

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ АДАПТОГЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА

Я.Г. Разуваева

д.б.н., вед. науч. сотрудник, лаборатория безопасности биологически активных веществ, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (г. Улан-Удэ, Россия)
E-mail: tatur75@mail.ru

А.А. Торопова

к.б.н., ст. науч. сотрудник, лаборатория безопасности биологически активных веществ, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (г. Улан-Удэ, Россия)

В.Г. Банзаракшеев

к.м.н., доцент, кафедра общей патологии человека, медицинский институт, Бурятский государственный университет им. Доржи Банзарова (г. Улан-Удэ, Россия)

В.В. Аюшеева

вед. инженер, лаборатория безопасности биологически активных веществ, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (г. Улан-Удэ, Россия)

Цель работы – определение хронической токсичности, а также возможного местнораздражающего и мутагенного действия комплексного растительного средства.

Материал и методы. Исследования выполнены на белых крысах *Wistar*. Влияние экстракта сухого комплексного растительного средства на морфофункциональное состояние внутренних органов оценивали при его трехмесячном введении (*per os*) в дозах 100 и 500 мг/кг. Возможное местнораздражающее и мутагенное действие исследуемого средства определяли при его однократном введении в дозах 100 и 1000 мг/кг.

Результаты. Установлено, что длительное введение исследуемого средства способствует повышению исследовательской активности животных, проявляет диуретический эффект, а также снижает уровень холестерина, содержание мочевины и креатинина в сыворотке крови белых крыс. Однократное введение исследуемого средства в дозах 100 и 1000 мг/кг не оказывает местнораздражающего действия на слизистую оболочку пищеварительного тракта и не проявляет мутагенный эффект.

Выводы. Исследуемое средство при длительном введении не оказывает токсического действия на морфофункциональное состояние внутренних органов, при однократном введении – местнораздражающего и мутагенного эффектов.

Ключевые слова: *Serratula centauroides* L., *Echinacea purpurea* L. Moench, *Rosa* spp., *Inula helenium* L., *Bergenia crassifolia* L. Fritsch, хроническая токсичность, местнораздражающее действие, мутагенность.

Для цитирования: Разуваева Я.Г., Торопова А.А., Банзаракшеев В.Г., Аюшеева В.В. Доклинические исследования безопасности адаптогенного растительного средства. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021;24(4):24–29. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-04-04>

Адаптогены растительного происхождения (женьшень, элеутерококк, левзея и др.) имеют тысячелетнюю историю применения в народной и традиционной медицинах и в настоящее время продолжают широко использоваться в клинической практике [1]. Особый интерес представляют комплексные адаптогенные средства, преимущество которых перед монопрепаратами обусловлено синергизмом действия лекарственных растений в сборах, благодаря чему усиливаются полезные свойства входящих в них компонентов [2]. На основе вышесказанного было разработано комплексное средство из следующих видов растений: *Serratula centauroides* L., *Echinacea purpurea* L. Moench, *Rosa* spp., *Inula helenium* L., *Bergenia cras-*

sifolia L. Fritsch. В экспериментах на животных было показано, что экстракт сухой, полученный из данной растительной композиции, относится к шестому классу токсичности – «относительно безвредные вещества»; отличается широким спектром адаптогенной активности, повышая неспецифическую резистентность организма к действию экстремальных факторов различной природы (интенсивные физические нагрузки, гипоксии, острый и хронический стресс) [3–5].

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – определение хронической токсичности, а также возможного местнораздражающего и мутагенного действия комплексного растительного средства с адаптогенной активностью.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экстракт сухой был получен последовательной трехкратной экстракцией этиловым спиртом измельченного растительного сырья (массовые части): трава *S. centauroides* (30), плоды *Rosa* spp. (20), корневища с корнями *I. helenium* (20), листья черные *B. crassifolia* и трава *E. purpurea* (20). Содержание суммы экстрактивных веществ в экстракте сухом составляет 4,38%, арбутина – 0,22%, суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид – 0,15 % [6].

Исследования выполнены на 138 белых крысах Wistar обоего пола с исходной массой 160–180 г. Содержание животных соответствовало «Правилам надлежащей лабораторной практики» (GLP) и Приказу МЗ РФ № 199Н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986 г.). Протокол исследования согласован с этическим комитетом ИОЭБ СО РАН (№ 4 от 26.01.2017). Исследования проведены в соответствии с действующими требованиями, изложенными в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств [7].

Хроническую токсичность экстракта сухого исследовали в дозах 100 (экспериментально-терапевтическая) и 500 мг/кг. Исследуемое средство в форме водного раствора в объеме 10 мл/кг вводили внутривентрикулярно животным опытных групп ежедневно на протяжении трех месяцев. Крысы контрольной группы получали эквивалентное количество воды очищенной по аналогичной схеме. В каждую группу входило по 10 особей обоего пола.

В течение всего периода (3 мес.) оценивали общее состояние и поведение животных. Через 3 мес. после начала введения фитоэкстракта у животных исследовали морфофункциональное состояние основных органов и систем организма, а также уровень обменных процессов. Функциональное состояние центральной нервной системы определяли с использованием метода «открытое поле» [7], сердечно-сосудистой системы – по величине систолического артериального давления (кардиомонитор СМ-42115 (Польша)) и биоэлектрической активности миокарда (электрокардиограф «Аксион» ЭК1Т-1/3-07 (Россия)). Функциональное состояние внутренних органов и процес-

сов обмена веществ оценивали по содержанию общего белка, белковых фракций, общего холестерина, липопротеидов высокой плотности, липопротеидов низкой плотности, триглицеридов, мочевины и креатинина; активности аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы и щелочной фосфатазы в сыворотке крови на биохимическом анализаторе «Sapphir» (Япония). Гематологические показатели крови определяли на автоматическом анализаторе «Mindray BC-5300» (Китай). Исследование коагуляционных свойств крови проводили с использованием стандартных реактивов («Sigma», США) на коагулометре «Bio bas I» (Испания). В моче животных методом пламенной фотометрии («Flapho-4», Германия) определяли концентрацию ионов калия и натрия; содержание глюкозы, белка, концентрацию креатинина и мочевины – с помощью полуавтоматического анализатора мочи Н-500 (Россия). Для проведения патоморфологических исследований внутренние органы животных фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином-эозином, пикрофуксином по ван Гизону и крезилвиолетом по Нисслию.

Для исследования возможного местнораздражающего действия фитоэкстракт вводили животным опытных групп однократно внутривентрикулярно в дозах 100 и 1000 мг/кг. В каждую группу входило по 18 животных обоего пола. Через 3, 6 и 24 ч с помощью лупы осматривали слизистую оболочку желудка и кишечника у 6 животных из группы.

Оценку возможных мутагенных свойств исследуемого средства выполняли с использованием методов учета хромосомных aberrаций бластных клеток костного мозга у 24 белых крыс-самцов. Учет проводили через 24 ч после однократного внутривентрикулярного введения исследуемого средства в дозах 100 и 1000 мг/кг. Костный мозг брали из бедренной кости. Анализ aberrаций хромосом проводили путем визуального просмотра метафазных пластинок при увеличении микроскопа $\times 1000$. От каждой особи исследовали по 100 метафазных пластинок, удовлетворяющих необходимым требованиям. Повреждения хромосом учитывали согласно рекомендациям, изложенным в методических работах [7].

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica for Windows 6.0. Для оценки различий выборок, имеющих нормальное распределение, применяли *t*-критерий

Стьюдента. Различия считались достоверными при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показали, что в течение всего периода наблюдения в контрольной и опытных группах гибели животных не отмечалось. Общее состояние животных опытных групп (поведение, суточный объем корма, ректальная температура, выделения, шерстяной покров) не отличались от таковых у крыс контрольной группы. У животных, получавших фитоэкстракт, прирост массы тела в первые два месяца наблюдения был выше, чем у животных контрольной группы, однако общий прирост массы тела не имел значимых различий с контролем (рис. 1).

Тестирование животных в «открытом поле» показало, что на фоне длительного введения фитоэкстракта в исследуемых дозах увеличивается общая двигательная активность, за счет повышения показателей, характеризующих исследовательскую

активность (рис. 2). Так, у животных опытных групп количество заходов в центральные квадраты было выше на 84 и 52%, вертикальных стоек без опоры – в 1,9 и 1,4 раза по сравнению с показателями контрольных животных. У животных, получавших испытуемый экстракт в дозе 100 мг/кг, норковый рефлекс был выше на 36% контрольного показателя. На фоне повышения ориентировочно-исследовательской активности у животных опытных групп отмечалось снижение вегетативных проявлений тревожности – актов дефекации. Установленное влияние фитоэкстракта на функциональное состояние нервной системы обусловлено входящей в его состав *S. centauroides* [8].

Полученные результаты согласуются с данными других экспериментальных исследований, показавших, что экидистероидсодержащие фракции, выделенные из *Serratula coronata* L. и *Serratula quinquefolia* Bieb. ex Willd., повышают ориентировочно-исследовательскую активность животных в поведенческих тестах [9, 10].

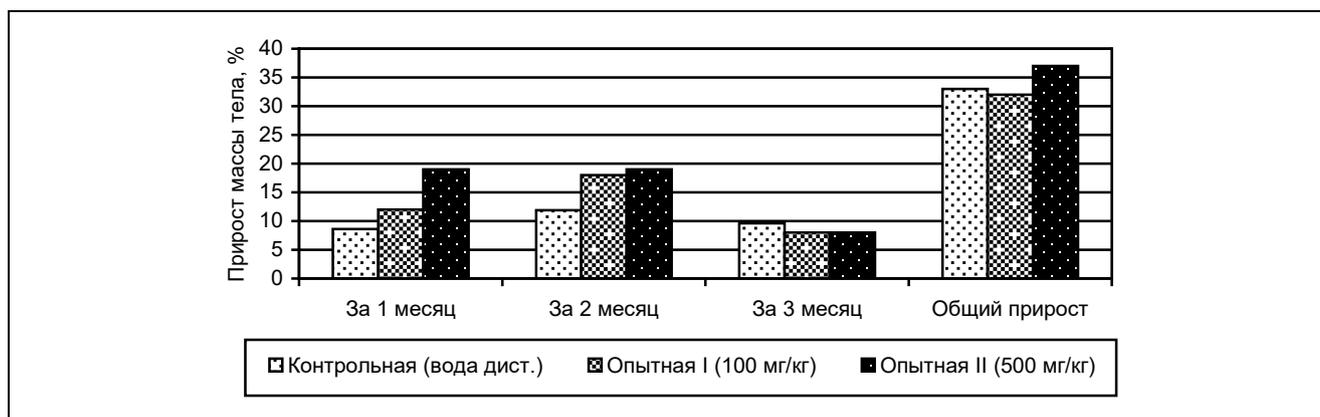


Рис. 1. Влияние экстракта сухого комплексного растительного средства на прирост массы тела белых крыс при длительном введении

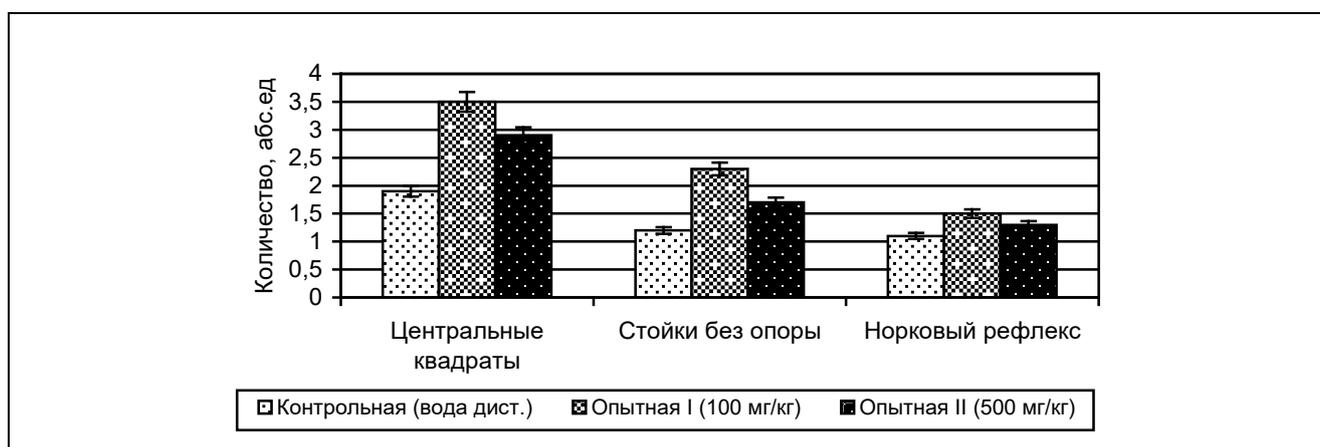


Рис. 2. Влияние длительного введения экстракта сухого комплексного растительного средства на ориентировочно-исследовательскую активность белых крыс в тесте «открытое поле»

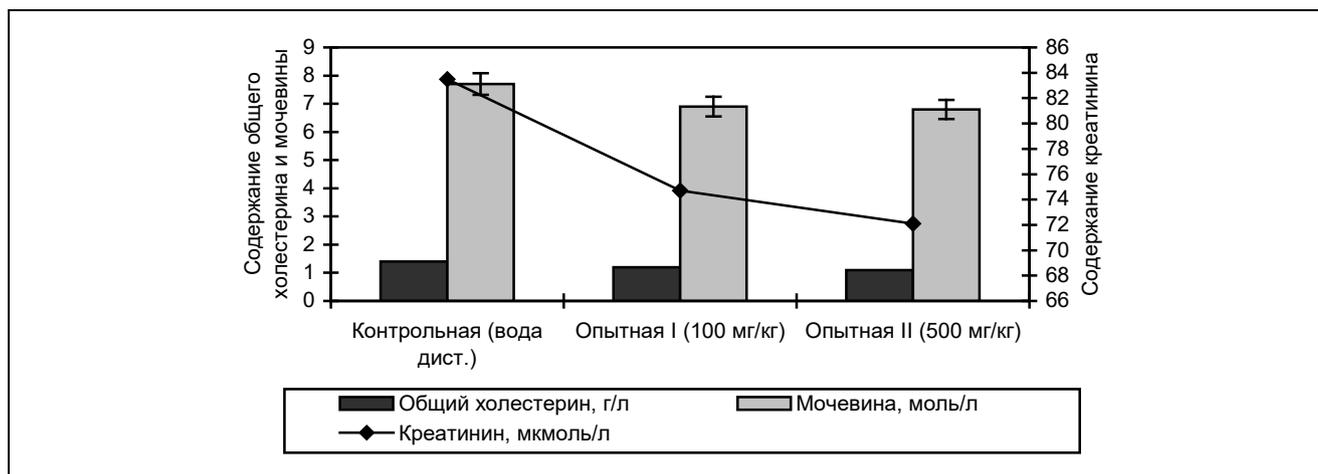


Рис. 3. Влияние длительного введения экстракта сухого комплексного растительного средства на биохимические показатели сыворотки крови белых крыс

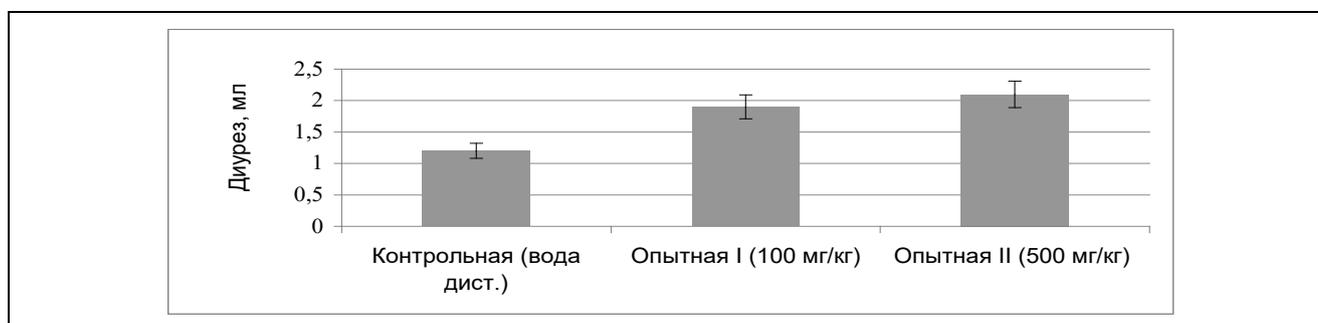


Рис. 4. Влияние длительного введения экстракта сухого комплексного растительного средства на диуретическую активность почек белых крыс

Длительное введение фитоэкстракта не оказывало отрицательного влияния на функциональное состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем белых крыс: частота дыхания, показатели ЭКГ и ритма сердечных сокращений у животных опытных групп были в пределах физиологической нормы. Гематологические и биохимические показатели (содержание общего белка, глобулинов, альбуминов, триглицеридов, активность АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы, ЛДГ и концентрация глюкозы) статистически не отличались от таковых контрольных животных. При длительном введении крысам исследуемого средства наблюдали снижение уровня холестерина, а также содержания мочевины и креатинина в сыворотке крови относительно контрольных показателей (рис. 3).

Результаты исследований, представленные на рис. 4, показывают, что длительное введение фитоэкстракта в дозах 100 и 500 мг/кг оказывает диуретическое действие, увеличивая диурез в 1,6 и 1,9 раза соответственно по сравнению с показателем контрольных животных. При этом введение

исследуемого средства не влияет на остальные показатели функционального состояния почек белых крыс: в моче отсутствует глюкоза, билирубин; концентрация электролитов, содержание белка и креатинина в пределах физиологической нормы. Выявленный диуретический эффект исследуемого средства обусловлен входящими в его состав *S. centauroides* и *B. crassifolia*, содержащими в значительном количестве арбутин [11, 12]. Антидиуретический эффект также установлен для водных и спиртовых экстрактов, полученных из листьев *B. crassifolia* [13].

Результаты патоморфологических исследований не выявили структурных изменений во внутренних органах (головной мозг, сердце, легкие, почки, печень, надпочечники, поджелудочная железа, тимус, селезенка, лимфатические узлы, гонады), обусловленные токсическим действием исследуемого средства.

Макроскопическое исследование слизистой желудка и кишечника животных опытных групп при осмотре через 3, 6 и 24 ч после введения фи-

тоэкстракта показало, что слизистая оболочка всех исследуемых отделов пищеварительной трубки имеет бледно-розовую окраску, не отмечается гиперемии, инъекции сосудов, а также отека, ее рельеф сохраняется, складки имеют стандартную конфигурацию и расположение. В целом макроскопическая картина слизистой оболочки желудка и кишечника животных опытных групп соответствует таковой контрольных животных.

Анализ экспериментальных данных показал, что однократное интрагастральное введение фитоекстракта крысам-самцам в дозах 100 и 1000 мг/кг не вызывает увеличения частоты образования хромосомных aberrаций в клетках костного мозга крыс по сравнению с контролем.

ВЫВОДЫ

Трехмесячное введение экстракта сухого комплексного растительного средства в дозах 100 и 500 мг/кг не оказывает токсического влияния на внутренние органы, способствует повышению исследовательской активности животных, оказывает диуретический эффект, а также снижает содержание холестерина мочевины и креатинина в сыворотке крови белых крыс.

Исследуемый фитоекстракт в дозах 100 и 1000 мг/кг при однократном введении не оказывает местнораздражающего и мутагенного действия.

Исследования проведены в рамках выполнения темы госзадания № 121030100227-7.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куркин В.А., Петрухина И.К., Акушская А.С. Исследование номенклатуры адаптогенных лекарственных препаратов, представленных на фармацевтическом рынке Российской Федерации. *Фундаментальные исследования*. 2014; 8: 898–902.
2. Николаев С.М. Фитотерапия и фитопрофилактика заболеваний. Улан-Удэ, 2012.
3. Муруев Б.А., Мондодоев А.Г., Димитров О.Г., Банзракшеев В.Г. Стресс-протективное влияние комплексного фитосредства. Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. 2017; 12: 66–69.
4. Муруев Б.А., Гуляев С.М., Шантанова Л.Н., Мондодоев А.Г. Противострессовое и антидепрессивное действие растительного средства при хроническом умеренном стрессе. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2018; 16(2): 69–73.
5. Муруев Б.А. Адаптогенные свойства экстракта сухого «Центафит»: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Улан-Удэ, 2019; 134 с.
6. Патент № 2669365 (РФ), МПК А 61 К. Способ получения средства, обладающего антигипоксической активностью / Николаев С.М., Николаева И.Г., Шантанова Л.Н., Николаева Г.Г., Цыбиктарова Л.П., Мондодоев А.Г., Матханов И.Э., Муруев Б.А.; заявитель и патентообладатель ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (RU). № 2017120656; заявл. 13.06.2017; опубл. 11.10.2018, Бюл. № 29. 9 с.
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч.1. М.: Гриф и К, 2012.
8. Свиридов И.В., Разуваева Я.Г., Шантанова Л.Н. Влияние экстракта сухого *Serratula centauroides* L. на функциональное состояние центральной нервной системы. *Вестник Бурятского государственного университета. Серия медицина, фармацевтика*: 184–188.
9. Могиленко Т.Г., Денисенко О.Н., Воронков А.В. и др. Изучение адаптогенной и антигипоксической активности субстанции 20Е, выделенной из серпухи пятилистной (*Serratula quinquefolia* Bieb. ex Willd.), культивируемой на Северном Кавказе. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 2–3: URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=23717>.
10. Пчеленко Л.Д., Метелкина Л.Г., Володина С.О. Адаптогенный эффект экидистероидсодержащей фракции *Serratula coronata* L. *Химия растительного сырья*. 2002; 1: 69–80.
11. Цыбиктарова Л.П. Фармакогностическое исследование *Serratula centauroides* L. и разработка лекарственного средства на ее основе, обладающего адаптогенной активностью: Автореф. дисс. ... канд. фарм. наук. Улан-Удэ, 2016; 21 с.
12. Лубсандоржиева П.Б., Жигжитов Б.С., Даргаева Т.Д., Базарова Ж.Г., Нагаслаева Л.А., Хроматоспектрофотометрическое определение арбутина в листьях *Bergenia crassifolia* L. *Fritsch. Химико-фармацевтический журнал*. 2000; 34(5): 261–264.
13. Лубсандоржиева П.Б., Цыренжапова О.Д., Бадмаева Н.К., Ракишин М.Ц., Самбуева З.Г. Даргаева Т.Д. Химико-фармакогностическая характеристика и анатомические особенности листьев *Bergenia crassifolia* L. *Fritsch. Сохранение биологического разнообразия в Байкальском регионе: проблемы. Подходы, практика*. Улан-Удэ. 1999; 2: 133–134.

Поступила 30 декабря 2020 г.