

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТА СУХОГО *RHAPONTICUM UNIFLORUM* (L.) DC. ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИММУНОДЕФИЦИТЕ

В.Б. Хобракова

д.б.н., доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной фармакологии,
Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (г. Улан-Удэ);
доцент, кафедра общей патологии человека, Бурятский государственный университет (г. Улан-Удэ)
E-mail: val0808@mail.ru

Н.К. Татарина

аспирант, лаборатория экспериментальной фармакологии,
Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (г. Улан-Удэ)
E-mail: tatarinova-natali@mail.ru

Установлено иммуномодулирующее действие экстракта сухого левзеи одноцветковой (*Rhaponticum uniflorum* (L.) DC при экспериментальной азатиоприновой иммуносупрессии. Показано, что экстракт сухой *R. uniflorum* способен ослаблять супрессивное действие цитостатика азатиоприна на реакцию гиперчувствительности замедленного типа и антителиогенез.

Ключевые слова: экстракт сухой *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC, иммуномодулирующая активность, иммуносупрессия, азатиоприн, гиперчувствительность замедленного типа, антителиообразующие клетки, экидистероиды.

Для цитирования: Хобракова В.Б., Татарина Н.К. Иммуномодулирующее действие экстракта сухого *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. при экспериментальном иммунодефиците. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018;21(2):49–52. DOI: 10.29296/25877313-2018-02-07

Основной задачей экспериментальной фармакологии является разработка новых эффективных и безопасных лекарственных препаратов. Одно из актуальных направлений в этой области – поиск новых субстанций для производства иммуностропных лекарственных средств. Это связано, в частности, с установлением ведущей роли иммунной системы в патогенезе многих патологических состояний, а также с широким использованием иммуностропных препаратов в схемах фармакотерапии ряда заболеваний [1]. В этом плане представляют интерес лекарственные средства, созданные на основе растительного сырья [2]. Флора Сибири богата лекарственными растениями, большая часть которых до настоящего времени остается недостаточно исследованной и потенциально является уникальной ресурсной базой для поиска новых фармакологически активных и терапевтически значимых фармацевтических субстанций.

В Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН разработан способ получения экстракта сухого из корневищ и корней левзеи одноцветковой – *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC, представляющего собой сумму экстрактивных веществ: экидистероидов, флавоноидов, полисахаридов, дубильных веществ, фенолкарбоновых, оксикоричных

кислот, тритерпеновых сапонинов, кумаринов и др. [3]. Ареал данного вида простирается сплошной полосой от Саян, Прибайкалья и Северной Монголии через Северо-Восточный Китай до Кореи и Дальнего Востока [4]. Извлечения из левзеи одноцветковой широко используются в традиционной медицине Востока. В Монголии водный отвар травы является тонизирующим средством, в китайской медицине корни входят в сборы, используемые как противоопухолевое, противовоспалительное и жаропонижающее средство. Согласно последним данным, из корней этого растения выделено 43 различных соединения, из наземной части – 8 соединений, при этом показано, что спиртовые экстракты и настойки обладают ноотропными, гепатопротекторными свойствами, а фитозкидистероиды и тиофены – антиоксидантной активностью [4]. Экстракт сухой из корневищ и корней левзеи одноцветковой обладает стресспротективной и антигипоксической активностью [3]. Основными действующими веществами данного растения являются экидистероиды (экидистерон, рапонтистерон, 2-дезоксидеокси-20-гидроксиэкидизон) [5] – большой класс полигидроксилированных стероидных соединений, обладающих высокой биологической активностью, в том числе иммуномодулирующими свойствами [6, 7].

Цель работы – определение иммуномодулирующих свойств экстракта сухого левзея одноцветковой (*Rhaponticum uniflorum* (L.) DC) при экспериментальной иммуносупрессии, вызванной цитостатиком азатиоприном.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на мышах-самцах линии F1 (СВА×С57В1/6) массой 18–20 г. (филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА, Моск. обл.). Животные находились в стандартных условиях вивария в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (GLP) и приказом МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 «Об утверждении правил лабораторной практики». Эксперименты проведены в соответствии с приказом МЗ РФ № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики» от 19.06.2003 и «Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей». Протокол исследований согласован с этическим комитетом ИОЭБ СО РАН (протокол №2 от 05.09.2013 г.). Из эксперимента животных выводили дислокацией шейных позвонков под легким эфирным наркозом.

Действие экстракта сухого *Rhaponticum uniflorum* было изучено на животных, находящихся в состоянии иммуносупрессии, вызванной цитостатиком азатиоприном (ОАО «Мосхимфармпрепараты» им. Н.А. Семашко», Россия; лекарственная форма – таблетки), который вводили контрольной и опытной группам животных в дозе 50 мг/кг перорально 1 раз в сутки в течение 5 дней. Экстракт сухой вводили мышам, подвергнутым иммуносупрессии, в экспериментально-терапевтической дозе 100 мг/кг перорально. Первое введение осуществляли по окончании введения азатиоприна (АЗ), на шестой день эксперимента и далее в течение 14 дней 1 раз в сутки. Интактная группа животных получала по аналогичной схеме в соответствующем объеме очищенную воду.

Действие исследуемого средства на состояние клеточного звена иммунного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) согласно стандартной методике локальной ГЗТ [8]. Мышей сенсибилизировали внутрибрюшинным введением 0,1%-ной взвеси эритроцитов барана (ЭБ) в физиологическом растворе. На четвертые сутки под подошвенный апоневроз задней лапки вводили разрешающую дозу антигена – 50 мкл 50%-ной взвеси ЭБ. В контрлатеральную лапку инъекци-

ровали физиологический раствор в том же объеме. Оценку реакции ГЗТ проводили спустя 24 ч по разнице масс опытной и контрольной лап. Индекс реакции ГЗТ (I_p) рассчитывали по формуле

$$I_p = [(M_{оп} - M_k) / M_k] \times 100\%,$$

где $M_{оп}$ и M_k – масса опытной лапы и контрольной лапы соответственно.

Состояние гуморального иммунитета оценивали по количеству антителообразующих клеток (АОК), определяемых методом локального гемолиза по А.Д. Cunningham [9]. Мышей иммунизировали внутрибрюшинно ЭБ в дозе $2 \cdot 10^8$ клеток/мышь. Величину иммунного ответа оценивали по числу АОК на селезенку и на 10^6 клеток с ядрами на пятые сутки после иммунизации.

Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами вариационной статистики с использованием параметрического t -критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании влияния экстракта сухого *R. uniflorum* на клеточно-опосредованную реакцию ГЗТ установлено, что исследуемое средство восстанавливает индекс данной реакции в условиях азатиоприновой иммуносупрессии. Введение азатиоприна приводило к снижению индекса реакции ГЗТ на 39% по сравнению с тем же показателем в интактной группе (табл. 1).

После введения животным опытной группы, подвергшимся иммунодепрессии, экстракта сухого *R. uniflorum* в дозе 100 мг/кг отмечалось увеличение индекса реакции ГЗТ в 1,9 раза по сравнению с данными контрольной группы животных.

При исследовании влияния экстракта сухого *R. uniflorum* на процессы антителообразования установлено, что данное средство повышает показатели гуморального иммунного ответа в условиях азатиоприновой иммуносупрессии. Введение азатиоприна приводило к снижению как абсолютного числа АОК, так и числа АОК на 10^6 спленоцитов на 39 и 40% соответственно, по сравнению с теми же показателями в интактной группе (табл. 2).

При введении экстракта сухого *R. uniflorum* на фоне иммуносупрессии наблюдали достоверное увеличение количества АОК как в абсолютных значениях, так и при расчете на 10^6 спленоцитов; при этом первый показатель превышал уровень азатиоприновой супрессии в 1,9 раза, а второй – в 2,1 раза.

Таблица 1. Влияние экстракта сухого *R. uniflorum* на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа ($M \pm m$)

Группа животных	Число животных	Ир, %
Интактная	10	32,42 ± 3,18
Контрольная (А3+Н ₂ О)	10	19,77 ± 1,40*
Опытная (А3+ экстракт <i>R. uniflorum</i>)	10	37,77 ± 2,37**

Примечание: здесь и далее – различия достоверны по сравнению с данными: * – в интактной группе, ** – в контрольной группе при $p < 0,05$.

Таблица 2. Влияние экстракта сухого *R. uniflorum* на антителообразование ($M \pm m$)

Группа животных	Число животных	Количество АОК	
		на селезенку	на 10 ⁶ спленоцитов
Интактная	10	66591 ± 4997	166,08 ± 12,92
Контрольная (А3+Н ₂ О)	10	40717 ± 3387*	99,76 ± 8,85*
Опытная (А3+ экстракт <i>R. uniflorum</i>)	10	77250 ± 1913**	213,66 ± 12,27**

Результаты проведенного исследования согласуются с данными исследований Н.В. Пунеговой, демонстрирующими иммуномодулирующее действие в отношении клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа субстанции «Экдистерон-80», представляющей собой суммарную высокоочищенную фракцию экдистероидов *Serratula coronata* L. [6], а также с данными работы И.Д. Бобаева и др., в которой установлена стимуляция гуморального иммунного ответа под влиянием фитоэкдистероидов *Silene viridiflora* L. [7]

Кроме того, в работе F.S. Li с соавт. выявлено иммуномодулирующее действие полисахаридов, выделенных из *R. uniflorum* [10]. Эффективность исследуемого экстракта, по-видимому, обусловлена содержанием в нем комплекса биологически активных веществ, преимущественно, фитоэкдистероидов и полисахаридов, обладающих выраженными иммуномодулирующими свойствами.

ВЫВОДЫ

1. Экстракт сухой *R. uniflorum* (L.) DC обладает способностью восстанавливать показатели клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа в условиях азатиоприновой иммуносупрессии, что позволяет рекомендовать его для дальнейшего изучения с целью создания лекарственных средств для профилактики и лечения иммунодефицитных состояний, а также проводить целенаправленный поиск новых эффективных и безопасных иммунокорректирующих препаратов среди растительных видов сырья, содержащих, преимущественно, фитоэкдистероиды и полисахариды.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Сепиашвили Р.И.* От иммунотерапии к персонализированной таргетной иммуномодулирующей терапии и иммунореабилитации // *Аллергология и иммунология*. 2015. Т. 16. № 4. С. 323–327.
2. *Лазарева Д.Н., Плечев В.В., Моругова Т.В., Самигуллина Л.И.* Растения, стимулирующие иммунитет. Уфа: Башкортостан. 2005. 96 с.
3. Патент № 2582282 (РФ). Способ получения средства, обладающего стресспротективной и антигипоксической активностью / *С.М. Николаев, И.Г. Николаева, Л.Н. Шантанова, Г.Г. Николаева, Л.Л. Гармаева, Н.К. Татарникова, Я.Г. Разуваева, И.Э. Матханов, Сенг Ли, Сонг Пак*; заявитель и патентообладатель Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (RU). № 2015107164/15; заявл. 02.03.2015; опубл. 20.04.2016, Бюл. № 11. 12 с.
4. *Саянов Д.В., Дулепова Н.А., Гармаева Л.Л.* *Fornicium uniflorum* (Asteraceae) в Забайкалье: распространение, экология, структура сообществ и популяций // *Растительный мир Азиатской России*. 2016. № 2. С. 25–31.
5. *Николаева Г.Г., Шантанова Л.Н., Николаева И.Г. и др.* Левзея одноцветковая и серпуха васильковая – перспективные экдистероидсодержащие растения // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2014. № 3. С.93–96.
6. *Пунегова Н.В.* Исследование иммунологического действия субстанции «Экдистерон-80» // *Материалы VI Международ. науч.-практич. конф. «Здоровье и образование в XXI веке»*. М.: Изд-во РУДН. 2005. С. 396–397.
7. *Бобаев И.Д., Алимова М.Т., Путиева Ж.М. и др.* Экспериментальное изучение иммуностимулирующего действия фитоэкдистероидов *Silene viridiflora* L. // *Теоретическая и прикладная экология*. 2012. № 1. С. 55–57.
8. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунятына и др.* М.: Гриф и К. 2012. 944 с.
9. *Cunningham A.J.* A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells // *Nature*. 1965. V. 207. № 5001. P. 1106–1107.
10. *Li F.S., Yang G., Xian F., Liu H.* Effects of *Rhaponticum uniflorum* polysaccharide on immune response of mice after antigen stimulation and their possible mechanisms // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2007. V. 32. № 5. P. 433–435.

Поступила 29 ноября 2017 г.

For citation: Khobrakova V.B., Tatarinova N.K. The immune modulating effect of the dry extract from *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. in experimental immune deficiency. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2018;21(2):49–52. DOI: 10.29296/25877313-2018-02-07

THE IMMUNE MODULATING EFFECT OF THE DRY EXTRACT FROM *RHAPONTICUM UNIFLORUM* (L.) DC. IN EXPERIMENTAL IMMUNE DEFICIENCY

© V.B. Khobrakova, N.K. Tatarinova, 2018

V.B. Khobrakova

Dr.Sc. (Biol.), Associate Professor, Senior Research Scientist, Laboratory of Experimental Pharmacology, Institute of General and Experimental Biology SB RAS (Ulan-Ude); Associate Professor, Department of Human Pathonomy, Buryat State University (Ulan-Ude)
E-mail: val0808@mail.ru

N.K. Tatarinova

Post-graduate Student, Laboratory of Experimental Pharmacology, Institute of General and Experimental Biology SB RAS (Ulan-Ude)
E-mail: tatarinova-natali@mail.ru

The present study was aimed at the estimation of immune modulating effect of the dry extract from *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC in the reactions of cellular and humoral chains of the immune response using experimental azathioprin immunosuppression animal model.

The experiments were carried out on FI (CBAxС57Bl/6) male mice, 18-20 g of weight. The immune deficiency was modeled by the intragastrical introduction of azathioprin in the dose 50 mg/kg once a day for 5 days. The experimental group of animals received the dry extract from *Rhaponticum uniflorum* once a day intragastrically in dose 100 mg/kg for 14 days against the background of azathioprin immunosuppression, The intact group received the purified water according to the analogous scheme.

The results have shown that the dry extract from *Rhaponticum uniflorum* restores the indices of reactions characterizing the main chains of immune system. The course administration of the dry extract against the background of azathioprin was followed by the 1.9 times increase of the cell-mediated immune reaction of delayed-type hypersensitivity index as compared with the same one in the control group. The study of the tested extract influence on the state of the humoral immunity has established that the extract from *Rhaponticum uniflorum* increases the values of absolute and relative number of antibody-forming cells in 1.9 and 2.1 times as compared with the same ones in the control group. Thus, the data obtained allow to conclude that the dry extract from *Rhaponticum uniflorum* has the marked immune modulating activity that substantiates the expediency of its further study in order to create new effective immune modulators.

Key words: the dry extract from *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC, immunomodulatory activity, immunosuppression, azathioprine, delayed hypersensitivity, antibody-producing cells, ecdysteroids.

REFERENCES

1. Sepiashvili R.I. Ot immunoterapii k personalizirovannoy targetnoy immunomoduliruyushey terapii i immunoreabilitatsii // Allergologiya i immunologiya. 2015. V.16. №4. S. 323–327.
2. Lazareva D.N., Plechev V.V., Morugova T.V., Samigullina L.I. Rasteniya, stimuliruyuschie immunitet. Ufa: «Bashkortostan». 2005. 96 s.
3. Pat. 2582282 Rossiyskaya Federatsiya, MPK A61K. Sposob polucheniya sredstva, obladayushego stressprotektivnoy i antigipoksicheskoy aktivnostyu / Nikolaev S.M., Nikolaeva I.G., Shantanova L.N., Nikolaeva G.G., Garmaeva L.L., Tatarinova N.K., Razuvaeva Ya.G., Mathanov I.E., Seng Li, Song Pak; zayavitel i patentoobladatel Institut obschey i eksperimentalnoy biologii SO RAN (RU). № 2015107164/15; zayavl. 02.03.2015; opubl. 20.04.2016, Byul. № 11. 12 s.
4. Sandanov D.V., Dulepova N.A., Garmaeva L.L. *Fornicium uniflorum* (Asteraceae) v Zabaykale: rasprostraneniye, ekologiya, struktura soobshchestv i populyatsiy // Rastitelnyy mir Aziatskoy Rossii. 2016. № 2. S. 25–31.
5. Nikolaeva G.G., Shantanova L.N., Nikolaeva I.G. i dr. Levzeyya odnotsvetkovaya i serpuha vasilkovaya – perspektivnyye ekdisteroidsoderzhaschie rasteniya // Byulleten' VSNTs SO RAMN. 2014. №3. S. 93–96.
6. Punezova N.V. Issledovanie immunologicheskogo deystviya substantsii «Ekdisteron-80» // Mater. VI Mezhdunar. nauch.-praktich. konf «Zdorove i obrazovanie v XXI veke». M.: Izd-vo RUDN. 2005. S. 396–397.
7. Bobaev I.D., Alimova M.T., Putieva Zh.M. i dr. Eksperimentalnoye izuchenie immunostimuliruyushego deystviya fitoekdisteroidov *Silene viridiflora* L. // Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya. 2012. № 1. S. 55–57.
8. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya / Pod red. A.N. Mironova, N.D. Bunyatjana i dr. M.: Grif i K. 2012. 944 s.
9. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells // Nature. 1965. V. 207, № 5001. P. 1106–1107.
10. Li F.S., Yang G., Xian F., Liu H. Effects of *Rhaponticum uniflorum* polysaccharide on immune response of mice after antigen stimulation and their possible mechanisms // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2007. Vol.32, № 5. P.433-435.