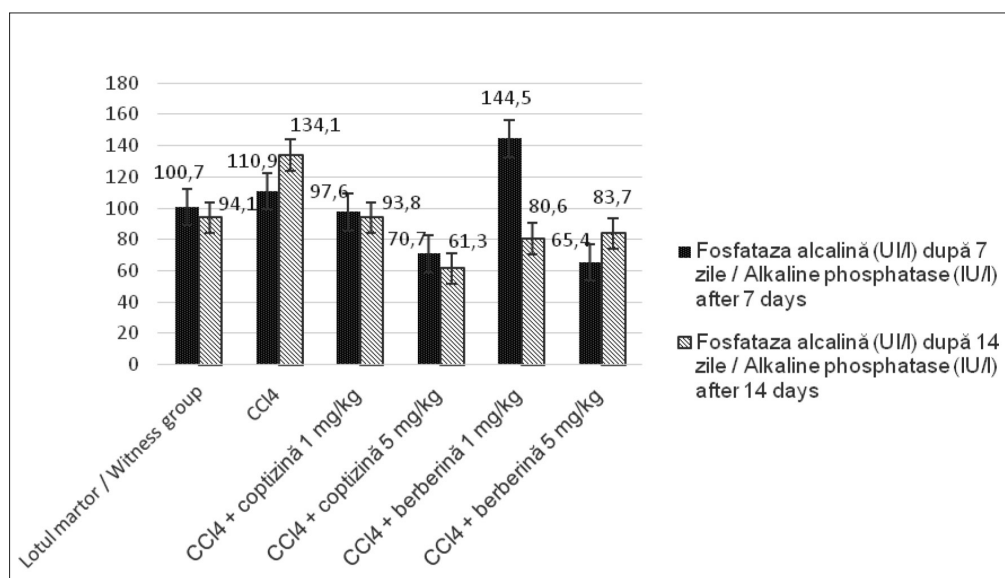
Activitatea fosfatazei alcaline în decurs de 7 zile, după modelarea hepatitei toxice experimentale, a crescut neesențial. Coptizina, în ambele doze, timp de 7 zile, a preîntâmpinat majorarea activității FA. Berberina, în doza de 1 mg/kg timp de 7 zile, a sporit activitatea FA, iar în doza de 5 mg/kg a scăzut semnificativ activitatea enzimei atât la animalele cu hepatită toxică experimentală, cât și la cele din lotul martor. După 14 zile de la modelarea afecțiunii hepatice toxice, activitatea

ALT activity, while the AST decreased below the witness group values. At doses of 1 mg/kg and 5 mg/kg, berberine used in acute toxic hepatitis increased the ALT activity, compared to the animals who remained intact and the animals from the carbon tetrachloride group. The de Ritis ratio was below the control group values (Figures 1, 2, 3).

The activity of alkaline phosphatase within 7 days, after modeling experimental toxic hepatitis, increased non-essentially. In both doses, for 7 days, coptisine prevented the increase in ALP activity. Berberine, at a dose of 1 mg/kg for 7 days, increased ALP activity, and in the 5 mg/kg dose, the activity of the enzyme significantly decreased in both the experimental toxic hepatitis and the witness group. After 14 days of modeling liver toxicity, the alkaline phosphatase activity in-

fosfatazei alcaline s-a majorat, instalându-se un sindrom de coleastă. După 2 săptămâni de la administrarea coptizinei și berberinei în ambele doze, s-a atestat reducerea considerabilă a activității fosfatazei alcaline (Figura 4).

creased, resulting in the cholestatic syndrome. After 2 weeks of coptisine and berberine administration in both doses, a significant reduction in alkaline phosphatase activity was confirmed (Figure 4).



**Fig. 4** Activitatea FA în HTA sub acțiunea coptizinei și berberinei în doze de 1 și 5 mg/kg.

**Fig. 4** ALP activity in ATH under the influence of coptisine and berberine at doses of 1 and 5 mg/kg.

În cadrul cercetărilor efectuate, s-a determinat raportul activitatea fosfatazei alcaline / alaninaminotransferazei (FA/ALAT), în scopul stabilirii evoluției leziunilor hepatice. În hepatita experimentală, la a 7-a zi s-a redus nivelul raportului FA/ALAT, confirmând prezența sindromului de citoliză. Coptizina, în doza de 1 mg/kg, a menținut raportul enzimelor în limitele lotului martor, pe când în doza de 5 mg/kg, aceasta a diminuat valoarea raportului respectiv (reducerea activității FA, ALAT fiind neschimbată). Berberina, în doza de 1 mg/kg, a contribuit la creșterea raportului FA/ALAT, el fiind asemănător cu lotul animalelor supuse hepatitei toxice (creșterea activității FA și ALAT), iar în doza de 5 mg/kg, berberina a determinat micșorarea pronunțată a raportului (reducerea activității FA și creșterea activității ALAT) (Figura 5).

Peste 14 zile, raportul FA/ALAT a crescut comparativ cu lotul martor de la 7,68 până la 10,54, confirmând prezența fenomenelor de coleastă. Coptizina a manifestat un efect regulator în ambele doze, contribuind la restabilirea activității FA cu normalizarea raportului respectiv. Merită menționat că activitatea ALAT nu a fost majorată în doza de 5 mg/kg, astfel diminuând considerabil raportul FA/ALAT. Berberina, în ambele doze, a redus valorile raportului nominalizat prin restabilirea activității FA, dar crescând nivelul ALAT (Figura 5).

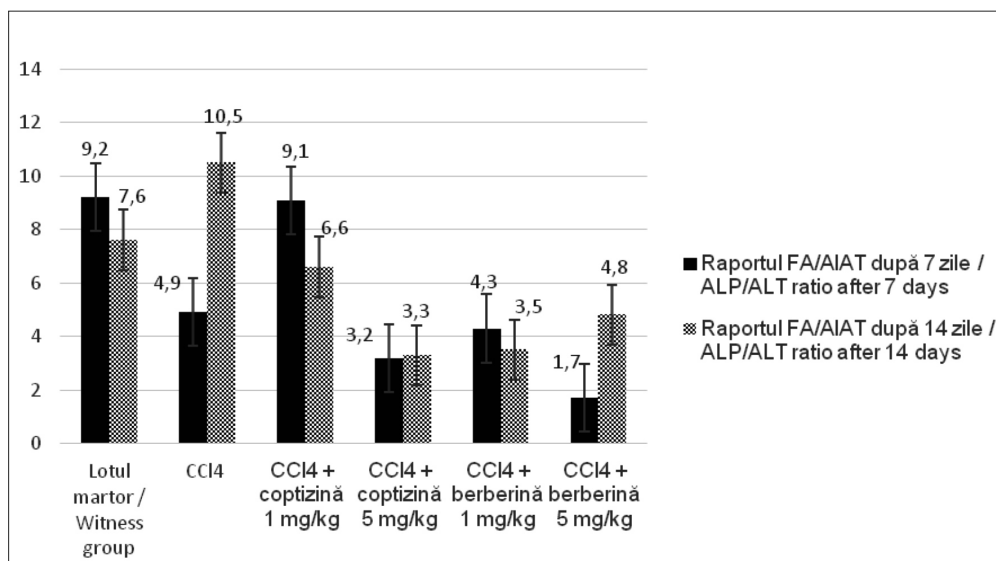
Activitatea gama-glutamyltranspeptidazei a scăzut peste 7 zile după instalarea hepatitei toxice, fără a fi influențată de afecțiune după 14 zile. Ambii alcaloizi cercetați, în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg timp de 7 zile, au contribuit la reducerea substanțială a activității GGTP la animalele modelate experimental. La interval de 2 săptămâni, coptizina în doza de 5 mg/kg și berberina în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg au scăzut valorile GGTP (Figura 6).

In the performed researches, the alkaline phosphatase/alanine aminotransferase (ALP/ALT) activity was determined in order to determine the evolution of hepatic lesions. In experimental hepatitis, on the 7<sup>th</sup> day, the ALP/ALT ratio was reduced, confirming the presence of the cytolysis syndrome. Coptisine, at a dose of 1 mg/kg, maintained the enzyme ratio within the witness group, while the dose of 5 mg/kg reduced the value of this ratio (reducing ALP activity, ALT being unchanged). Berberine, at the dose of 1 mg/kg, contributed to the increase in the ALP/ALT ratio, similar to the group of animals subjected to toxic hepatitis (increase in ALP and ALT activity). At a dose of 5 mg/kg, it caused an evident decrease in the ratio (reduction of ALP activity and increase of ALT activity) (Figure 5).

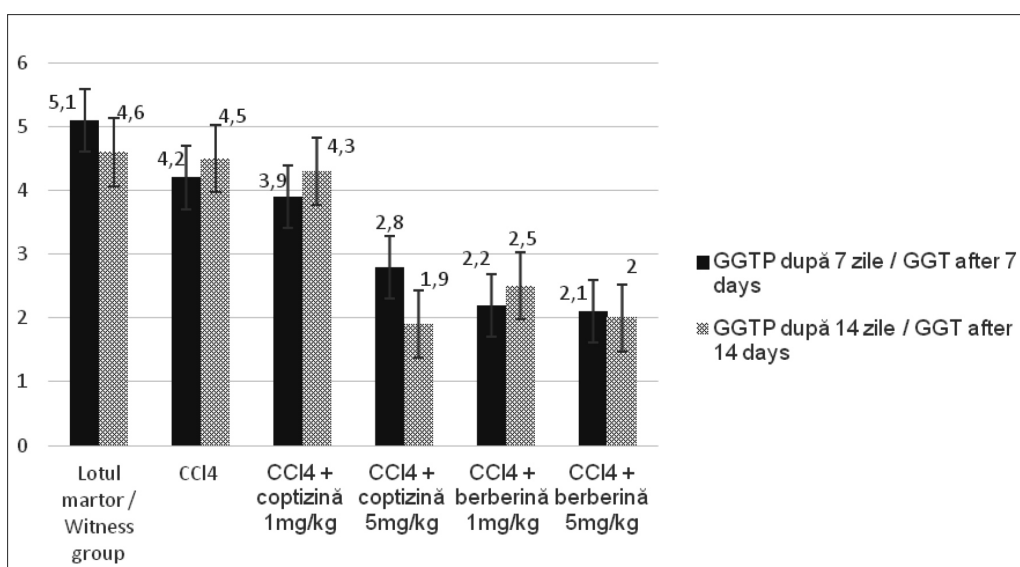
After 14 days, the ALP/ALT ratio increased, compared to the witness group, from 7.68 to 10.54, confirming the presence of the cholestasis phenomena. Coptisine showed a regulatory effect in both doses, helping to restore ALP activity with normalization of the ratio. It should be noted that ALT activity was not increased at the 5 mg/kg dose, thus significantly diminishing the ALP/ALT ratio. Berberine, in both doses, reduced the nominated ratio values by restoring ALP activity but increasing the ALT level (Figure 5).

The activity of gamma-glutamyltransferase decreased 7 days after the onset of toxic hepatitis, without being affected by it after 14 days. Both the investigated alkaloids, at doses of 1 mg/kg and 5 mg/kg for 7 days, contributed to the substantial reduction of the GGT activity in experimentally modeled animals. After 2 weeks, coptisine at the dose of 5 mg/kg and berberine at doses of 1 mg/kg and 5 mg/kg decreased GGT values (Figure 6).





**Fig. 5** Valorile raportului FA/AlAT în HTA sub acțiunea coptizinei și berberinei în doze de 1 și 5 mg/kg.  
**Fig. 5** Values of ALP/ALT ratio in ATH under the influence of coptisine and berberine at doses of 1 and 5 mg/kg.



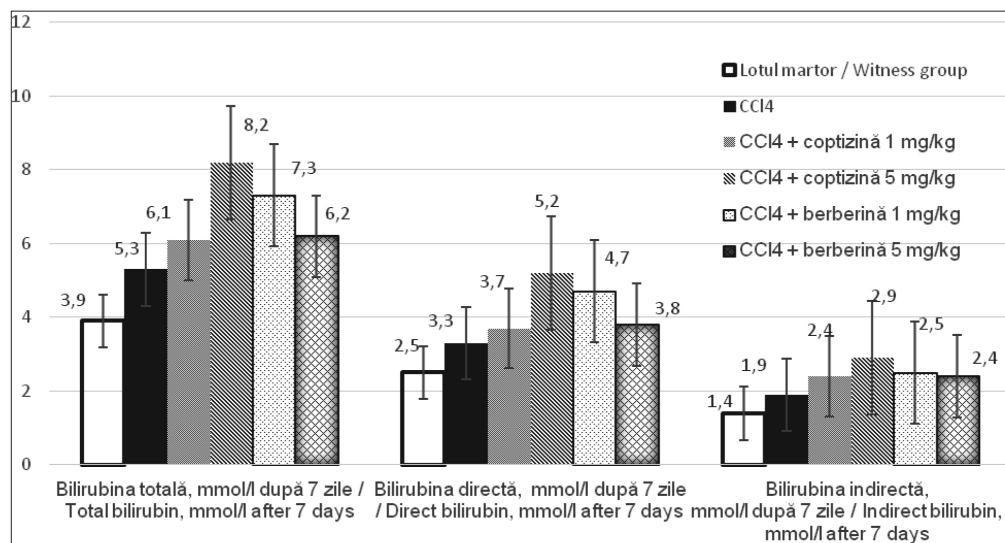
**Fig. 6** Activitatea GGTP în HTA sub acțiunea coptizinei și berberinei în doze de 1 și 5 mg/kg.  
**Fig. 6** GGT activity in ATH under the influence of coptisine and berberine at doses of 1 and 5 mg/kg.

La animalele supuse administrării tetraclorurii de carbon, la a 8-a zi s-a atestat sporirea nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte. Coptizina și berberina, în ambele doze, timp de 7 zile, pe fundalul hepatotoxicului, au provocat creșterea concomitentă a tuturor fracțiilor bilirubinei (Figura 7).

Nivelul bilirubinei totale, directe și indirecte, a scăzut nesemnificativ la a 15-a zi după modelarea hepatitei toxice acute. În doza de 1 mg/kg, sub influența coptizinei timp de 2 săptămâni, a scăzut nivelul bilirubinei totale, directe și indirecte, pe când în doza de 5 mg/kg, au crescut fracțiile bilirubinei, comparativ cu lotul martor și cel cu leziune hepatică. Un fenomen invers proporțional s-a constatat la administrarea berberinei în aceeași perioadă de timp, cu majorarea nivelului bilirubinei totale, directe și indirecte, în doza de 1 mg/kg și diminuarea

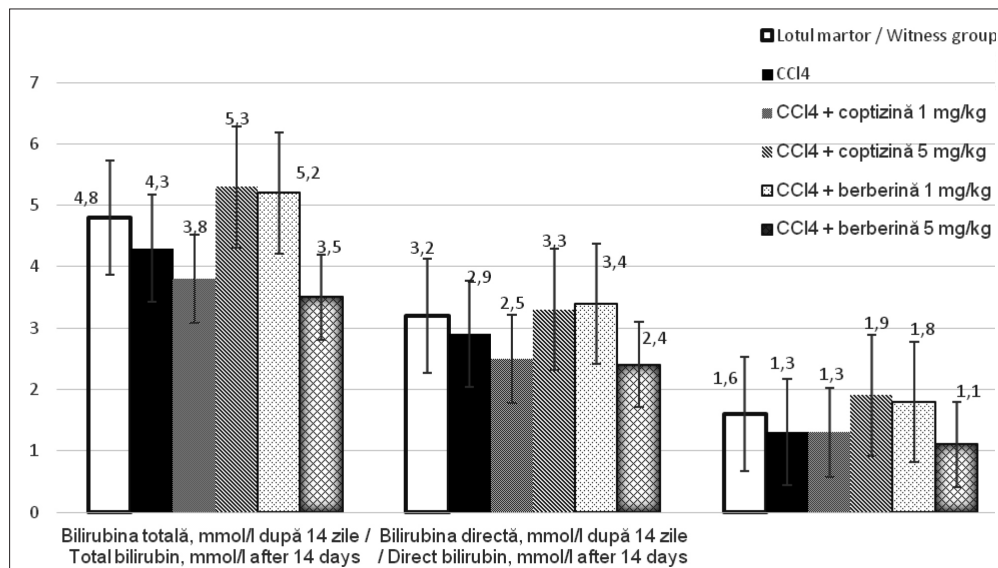
In animals undergoing carbon tetrachloride influence, on day 8, the increase in total, direct and indirect bilirubin was confirmed. Coptisine and berberine, in both the doses, administered for 7 days, within the hepatotoxic background, caused the parallel increase of all bilirubin fractions (Figure 7).

The total direct and indirect bilirubin levels decreased insignificantly on the 15<sup>th</sup> day after acute toxic hepatitis modeling. At the 1 mg/kg dose, under the influence of coptisine for 2 weeks, the total, direct and indirect bilirubin decreased, whereas the bilirubin fractions increased in the 5 mg/kg dose, compared to the witness and hepatic lesion groups. An inversely proportional phenomenon was observed with the administration of berberine over the same period of time, with the increase in the total, direct and indirect bilirubin level, at the dose of 1 mg/kg,



**Fig. 7** Nivelul bilirubinei și fracțiilor ei sub acțiunea coptizinei și berberinei în doze de 1 și 5 mg/kg la administrare timp de 7 zile.

**Fig. 7** Bilirubin and its fractions' levels under the influence of coptisine and berberine at doses of 1 and 5 mg/kg, administered for 7 days.



**Fig. 8** Nivelul bilirubinei și fracțiilor ei sub acțiunea coptizinei și berberinei în doze de 1 și 5 mg/kg la administrare timp de 14 zile.

**Fig. 8** Bilirubin and its fractions' levels under the influence of coptisine and berberine at doses of 1 and 5 mg/kg, being administered for 14 days.

conținutului bilirubinei în doza de 5 mg/kg la animalele supuse hepatotoxicului (Figura 8).

## Discuții

Se consideră, pe bună dreptate, că Republica Moldova este o zonă endemică a hepatitelor, mai frecvent de origine virală, dar o incidență sporită prezintă și hepatitele provocate de factori hepatotoxici, precum sunt intoxicațiile, abuzul de alcool etc. În faza acută a afecțiunii, tratamentul este direcționat spre detoxifiere și hepatoprotecție.

S-a constatat că un rol important în tratamentul hepatoprotector li se atribuie alcaloizilor extrași din rostopască (coptizina, berberina, sanguinarina).

Chai F. *et al.* (2018), au stabilit că la administrarea timp de 7 zile, coptizina a ameliorat afecțiunea hepatică la șoareci, in-

and the decrease in the bilirubin level at the 5 mg/kg dose, in the animals exposed to the hepatotoxin (Figure 8).

## Discussion

It is rightly believed that the Republic of Moldova is an endemic area of hepatitis, more often, of viral origin, but hepatitis caused by hepatotoxic factors such as intoxication, alcohol abuse, etc. are also frequent. In the acute phase of the disease, treatment is directed to detoxification and hepatoprotection.

According to scientific literature, an important role in the treatment of hepatoprotectors is attributed to alkaloids extracted from the celandine (coptisine, berberine, sanguinarine).

Chai F. *et al.* (2018), determined that in the case of 7-days administration, coptisine improved the liver condition in rats,

dusă prin lipopolizaharide și D-galactozamină (LPS/D-GalN), reducând valorile AlAT și AsAT, sporind nivelul glutationului și superoxid reductazei cu menținerea structurii morfofuncționale a hepatocitelor. Conform cercetărilor *in vitro*, sub influența coptizinei s-a instalat lezarea celulelor HepG2, ce denotă, de asemenea, efectul protector asupra hepatocitelor [2]. Efect hepatoprotector s-a stabilit și la berberină care, în doza de 50 mg/kg timp de 8 săptămâni, a preîntâmpinat scăderea masei corporale, a redus activitatea AlAT, AsAT, FA și a crescut nivelul albuminei în hepatita toxică indusă de plumb, conform datelor obținute de Hasanein P. *et al.* (2017). De asemenea, alcaloidul a prevenit stresul oxidativ prin creșterea peroxidării lipidice, diminuarea grupărilor tiol în ficat și activării sistemului anti-oxidant [4].

Mohammadzadeh N. *et al.* (2016), au demonstrat că în hepatita toxică indusă de tetraclorură de carbon ( $\text{CCl}_4$ ), berberina a ameliorat leziunile hepatice prin scăderea nivelului AlAT, AsAT, FA, a proceselor de peroxidare a lipidelor, cu creșterea activității superoxidismutazei și glutationreductazei reduse. O importanță deosebită s-a atribuit reducerii procesului inflamator în ficat sub acțiunea berberinei, prin reducerea valorilor TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, COX-2 și iNOS [8].

Conform studiilor clinice, efectuate de Zielinska S. *et al.* (2018), la bolnavii cu afecțiuni hepatobiliare, extractul de *Chelidonium majus* a produs o eficiență esențială asupra parametrelor clinici, instrumentali și de laborator (bilirubină, transaminaze, tabloul sângelui) [12].

În baza rezultatelor obținute, la animalele supuse acțiunii toxice a  $\text{CCl}_4$ , s-a constatat: la utilizarea coptizinei în doza de 1 mg/kg s-a manifestat efectul protector, cu prevenirea dezvoltării leziunii hepatice experimentale (Figurile 1, 2 și 3) prin restabilirea activității transaminazelor, în special a activității AsAT, timp de 14 zile, cu includerea mecanismelor compensatorii de accelerare a neutralizării hepatocitelor afectate. Concomitent, după 7 zile, alcaloidul în doza de 5 mg/kg a influențat mai puțin leziunea toxică a  $\text{CCl}_4$ , pe când după 14 zile a crescut activitatea transaminazelor, astfel putem afirma despre efectul dozodependent (1 mg/kg) al coptizinei, cunoscându-se faptul că extractele din rostopască pot provoca ele însele hepatotoxicitate [9, 10].

În ambele doze, timp de 7 zile, coptizina a prevenit creșterea activității fosfatazei alcaline, astfel, influențând benefic hepatita toxică acută prin reducerea sindromului de colestază.

Comparativ cu coptizina, studiile efectuate au demonstrat că berberina în ambele doze, practic, nu a manifestat un efect hepatoprotector la nivelul transaminazelor și fosfatazei alcaline, majorate de către tetraclorura de carbon.

Administrarea coptizinei și berberinei în dozele de 1 mg/kg și 5 mg/kg timp de 7 zile a determinat o micșorare mai accentuată a activității GGTP la animalele cu afecțiune hepatică, care are rol important în transportul aminoacizilor și catabolizează metabolizarea conjugatilor glutationului-S, substituent al diverselor xenobiotice. Astfel, alcaloizii nominalizați pot fi considerați ca remedii ce ameliorează funcția de sinteză a proteinelor în ficat.

Efectul dependent de doză s-a stabilit asupra tuturor fracțiilor bilirubinei, restabilite de către coptizină în doza de 1

induced by lipopolysaccharide and D-galactosamine (LPS/D-GalN) by reducing ALT and AST values, increasing glutathione and superoxide reductase levels, while maintaining the morpho-structural function of hepatocytes. According to *in vitro* research, the injury to HepG2 cells under the influence of coptisine appeared, which also denotes the protective effect on the hepatocytes [2]. The hepatoprotective effect was also established in berberine, which, at a 50 mg/kg dose for 8 weeks, prevented the body mass decrease, reduced ALT, AST, ALP and increased albumin levels in lead-induced toxic hepatitis, according to data obtained by Hasanein P. *et al.* (2017). Also, the alkaloid prevented the oxidative stress by increasing lipid peroxidation, diminishing thiol groups in the liver and activating the antioxidant system [4].

Mohammadzadeh N. *et al.* (2016) proved that in tetrachloride-induced toxic hepatitis, berberine eased the hepatic injuries by lowering the ALT, AST, ALP and lipid peroxidation processes, with the elevation of the superoxide dismutase activity and the reduction of glutathione reductase. Particular importance was attributed to the reduction of the inflammatory process in the liver under the action of berberine, by the reduction of the levels of TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, COX-2 și iNOS [8].

According to clinical studies conducted by Zielinska S. *et al.* (2018), *Chelidonium majus* extract produced an essential efficacy in clinical, instrumental and laboratory parameters (bilirubin, transaminases, blood test) in patients with hepatobiliary disorders [12].

Based on the results obtained in the animals subjected to the toxic action of  $\text{CCl}_4$ , it was found that when using coptisine at the dose of 1 mg/kg, the protective effect was established, which prevented the development of experimental liver injury (Figures 1, 2 and 3) by restoring the activity of transaminases, in particular the AST activity, for 14 days with the inclusion of compensatory mechanisms of acceleration of the neutralization of affected hepatocytes. At the same time, after 7 days, the alkaloid at the 5 mg/kg dose poorly influenced the toxic lesion of  $\text{CCl}_4$ , whereas after 14 days, the activity of transaminases increased, so we can state the dose-dependent effect of the coptisine (1 mg/kg), knowing the fact that celandine extracts themselves can cause hepatotoxicity [9, 10].

At both doses, for 7 days, coptisine prevented the increase in alkaline phosphatase activity, thus actively influencing the acute toxic hepatitis by reducing the cholestasis syndrome.

Compared to coptisine, studies have shown that berberine in both doses has virtually no hepatoprotective effect on transaminases and alkaline phosphatase, which were increased by carbon tetrachloride.

Administration of coptisine and berberine at doses of 1 mg/kg and 5 mg/kg for 7 days resulted in a more pronounced decrease in GGT activity in animals with hepatic disease, which plays an important role in the transport of aminoacids and catabolizes the metabolism of glutathione-S (substituent of various xenobiotics) conjugates. Thus, the named alkaloids can be considered as remedies which improve the protein synthesis function of the liver.

The dose-dependent effect was established on all bilirubin fractions, restored by coptisine at the 1 mg/kg dose and in-

mg/kg și majorate în doza de 5 mg/kg, la utilizarea ei timp de 2 săptămâni. Efectul opus coptizinei s-a constatat la administrarea berberinei care, în doza de 1 mg/kg, a majorat nivelul bilirubinei totale, directe și indirecte, iar în doza de 5 mg/kg a redus conținutul lor.

Analizând datele obținute, putem afirma că alclaoizii din *Chelidonium majus* posedă efect hepatoprotector prin diverse mecanisme, cum ar fi următoarele: inhibarea peroxidării lipidelor cu reducerea speciilor reactive ale oxigenului, creșterea activității antioxidante, corecția dereglărilor metabolice și reducerea fenomenelor de colestază.

## Concluzii

În urma evaluării acțiunii hepatoprotectoare comparative a coptizinei și berberinei în HTA experimentală s-a constatat:

1) La modelarea hepatitei toxice acute la șobolani s-a atestat sindromul de citoliză prin majorarea activității transaminazelor și sindromul de colestază prin creșterea FA și fracțiilor bilirubinei.

2) Coptizina a manifestat un efect hepatoprotector dozo-dependent prin restabilirea activității ALAT, AsAT, FA, GGTP și fracțiilor bilirubinei în doze mici și termeni precoce de dezvoltare a afecțiunii hepatice.

3) Berberina a produs un efect mai puțin pronunțat asupra leziunilor hepatice, activitatea enzimelor fiind chiar majorată în doza de 5 mg/kg, fapt ce confirmă datele literaturii despre favorizarea toxicității ei în componența extractului de rostopască.

## Declarația de conflict de interese

Autoarea declară lipsa conflictului de interese.

## Referințe / references

- Casian I., Casian A. Izolarea coptizinei din herba de rostopască (*Chelidonium majus* L.). Certificat de înregistrare a obiectelor dreptului de autor și drepturilor conexe Seria OȘ Nr. 3195 din 08.09.2011.
- Chai F. et al. Coptizine from *Rhizoma coptidis* exerts an anti-cancer effect on hepatocellular carcinoma by up-regulating miR-122. *Biomed. Pharmacother.*, 2018; 103: 1002-1011.
- Gilca M. et al. *Chelidonium majus* – an integrative review: traditional knowledge versus modern findings. *Forsch. Komplement-med.*, 2010; 17 (5): 241-8.
- Hasanein P., Ghafari-Vahed M., Khodadadi I. Effects of isoquinoline alkaloid berberine on lipid peroxidation, antioxidant defense system, and liver damage induced by lead acetate in rats. *Redox Rep.*, 2017; 22 (1): 42-50.
- Hu Y. Activation of Akt and JNK/Nrf2/NQO1 pathway contributes to the protective effect of coptizine against AAPH-induced oxidative stress. *Biomed. Pharmacother.*, 2017; 85: 313-322.
- Maji A., Pratim B. *Chelidonium majus* L. (*Greater celandine*) – a review on its phytochemical and therapeutic proprieties. *International Journal of Herbal Medicine*, 2015; 3 (1): 10-27.
- Mitra S., Sur R., Roy A., Mukherjee A. Effect of *Chelidonium majus* L. on experimental hepatic tissue injury. *Phytotherapy research*, 1996; 10: 354-356.

creased at the 5 mg/kg dose when used for 2 weeks. An opposite effect of coptisine was found in the administration of berberine, which, at the dose of 1 mg/kg, increased the total, direct and indirect bilirubin, and at the dose of 5 mg/kg – reduced their content.

Analyzing the obtained data, we can state that *Chelidonium majus* alkaloids possess a hepatoprotective effect through various mechanisms, such as: inhibiting lipid peroxidation by reducing the reactive species of oxygen, increasing the antioxidant activity, correcting metabolic disorders and reducing cholestasis phenomena.

## Conclusions

Following the evaluation of comparative hepatoprotective action of coptisine and berberine in experimental HTA, it was found that:

1) The acute toxic hepatitis model in rats has been shown to have cytolysis syndrome by enhancing transaminase activity and cholestasis syndrome by increasing ALP and bilirubin fractions.

2) Coptisine showed a dose-dependent hepatoprotective effect by restoring ALT, AST, ALP, GGT and bilirubin fractions at low doses and early liver disease terms.

3) Berberine produced a less pronounced effect on the hepatic lesions, the activity of enzymes being even increased at the dose of 5 mg/kg, which confirms the literature data about the favorability of its toxicity in the composition of the celandine extract.

## Declaration of conflicting interests

The author states the lack of conflicts of interest in the preparation of this article.

- Mohammadzadeh N., Mehri S., Hosseinzadeh H. *Berberis vulgaris* and its constituent berberine as antidotes and protective agents against natural or chemical toxicities. *Iran J. Basic Med. Sci.*, 2017; 20 (5): 538-551.
- Teschke R., Glass X., Schulze J., Eickhoff A. Suspected Greater Celandine hepatotoxicity: liver-specific causality evaluation of published case reports from Europe. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2012; 24 (3): 270-80.
- Teschke R., Glass X., Schulze J. *Herbal hepatotoxicity by Greater Celandine (Chelidonium majus)*: causality assessment of 22 spontaneous reports. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2011; 61 (3): 282-91.
- Ye X. et al. Hepatoprotective effects of *Coptidis rhizoma* aqueous extract on carbon tetrachloride-induced acute liver hepatotoxicity in rats. *J. Ethnopharmacol.*, 2009; 124 (1): 130-6.
- Zielińska S. et al. Greater Celandine's ups and downs: 21 centuries of medicinal uses of *Chelidonium majus* from the viewpoint of today's pharmacology. *Front. Pharmacol.*, 2018; 9: 299.
- Monografii VOZ o lekarstvennykh rasteniyakh, shiroko ispol'zuyemykh v Novykh nezavisimyykh gosudarstvakh (NNG) [WHO monographs on medicinal plants widely used in the Newly Independent States (NIS)]. *Vsemirnaya organizatsiya zdравookhraneniya [World Health Organization]*. 2010; p.75-92. (Article in Russian).