

На правах рукописи



**ТАТАРИНОВА
НАТАЛЬЯ КИРИЛЛОВНА**

**АДАПТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА
ЭКСТРАКТОВ *FORNICIUM UNIFLORUM L.***

14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Улан-Удэ – 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт общей и экспериментальной биологии» Сибирского отделения Российской академии наук

Научный руководитель:

Шантанова Лариса Николаевна – доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Плеханов Александр Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, Негосударственное учреждение здравоохранения «Отделенческая клиническая больница на ст. Улан-Удэ ОАО «РЖД», главный врач

Архипова Эржена Владимировна – кандидат медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Бурятский государственный университет» Министерства образования и науки РФ / медицинский институт, кафедра терапии, старший преподаватель

Ведущая организация:

Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования - филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ.

Защита диссертации состоится «13» декабря 2017 г. в 17⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 999.140.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН по адресу: 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке Бурятского научного центра СО РАН и на сайте ИОЭБ СО РАН: <http://igeb.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
д.б.н., доцент



Хобракова Валентина Бимбаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. В современных условиях отмечается увеличение числа т.н. «болезней цивилизации», фиксируются новые, ранее не известные нозологические формы и синдромы, связанные с депрессией генетически детерминированных адаптационно-компенсаторных механизмов человека. Участие стресс-реакции показано в патогенезе более чем 200 заболеваний и патологических состояний, которые по данным ВОЗ к 2020 г. будут второй ведущей причиной инвалидизации и смертности после сердечно-сосудистых заболеваний (Путилина, 2015; Зайцева, 2016; Asea et al., 2013). Особую актуальность данная проблема приобретает у населения крупных мегаполисов, испытывающего хронический психо-эмоциональный стресс и подвергающегося влиянию неблагоприятных экологических условий, а также у проживающих в неблагоприятных климато-географических условиях, к которым относятся большие территории России, такие как Сибирь и Крайний Север, где организм человека наиболее подвержен влиянию целого комплекса экстремальных факторов, истощающих его адаптивные резервы и способствующих развитию болезней. Для повышения неспецифической резистентности организма человека наиболее предпочтительным является использование адаптогенных средств растительного происхождения, лишенных многих недостатков химиотерапевтических средств, таких как привыкание, токсичность, развитие побочных негативных реакций при длительном применении (Яременко, 2007; Николаев, 2012; Пашинский, 2014).

В настоящее время большой интерес к использованию в качестве растительного сырья для получения адаптогенных препаратов представляют экидистероидсодержащие растения (Тимофеев, 2004; Володина и соавт., 2012; Сыров и соавт., 2014). Фитозкидистероиды, являющиеся полигидроксиллированными стеринами, содержатся практически во всех растительных объектах и к настоящему времени они обнаружены у растений, принадлежащих более чем к 100 семействам высших и низших растений (Балтаев., 2000; Володина и др., 2010; Lafont, Dinan, 2003; Gorelick-Feldman, 2010; Lafont, 2012). Для фитозкидистероидов установлена высокая биологическая активность (действуют в концентрациях 10^{-6} – 10^{-9}) и широкий спектр фармакологического действия, в том числе – выраженное адаптогенное (Дармограй и др., 2005; Володина и соавт., 2010; Сидорова, 2014).

Несмотря на широкую распространенность экидистероидов в растениях, лишь очень немногие пригодны в качестве сырья для получения этих веществ, поскольку их содержание обычно составляет десятые или сотые доли процента (Балтаев, 2000; Тимофеев, 2011). В России единственным фармакопейным экидистероидсодержащим растением является левзея сафлоровидная (*Leuzea carthamoides* (Willd.)), препараты из которой используются в клинической практике. Учитывая медико-биологическую значимость данного класса со-

единений, в настоящее время ведущими лабораториями разных стран проводится скрининг мировой флоры с целью идентификации видов продуцентов экидистероидов.

Перспективным источником фитоэкидистероидов является левзея одноцветковая (*Fornicium uniflorum* L.), являющаяся растением сверхнакопителем этих ценных биологически активных веществ и имеющая достаточную сырьевую базу (Фитоэкидистероиды, 2003; Николаева и соавт., 2014). В Отделе биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН разработаны способы получения сухих экстрактов из подземной части (корневища с корнями) и надземной части (трава) *Fornicium uniflorum* L. Полученные экстракты представляют собой сумму экстрактивных веществ, представленных экидистероидами, флавоноидами, полисахаридами, дубильными веществами, фенолкарбонными соединениями, аминокислотами, три-терпеновыми сапонинами, кумаринами, витаминами и другими биологически активными веществами (Николаева и соавт., 2014; Гармаева, 2016).

Целью диссертационной работы явилось определение адаптогенных свойств и фармакотерапевтической эффективности экстрактов *Fornicium uniflorum* L. корневищ и травы при экспериментальных стресс-индуцированных повреждениях.

Для достижения указанной цели были сформулированы следующие **задачи**:

- определить спектр фармакологических свойств экстрактов *F. uniflorum*, выявить их влияние на устойчивость организма животных к действию экстремальных факторов различной природы;
- оценить влияние экстрактов *F. uniflorum* на функциональное состояние центральной нервной системы;
- определить фармакотерапевтическую эффективность экстрактов *F. uniflorum* при иммуносупрессивном состоянии;
- определить особенности механизмов адаптогенного действия экстрактов *F. uniflorum*.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное экспериментальное исследование адаптогенных свойств, фармакотерапевтической эффективности и механизмов действия сухих экстрактов, полученных из корневищ и надземной части *F. uniflorum*. Установлено, что полученные экстракты *F. uniflorum* в экспериментально-терапевтических дозах 50, 100 и 200 мг/кг обладают выраженной адаптогенной активностью, повышая неспецифическую резистентность. Адаптогенные свойства сухих экстрактов превосходили таковые у препарата сравнения – экстракта левзеи сафлоровидной. При этом по ряду параметров более выраженную адаптогенную активность проявил экстракт из подземной части *F. uniflorum*. Экстракты *F. uniflorum* способствуют повышению физической работоспособности животных, что обусловлено увеличением скорости ресинтеза АТФ, накоплением углеводных запасов в печени и мышцах, снижением выраженности метаболического ацидоза, улучшением

доставки кислорода к работающим мышцам и активацией синтеза белка в скелетных мышцах и миокарде. Экстракты *F. uniflorum* проявляют также психотропное действие, повышая ориентировочно–исследовательское поведение, уменьшая выраженность тревожности и эмоциональности животных в незнакомых условиях, а также ускоряют скорость выработки условных рефлексов. Испытуемые фитосредства обладают также иммунопротекторными свойствами, повышая активность иммунной системы животных при экспериментальной иммуносупрессии. Показано, что повышение неспецифической резистентности организма животных под их влиянием обусловлено ограничением гиперактивации стресс-реализующих систем (симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой) на фоне повышения активности эндогенной антиоксидантной системы, ограничивающей индукцию процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул, что сопровождается повышением морфо-функциональной состоятельности мембранных структур клеток в условиях воздействия экстремальных факторов.

Практическая значимость. Выявленные адаптогенные свойства экстрактов *F. uniflorum* аргументируют целесообразность внедрения их в клиническую практику в качестве средств, повышающих неспецифическую резистентность организма. Материалы диссертационной работы использованы при оформлении проектов нормативной документации на производство и применение экстракта *F. uniflorum* корневищ. Также полученные данные применяются в учебном процессе на кафедре фармакологии, клинической фармакологии и фитотерапии медицинского института ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет» (акт внедрения №1 от 11.09.2016 г). На разработанный способ получения экстракта сухого *F. uniflorum* корневищ получен патент РФ (патент RU № 2582282 от 20.04.2016).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. курсовое введение экстрактов, полученных из подземной и надземной частей *F. uniflorum* оказывает стресс–протективное действие при иммобилизационном и эмоциональном стрессе;

2. испытуемые экстракты обладают широким спектром адаптогенной активности, повышая устойчивость организма животных к действию интенсивных физических нагрузок, к кислороддефицитным состояниям различного генеза; оказывают анаболическое, мембраностабилизирующее и антиоксидантное действие;

3. экстракты *F. uniflorum* оказывают стимулирующее влияние на функциональное состояние ЦНС: повышают ориентировочно–исследовательскую активность, снижают уровень тревожности и эмоциональности животных в незнакомых условиях, стимулируют когнитивные функции животных;

4. указанные экстракты оказывают иммуномодулирующее действие при иммуносупрессивном состоянии, повышая активность основных звеньев иммунной системы;

5. механизмы адаптогенного действия экстрактов *F. uniflorum* связаны с ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих и активацией стресс-лимитирующих систем организма;

6. периферические механизмы адаптогенного действия испытуемых средств обусловлены их способностью ингибировать процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул, повышать энергетический потенциал клеток и стимулировать процессы синтеза структурных и функциональных белков при стресс-индуцированных состояниях.

Апробация материалов диссертации. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на IV Всеросс. научно-практ. конференции с междунар. участием «Развитие традиционной медицины в России». Улан-Удэ, 2014; VI международной научно-практической конф. «Экология. Здоровье. Спорт». Чита, 2015; международной научно-практической конф. «Current situation and future trends of drug research and development from natural sources. Ulaanbaatar, 2015; II и III международных научно-практических конференциях «Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов». Кызыл, 2015; 2017; Всеросс. конф. «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». М., 2017.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 3 - в периодических изданиях, рекомендованных ВАК МО и науки РФ.

Работа выполнена в Отделе биологически активных веществ ИОЭБ СО РАН в соответствии с проектом № 146 «Разработка лекарственных и профилактических препаратов для медицины. Фундаментальные основы и реализация», утвержденным Президиумом СО РАН.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, 3 глав с изложением результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы, включающего 219 источников: 134 отечественных и 85 зарубежных авторов. Работа изложена на 113 страницах компьютерного текста и иллюстрирована 27 таблицами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследований являлись экстракты сухие, полученные из подземной (корневища с корнями) и надземной (трава) частей *F. uniflorum*. Растительное сырье заготавливали в период массового цветения в 2012 – 2015 гг. в Республике Бурятия и в Забайкальском крае. Способ получения экстракта из корневищ с корнями заключается в трехкратной экстракции 60% этиловым спиртом и водой очищенной, последующей фильтрации, упаривании и сушки в вакуум-сушильном аппарате. Способ получения экстракта сухого из корневищ с корнями *F. uniflorum* запатентован. На способ получения экстракта су-

хого из надземной части растения готовится заявка на предполагаемое изобретение. Перед экспериментами экстракт растворяли в дистиллированной воде, вводили животным опытной группы 1 раз в день в объеме 10 мл/кг внутрижелудочно однократно или многократно в соответствии с дизайном конкретного эксперимента. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество дистиллированной воды. В качестве препарата сравнения использовали деалкоголизированный экстракт жидкий левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) (Hijjin) в дозе 5,0 мл/кг (Сыров, 1987).

Эксперименты выполнены на 352 белых крысах линии Wistar обоего пола массой 160 – 200 г; 32 неполовозрелых крысах линии Wistar массой 100 – 120 г; 40 мышах самцах линии F₁(СВАхС57В1/6) массой 20 – 22 г. Исследования проводили в соответствии с «Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (Страсбург, 1986). Лабораторных животных выводили из экспериментов методом мгновенной декапитации под легким эфирным наркозом. Дизайн исследования и протокол экспериментальной апробации согласованы с этическим комитетом Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (протокол № 1 от 28.01.2014 г).

Острую токсичность экстрактов *F. uniflorum* определяли с использованием общепринятого метода Кербера при их внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении. Имобилизационный стресс воспроизводили путем фиксации животных в положении на спине в течение 18 ч. (Юматов, Скоцеляс, 1979); эмоциональный стресс - путем погружения животных в металлических пеналах в бассейн (Overmier, 1986). Для оценки антистрессорной активности определяли выраженность триады Селье: гипертрофию надпочечников, инволюцию иммунокомпетентных органов, а также оценивали количество разрушений слизистой оболочки желудка с подсчетом «индекса Паулса» (Амосова, 1998). В плазме крови определяли содержание адренкортикотропного гормона (АКТГ), альдостерона, кортикостерона, адреналина, норадреналина и дофамина методами твердофазного иммуоферментного анализа на анализаторах “DSX” (США) и «STAT FAX–2100» (США). Для оценки интенсивности процессов свободнорадикального окисления (СРО) в сыворотке крови определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА) (Темирбулатов, Селезнев, 1981), восстановленного глутатиона (ВГ) (Anderson, 1989), активность супероксиддисмутазы (СОД) (Чевари и соавт., 1985), каталазы (Королюк и соавт., 1988).

Интенсивные физические нагрузки моделировали путем плавания животных в бассейне с грузом, составляющим 7% от массы тела. В гомогенате скелетной мышцы определяли содержание АТФ (Алейникова, Рубцова, 1988), концентрацию общего белка (Bradford, 1976), молочной и пировиноградной кислот (Колб, Камышников, 1980); в сыворотке крови определяли содержание глюкозы, общего белка, триацилглицеридов (ТАГ), холестерина, липопротеи-

нов высокой (ЛПВП) и низкой плотности (ЛПНП), активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинфосфокиназы (КФК) с использованием анализатора «Sapphire 400» (Япония). Содержание гликогена в гомогенате печени определяли по методу S. Seifter (1950).

Гемическую гипоксию воспроизводили введением натрия нитрита в дозе 70 мг/кг (Лукьянова, 1989); гистотоксическую гипоксию - введением натрия нитропрусида (Лукьянова, 1989); гиперкапническую гипоксию с гиперкапнией - с использованием герметично закрытой камеры объемом 1000 см³ (Воронина и соавт., 2012). Мембраностабилизирующую активность оценивали по степени перекисного и осмотического гемолиза (Ковалев и соавт., 1986). Определяли антирадикальную активность к супероксидным анион-радикалам (Chen, (2003), радикалам NO (Govindarajan, 2003), а также оценивали хелатирующую активность (Теселкин, 1997). При исследовании анаболических свойств определяли содержание общего белка (Bradford, 1976), концентрацию ДНК и РНК (Трудолюбова, 1977).

Оценку влияния средств на поведенческую активность животных проводили с применением тестов «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «светлая/темная камера» (Воронина и соавт., 2012). Влияние на процессы обучения и памяти оценивали по выработке и устойчивости условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) (Островская и соавт., 2012). Конфликтную ситуацию по Vogel воспроизводили, сталкивая питьевую и оборонительную мотивации (Воронина и соавт., 2012).

Иммунодефицитное состояние у животных воспроизводили путем внутрижелудочного введения азатиоприна (Лазарева, Алехин, 1985). Определяли реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) (Хайтов и соавт., 2012), количество антителообразующих клеток (АОК) (Cunningham, 1965), фагоцитоз перитонеальных макрофагов в отношении частиц коллоидной туши (Хайтов и соавт., 2012).

Полученные данные обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента (Сергиенко, Бондарева, 2001). Различия считали значимыми при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В серии предварительных экспериментов было проведено изучение острой токсичности экстрактов *F. uniflorum*. Установлено, что при внутрижелудочном введении сухих экстрактов из надземной и подземной частей *F. uniflorum* в диапазоне доз 3500 - 10000 мг/кг гибели животных не наблюдалось на протяжении всего периода наблюдения. При внутрибрюшинном введении DL₅₀ сухих экстрактов из надземной и подземной частей составила соответственно 5800 мг/кг и 9500 мг/кг. Полученные данные позволяют отнести указанные

экстракты к группе практически безвредных веществ (Сидоров, 1973; Hodges, Sterner, 1975).

Исследование стресс-протективной активности экстрактов *F. uniflorum* было проведено с использованием моделей 18-часового иммобилизационного и эмоционального стресса при курсовом введении испытуемых средств в дозе 100 мг/кг, определенной в качестве экспериментально-терапевтической дозы в серии экспериментов по оценке дозозависимого антигипоксического эффекта.

Таблица 1 - Влияние экстрактов *F. uniflorum* на выраженность признаков «триады Селье», интенсивность свободнорадикальных процессов и состояние антиоксидантной системы при иммобилизационном стрессе

| Показатели | | Группа животных | | | | |
|------------------------------|--------------|-----------------|--|---|---|---------------------------------------|
| | | Интактная | Контрольная (стресс+ H ₂ O) | Опытная 1 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> корни) | Опытная 2 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> трава) | Опытная 3 (стресс+ <i>R. carth.</i>) |
| Относительная масса, мг/100г | тимус | 33,5±1,08 | 16,8±1,57 | 30,3±2,52* | 31,5±1,47* | 20,5±1,68* |
| | селезенка | 425,0±28,55 | 316,5±27,42 | 398,0±30,43* | 421,3±25,6* | 354,7±26,40* |
| | надпочечники | 14,3±1,34 | 26,4±1,83 | 15,8±1,07* | 17,0±0,85* | 17,3±1,46* |
| ИП для кровоизлияний | | 0 | 0,38 | 0,12 | 0,12 | 0,13 |
| ИП для эрозий | | 0 | 0,13 | 0 | 0,03 | 0,02 |
| ИП для полосов. язв | | 0 | 0,04 | 0 | 0 | 0 |
| МДА, мкмоль/л | | 4,8±0,21 | 10,3±0,55 | 7,3±0,15* | 5,7±0,61* | 7,8±0,62* |
| Восст. глутатион, ммоль/мл | | 1,13±0,04 | 0,56±0,02 | 0,75±0,03* | 0,78±0,02* | 0,75±0,05* |
| Каталаза, мкат/л | | 25,5±1,13 | 15,4±0,97 | 20,3±2,05* | 23,5±1,58* | 25,8±1,54* |
| СОД, ед. активности | | 11,2±0,78 | 4,3±0,31 | 7,4±0,23* | 9,3±0,47* | 6,8±0,27* |

Примечание: *- здесь и далее значения, достоверно отличающиеся от данных животных контрольной группы при $P \leq 0,05$.

Как следует из таблицы 1, курсовое введение экстрактов *F. uniflorum* в дозе 100 мг/кг при иммобилизационном стрессе оказывает выраженное антистрессорное действие. Так, у животных, получавших экстракт корневищ, масса надпочечников была на 40% меньше, а массы тимуса и селезенки соответственно на 80 и 67% больше, чем у крыс контрольной группы и практически оставались на уровне физиологической нормы. Экстракты *F. uniflorum* оказывали также гастропротективное действие, задерживая развитие грубых деструкций слизистой оболочки желудка в виде эрозий и полосовидных язв. Установлено, что при стрессе испытуемые экстракты ограничивают индукцию процессов СРО, о чем свидетельствует достоверное снижение в крови концентрации МДА, повышение содержания восстановленного глутатиона, а также активности супероксиддисмутазы и каталазы. При этом более выраженное антиоксидантное действие проявлял экстракт *F. uniflorum* травы. В целом антиоксидантная активность экстрактов *F. uniflorum* превосходила таковую у препарата сравнения – экстракта *R. carthamoides*.

Установлено, что стресс-протективное действие экстрактов *F. uniflorum* обусловлено уменьшением выраженности гиперактивации центральных стресс-реализующих систем: симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (табл. 2).

Таблица 2 – Влияние экстрактов *F. uniflorum* на содержание гормонов стресса в плазме крови крыс на фоне эмоционального стресса

| Показатели | Группа животных | | | | |
|---------------------------|-----------------|--|---|---|--|
| | Интактная | Контрольная (стресс+ H ₂ O) | Опытная 1 (стресс+ <i>F.</i> <i>uniflorum</i> корни) | Опытная 2 (стресс+ <i>F.</i> <i>uniflorum</i> травы) | Референтная (стресс+ <i>R.</i> <i>carthamoides</i>) |
| Адреналин, нмоль/л | 8,5±0,59 | 37,8±0,35 | 29,3±0,85* | 26,5±1,24* | 31,6±0,51* |
| Норадреналин, нмоль/л | 64,1±0,27 | 120,6±4,71 | 96,3±4,21* | 87,7±5,35* | 111,3±3,77 |
| АКТГ, пг/мл | 15,8±1,69 | 51,0±4,27 | 35,7±2,06* | 31,2±0,86* | 42,6±2,10* |
| Кортикостерон, нмоль/л | 44,3±3,74 | 65,7±3,80 | 51,6±1,83* | 50,5±2,45* | 54,7±4,38 |
| Альдостерон, пг/мл | 271,8±10,45 | 296,1±11,74 | 263,0±15,8 | 226,0±12,4* | 257,3±16,62 |

Как видно из данных, представленных в таблице 2, курсовое введение экстрактов *F. uniflorum* корневищ и травы сопровождается снижением активности пускового звена стресс-реакции – симпаго-адреналовой системы, о чем свидетельствует снижение содержания катехоламинов в плазме крови животных: концентрация адреналина снижалась соответственно на 23 и 30%; содержание норадреналина – на 20 и 25%, а дофамина – на 13 и 18% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. Наряду с этим отмечено снижение активности гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, на что указывает снижение уровня адренотропного гормона соответственно на 30 и 40%; кортикостерона – на 22 и 24%; альдостерона – на 12 и 24% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. Показано, что стресс-протективная и антиоксидантная активность экстракта *F. uniflorum* травы несколько превосходила таковую у экстракта *F. uniflorum* корней, а также активность препарата сравнения экстракта левзеи сафлоровидной.

В таблице 3 представлены результаты изучения влияния экстракта *F. uniflorum* корней в дозе 100 мг/кг на устойчивость животных к действию интенсивных физических нагрузок.

Как следует из представленной таблицы, экстракт *F. uniflorum* корней повышает устойчивость животных к действию интенсивных физических нагрузок, о чем свидетельствует увеличение продолжительности плавания на 77% по сравнению с данными крыс контрольной группы. Повышение работоспособности под влиянием испытуемого средства обусловлено улучшением энергообеспечения работающих тканей: содержание АТФ в скелетных мышцах крыс опытной группы было более чем в 2 раза выше, чем в контроле. Отмечено повышение концентрации углеводных запасов и субстратов окисления в виде гликогена печени и глюкозы крови, а также уменьшение выраженности метаболического ацидоза: концентрация лактата в гомогенате скелетной мышцы снижалась на 25%, а активность лактатдегидрогеназы и креатинфосфокиназы – соответственно на 26 и 20% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. Актопротекторная активность экстракта *F. uniflorum* корней была сопоставима с таковой у препарата сравнения – экстракта левзеи сафлоровидной.

Установлено, что экстракты *F. uniflorum* в дозах 50, 100 и 200 оказывают выраженное антигипоксическое действие при кислороддефицитных состояниях различного генеза. Наиболее выраженную активность проявляли экстракты в дозах 100 и 200 мг/кг: при гипоксической гипоксии с гиперкапнией экстракт корней увеличивал продолжительность жизни крыс соответственно на 60 и 95%; при гемической гипоксии – в среднем на 50%; при острой тканевой гипоксии – в среднем на 25% по сравнению с данными крыс контрольной группы. Экстракт *F. uniflorum* травы в дозах 100 и 200 мг/кг при гиперкапнической и гемической гипоксии повышал резервное время жизни животных в

среднем на 50%; при гистотоксической гипоксии при введении доз 100 и 200 мг/кг - резервное время жизни крыс увеличивалось на 30% по сравнению с аналогичными данными животных контрольной группы.

Таблица 3- Влияние экстракта *F. uniflorum* корней на общую физическую выносливость, показатели обмена веществ и энергетического статуса организма белых крыс

| Показатели | Группа животных | | | |
|---|------------------|---|--|---|
| | Интактная n=8 | Контрольная (ИФН+Н ₂ О) n=10 | Опытная 1 (ИФН+ <i>F.</i> <i>uniflorum</i>) n=10 | Опытная 2 (ИФН+ <i>R.</i> <i>carthamoides</i>) n=10 |
| Плавание, мин | - | 3,6±0,54 | 6,4±0,25* | 6,6±0,39* |
| АТФ в ске- летной мыш- це, мкмоль/г | 1,7±0,06 | 0,5±0,03 | 1,0±0,02* | 0,9±0,07* |
| Глюкоза, ммоль/л | 10,5±0,49 | 7,3±0,30 | 8,7±0,42* | 10,9±0,53* |
| Гликоген в печени, г% | 45,7±2,24 | 12,6±1,08 | 28,5±1,06* | 21,8±1,07* |
| МК, ммоль/л | 1,1±0,04 | 2,0±0,08 | 1,5±0,04* | 1,4±0,07* |
| ПВК, ммоль/л | 0,06±0,005 | 0,18±0,007 | 0,15±0,001 | 0,14±0,009 |
| ЛДГ, ед/л | 2018±165,4 | 3433±155,8 | 2542±125,3* | 2298±124,6* |
| КФК, ед/л | 6912±212,1 | 12379±321,3 | 9855±267,3* | 11279±356,5 |
| Общий белок, г/л | 79,8±2,56 | 72,2±1,29 | 80,2±5,06 | 81,0±2,34* |
| Холестерин, ммоль/л | 2,0±0,04 | 1,9±0,09 | 1,8±0,05 | 1,7 ±0,05* |
| ЛПВП, ммоль/л | 0,32±0,015 | 0,29±0,031 | 0,30±0,041 | 0,35±0,023 |

Установлено, что экстракт *F. uniflorum* корневищ в дозе 100 мг/кг оказывает анаболическое действие, достоверно повышая прирост массы тела половозрелых крыс, преимущественно за счет увеличения массы скелетной мускулатуры и миокарда (табл. 4). Показано, что анаболические свойства реализуются за счет активации процессов синтеза белка, о чем свидетельствует достоверное увеличение его содержания в скелетной мышце на 22% и концентрации РНК на 33% по сравнению с аналогичными данными крыс кон-

трольной группы. При исследовании биохимических показателей сыворотки крови отмечена тенденция к увеличению концентрации глюкозы, а также снижение содержания холестерина, ЛПВП и ТАГ, что указывает на интенсивную утилизацию липидов, что характерно для анаболиков. Анаболическая активность экстракта *F. uniflorum* была сопоставима с таковой у препарата сравнения - экстракта левзеи сафлоровидной.

Таблица 4 – Влияние экстракта *F. uniflorum* на массу неполовозрелых крыс и биохимические показатели крови

| Показатели | | Группа животных | | |
|---------------------------|---------------------|--------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| | | Контрольная (H ₂ O) | Экстракт <i>F. uniflorum</i> | Экстракт <i>R. carthamoides</i> |
| Прирост массы тела, г | | 39,5±1,64 | 55,1±2,37* | 41,6±2,19 |
| масса органов, г | Печень | 3,3±0,16 | 3,3±0,18 | 3,2±0,20 |
| | миокард | 0,33±0,020 | 0,45±0,024* | 0,39±0,026 |
| | скелетная мышца | 0,60±0,028 | 0,79±0,057* | 0,68±0,043 |
| гомогенат печени | гликоген, мг/г | 53,2±1,20 | 62,2±2,04* | 59,5±1,27* |
| гомогенат скелетной мышцы | белок, мг/г | 60,4±0,50 | 73,7±0,56* | 88,3±0,96* |
| | ДНК, мг/г | 0,92±0,085 | 1,11±0,154 | 1,10±0,080 |
| | РНК, мг/г | 4,1±0,12 | 5,5±0,11* | 5,1±0,13* |
| сыворотка крови | глюкоза, ммоль/л | 4,7±0,32 | 5,1±0,35 | 5,94±0,21* |
| | холестерин, ммоль/л | 2,1±0,09 | 1,5±0,08* | 1,9±0,08 |
| | ЛПНП, ммоль/л | 0,69±0,024 | 0,66±0,042 | 0,74±0,049 |
| | ЛПВП, ммоль/л | 1,10±0,062 | 0,63±0,039* | 0,92±0,058 |
| | ТАГ, ммоль/л | 0,61±0,047 | 0,48±0,035 | 0,65±0,052 |
| | СТГ, нг/мл | 0,82±0,065 | 0,84±0,058 | 0,89±0,062 |

В серии экспериментов *in vitro* установлено, что экстракты *F. uniflorum* в концентрациях от 0,1 до 80 мг/мл обладают мембраностабилизирующей активностью, о чем свидетельствует уменьшение степени перекисного и осмотического гемолиза эритроцитов донорской крови. С использованием модельных систем установлено, что мембраностабилизирующая активность испы-

туемых экстрактов связана с наличием антиоксидантных свойств, обусловленными прямым антирадикальным и опосредованным – хелатирующим действием входящих в его состав веществ фенольной природы и экидистероидов. Наличие выраженной антирадикальной активности исследуемого средства было установлено по отношению к супероксидным анион-радикалам, радикалам NO^{\bullet} и DPPH-радикалам.

Исследование влияния экстракта *F. uniflorum* корней на состояние ЦНС показало, что его курсовое введение в дозах 50, 100 и 200 мг/кг интактным белым крысам сопровождается повышением ориентировочно-исследовательской активности и снижением уровня тревожности животных в незнакомой обстановке. Об этом свидетельствуют данные теста «открытое поле»: увеличение вертикальной активности – на 73, 83 и 62%; норкового рефлекса – в среднем на 35 - 45%, а также уменьшение количества болюсов по сравнению с данными крыс контрольной группы. Аналогичные данные получены и с использованием теста «приподнятый крестообразный лабиринт»: количество заходов в открытые рукава лабиринта увеличилось в 1,8; 1,6 раза, время пребывания в них – в 1,4 и 1,6 раза, время нахождения на центральной площадке – в 1,8 и 2,0 раза соответственно. Экстракт *F. uniflorum* корней в указанных дозах стимулировал когнитивные функции животных: через 1 сутки после обучения у крыс опытных групп сохранность условного рефлекса была в среднем в 2,5 раза, а через 3 суток – в среднем в 3 – 4 раза выше, чем у животных контрольной группы.

При изучении влияния экстракта *F. uniflorum* корней на состояние иммунной системы при азатиоприновой иммуносупрессии установлено, что его курсовое введение в дозе 100 мг/кг сопровождалось повышением активности основных звеньев иммунного ответа, о чем свидетельствовало увеличение количества АОК в абсолютных значениях и при расчете на 10^6 спленцитов в среднем в два раза; увеличение индекса реакции ГЗТ в 1,7 раза по сравнению с данными мышей контрольной группы. Также наблюдалось повышение активности макрофагального звена, на что указывает увеличение фагоцитарного индекса в среднем в 2 раза по сравнению с таковым в контрольной группе.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что экстракты надземной и подземной частей *F. uniflorum* повышают устойчивость организма к действию экстремальных факторов, формируя состояние неспецифически повышенной резистентности. Повышение сопротивляемости связано с оптимизацией баланса центральных и периферических стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем, что согласуется с современными представлениями о развитии общего адаптационного синдрома (Постнова и соав., 2013; Asea et al., 2013). Центральные механизмы адаптогенного действия экстрактов *F. uniflorum* заключаются в ограничении гиперактивации стресс-реализующих систем: симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и активации центральных тормозных систем,

что подтверждается данными о снижении уровня тревожности и эмоциональности лабораторных животных в незнакомой обстановке и конфликтной ситуации.

Неотъемлемым свойством для адаптогенных средств, в том числе - экидистероидсодержащих препаратов, является повышение физической и умственной работоспособности (Володин и соавт., 2003; Сыров и соавт., 2016; Арушанян, 2008; Горькавая и соав., 2012), что было подтверждено нами в отношении экстракта *F. uniflorum* корней. Указанные свойства обусловлены оптимизацией энергетического обмена (активацией процессов окислительного фосфорилирования и уменьшения доли анаэробного ресинтеза АТФ), повышением концентрации энергетических запасов в виде гликогена, что обеспечивает клетки достаточным количеством быстрых субстратов окисления, а также улучшением кислородного обеспечения работающих тканей, что подтверждается полученными данными о наличии выраженной антигипоксической активности экстрактов *F. uniflorum* при кислородефицитных состояниях различного генеза. Тем самым экстракты растения расширяют все лимитирующие звенья энергетического обмена: активируют кислородтранспортные механизмы и ферментные системы дыхательной цепи митохондрий, что сопровождается превалированием доли аэробного ресинтеза АТФ над анаэробным. Можно полагать, что повышение работоспособности обусловлено содержащимися в нем экидистероидами, поскольку основной их эффект заключается в активации процессов синтеза структурных и функциональных белков (Володин и соав., 2013; Могиленко, 2015; Сыров и др., 2016), что было показано нами в отношении экстракта *F. uniflorum* корневищ. Так, его курсовое введение неполовозрелым животным сопровождалось увеличением прироста массы тела за счет скелетных мышц и миокарда, вследствие повышения концентрации в них белка и нуклеиновых кислот. Также с присутствием фитоэкидистероидов связана выявленная иммуномодулирующая активность экстракта *F. uniflorum* корневищ, поскольку данное свойство является характерными для этого класса соединений (Репина, 2007; Пунегова, 2009; Бобаев, 2012).

Ведущим молекулярно-клеточным механизмом адаптогенного действия испытуемых экстрактов является ограничение процессов свободнорадикального окисления поскольку известна роль свободных радикалов в механизмах развития стрессорных повреждений – т.н. «окислительного стресса» (Меньщикова и соавт., 2008; Valko, 2005, 2007; Kozyrev, 2010; Rani, 2015). Ингибирование процессов СРО обеспечивается экидистероидами и фенольными соединениями *F. uniflorum*, обладающими, по данным литературы, прямыми радикалсвязывающими свойствами (Сафонова и соавт., 2001; Бурлакова, 2007) и способностью активировать эндогенную антиоксидантную систему организма (Зенков и соавт., 2010; Студенцов и соавт., 2013), что сопровождается повышением устойчивости мембранных структур клеток к действию экстремальных факторов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экстракты, полученные из подземной и надземной частей *F. uniflorum* при профилактическом курсовом введении в экспериментально–терапевтических дозах 100 – 200 мг/кг повышают устойчивость лабораторных животных к иммобилизационному и эмоциональному стрессу, интенсивным физическим нагрузкам, кислороддефицитным состояниям. Курсовое введение животным указанных фитосредств ограничивает развитие «триады Селье», замедляя инволюцию иммунокомпетентных органов, гипертрофию надпочечников, развитие язвенных повреждений слизистой оболочки желудка при стрессе, что связано с ограничением гиперактивации симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой систем, с одновременной активацией центральных и периферических стресс-лимитирующих систем (ГАМК-ергической, антиоксидантной, иммунной). Под влиянием экстрактов *F. uniflorum* повышается физическая работоспособность животных, обусловленная активацией процессов окислительного фосфорилирования, увеличением энергетических запасов клеток, стимуляцией синтеза белка в скелетных и сердечной мышцах, снижением выраженности метаболического ацидоза, ингибированием процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул. Введение испытуемых средств повышает устойчивость организма к действию острой гистотоксической, гемической, нормобарической гипоксии, что способствует улучшению кислородной обеспеченности клеток. Фармакотерапевтическая эффективность испытуемых средств не уступает таковой у препарата сравнения – экстракта левзеи сафлоровидной, при этом активность экстракта надземной части *F. uniflorum* по ряду параметров превосходит таковую у экстракта, полученного из корневищ растения.

Курсовое введение экстрактов *F. uniflorum* стимулирует ориентировочно-исследовательскую активность, снижает уровень тревожности, что ускоряет период адаптации животных к новым потенциально опасным условиям. В условиях иммуносупрессии испытуемые экстракты оказывают иммуномодулирующее действие, повышая активность клеточного, макрофагального и гуморального звеньев иммунитета.

Выявленные фармакологические эффекты свидетельствуют, что под влиянием экстрактов *F. uniflorum* формируется состояние неспецифически повышенной сопротивляемости организма, обусловленное ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих и активацией стресс-лимитирующих систем организма. Периферические механизмы адаптогенного действия испытуемого средства связаны с повышением устойчивости мембранных структур клеток к окислительному стрессу.

Полученные данные свидетельствуют, что надземная и подземная части *F. uniflorum* являются перспективными источниками ценных биологически активных веществ – фитостероидов и могут быть использованы в качестве

эффективных заменителей официального растительного сырья – корневищ левзеи сафлоровидной. Установленные адаптогенные свойства экстрактов сухих *F. uniflorum* аргументируют целесообразность их применения в качестве средств, повышающих неспецифическую сопротивляемость организма.

ВЫВОДЫ

1. Курсовое введение экстрактов, полученных из подземной и надземной частей *F. uniflorum*, в экспериментально-терапевтических дозах оказывает выраженное стресс–протективное действие при иммобилизационном и эмоциональном стрессе.

2. Указанные экстракты повышают устойчивость организма к действию интенсивных физических нагрузок и к кислороддефицитным состояниям различного генеза, оказывают анаболическое действие.

3. Экстракты *F. uniflorum* повышают ориентировочно–исследовательскую активность, снижают уровень тревожности и эмоциональности животных в незнакомых условиях, стимулируют когнитивные функции животных.

4. Испытуемые экстракты оказывают иммуномодулирующее действие, повышая активность основных звеньев иммунной системы при иммуносупрессивном состоянии.

5. Под влиянием экстрактов *F. uniflorum* формируется состояние неспецифически повышенной резистентности, связанное с ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих и активацией стресс-лимитирующих систем организма.

6. Периферические механизмы адаптогенного действия корневищ и травы *F. uniflorum* связаны с ингибированием процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул, что обеспечивает защиту клеточных структур от окислительной деструкции, а также с повышением энергетического потенциала клеток и активацией процессов синтеза структурных и функциональных белков.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Выраженные адаптогенные свойства экстрактов, полученных из надземной и подземной частей *Fornicium uniflorum* аргументируют целесообразность разработки и внедрения в клиническую практику новых фармакологических средств с адаптогенной активностью, предназначенных для повышения работоспособности, предупреждения утомления при повышенных психических и физических нагрузках у практически здоровых лиц, а также работающих на производстве с вредными условиями труда; для повышения сопротивляемости инфекциям, при астенических состояниях, в период реабилитации после

перенесенных тяжелых заболеваний, а также в качестве анаболического средства для спортсменов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Татарина, Н.К. Антиоксидантная активность сухих экстрактов *Rhaponticum uniflorum* (L.) / Н.К. Татарина, И.В. Свиридов, А.А. Торопова, Л.Н. Шантанова, Л.Л. Гармаева // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2014. – №6 (100). – С. 52 – 54.
2. Татарина, Н. К. Влияние экстракта из корней *Stemmacanta uniflorum* на поведение животных в приподнятом крестообразном лабиринте / Н. К. Татарина, Я.Г. Разуваева, Л.Н. Шантанова // Материалы IV Всеросс. научно-практ. конф. с междунар. участием «Развитие традиционной медицины в России». – Улан-Удэ, 2014. - С. 222-225.
3. Tatarinova, N.K. Membrane-stabilizing activity of the dry extract from *Rhaponticum uniflorum* / N.K. Tatarinova, L.N. Shantanova, L.L. Garmaeva, I.E. Matkhanov // Current situation and future trends of drug research and development from natural sources. – Ulaanbaatar, 2015. – P. 71-72.
4. Свиридов, И.В. Иммунокорректирующее действие сухих экстрактов левзеи одноцветковой и серпухи васильковой / И.В. Свиридов, Н.А. Татарина, В.Б. Хобракова, Л.Н. Шантанова // Сб. тр. VI Международной научно-практ. конф. «Экология. Здоровье. Спорт». – Чита, 2015. – С. 258-263.
5. Гармаева, Л.Л. Элементный состав *Rhaponticum uniflorum* (L.) / Л.Л. Гармаева, Г.Г. Николаева, И. Г. Николаева, Н.К. Татарина, Л.Д. Дымшеева // Вестник Бурятского государственного университета. – 2015. - №12. – С. 134-137.
6. Свиридов, И.В. Мембраностабилизирующая активность сухих экстрактов *Serratula centauroides* и *Rhaponticum uniflorum* / И.В. Свиридов, Н.К. Татарина, Л.Н. Шантанова, А.А. Торопова, И.Э. Матханов // Материалы II международной научно-практической конференции «Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов». – Кызыл, 2015. – С. 187 – 189.
7. Sviridov, I.V. Influence of the dry extracts from *Rhaponticum uniflorum* L. and *Serratula centauroides* L. on the humoral immunity / I.V. Sviridov, N.K. Tatarinova, V.B. Khobrakova, L.N. Shantanova // Journal of Oriental Medicine – 2016. – P.33.
8. Патент № 2582282 Российская Федерация, МПК А 61 К. Способ получения средства, обладающего стресспротективной и антигипоксической активностью» / Николаев С.М., Николаева И.Г., Шантанова Л.Н., Николаева Г.Г., Гармаева Л.Л., Татарина Н.Н., Разуваева Я.Г., Матханов И.Э., Сенг Ли; Сонг Панг; заявитель и патентообладатель Институт общей и эксперимен-

тальной биологии СО РАН (RU) - №2015107164; заявл. 2.03.2015; опубл. 20.04.2016, Бюлл. №11.

9. Шантанова, Л.Н. Разработка сухих экстрактов из *Fornicium uniflorum* L. / Л.Н. Шантанова, С.М. Николаев, Н.К. Татарина, И.Э. Матханов, Л.Л. Гармаева, И.Г. Николаева // Материалы III международной научно-практической конференции «Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов». – Кызыл, 2017. – С. 160-163.

10. Татарина, Н.К. Антирадикальные свойства сухого экстракта *Fornicium uniflorum* L. / Н.К. Татарина, И.Э. Матханов, Б.А. Муруев, В.Г. Банзаракшеев, С.М. Николаев, Л.Н. Шантанова // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». – М., 2017. - № S12. – С. 75-77.

11. Хобракова, В.Б. Влияние экстракта сухого левзеи одноцветковой на гуморальное звено иммунного ответа при экспериментальном иммунодефиците / В.Б. Хобракова, Н.К. Татарина // Медицинская иммунология. - 2017. - Т. 19, № SV. - С. 401.

12. Dimitrov, O.G. Molecular and Cellular Mechanisms of Stress-protective Activity of the Plant Adaptogenic Remedy / O.G. Dimitrov, E.A. Alekseeva, B.A. Muruev, L.N. Shantanova, N.K. Tatarinova, V.G. Banzaraksheev, A.V. Bodoev // J. of Traditional Mongolian Medicine. – 2017. – Vol. 8, N 2. –P. 70 – 73.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ - адренкортикотропный гормон;
АОК – антителобразующие клетки;
АОС – антиоксидантная система;
АТФ – аденозинтрифосфат;
ВГ – восстановленный глутатион;
ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа;
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;
ИП – индекс Паулса;
КФК – креатинфосфокиназа;
ЛДГ – лактатдегидрогеназа;
ЛПВП – липопротеины высокой плотности;
ЛПНП – липопротеины низкой плотности;
МДА – малоновый диальдегид;
МК – молочная кислота;
ПВК – пировиноградная кислота;
ПКЛ – приподнятый крестообразный лабиринт;
РНК – рибонуклеиновая кислота;
СОД - супероксиддисмутаза;
СРО – свободнорадикальное окисление;
ТАГ – триацилглицериды;
ЦНС – центральная нервная система.