

Л.Н. Шантанова, С.М. Николаев, И.Э. Матханов, С.М. Гуляев,
Н.К. Татаринова, Б.А. Муруев, В.Г. Банзаракшеев

СТРЕСС-ПРОТЕКТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТА *FORNICIUM UNIFLORUM* L.

УДК 615.43

В работе представлены результаты исследований адаптогенных свойств извлечений из левзеи одноцветковой (*Fornicium uniflorum* L.). Целью исследования явилась оценка стресс-протективной активности извлечений из левзеи одноцветковой в эксперименте при иммобилизационном стрессе у белых крыс. Исследование показало, что сухой экстракт из корневищ *Fornicium uniflorum* обладает выраженным стресс-протективным свойством при 18-часовом иммобилизационном стрессе у крыс, препятствует развитию признаков «триады Селье»: гипертрофии надпочечников, инволюции иммунокомпетентных органов (тимуса и селезенки), предупреждает развитие грубых деструкций в слизистой оболочке стенки желудка.

Ключевые слова: адаптогены, фитостероиды, *Fornicium uniflorum* L., иммобилизационный стресс, антиоксидантная активность.

The results of studies on the adaptogenic properties of *Fornicium uniflorum* L. extracts has been given in the present article. The aim of the study was to evaluate stress-protective activity of extracts from *Fornicium uniflorum* L. at immobilization stress in white rats. The dry extract from *Fornicium uniflorum* rhizomes has stress protective properties in 18-hour immobilization stress simulated in white rats. It has been revealed that the given plant remedy prevents from the development of the "Selye's triad" signs: hypertrophy of renal glands, involution of immune competent organs (thymus and spleen), as well it prevents heavy destructions in the stomach mucosa of white rats. It has been established that the stress-protective effect of the tested plant remedy is due to its inhibiting influence in the processes of free radical oxidation that is testified by the decrease in the concentration of TBA-active products. The antioxidant activity of the *Fornicium uniflorum* extract is due to the capacity of phytoecdysteroids and phenolic compounds contained in the plant, to render the direct antiradical effect, as well to increase the activity of the endogen antioxidant system of the defence in the animals.

Keywords: adaptogens, phytoecdysteroids, *Fornicium uniflorum* L., immobilization stress, antioxidant activity.

Введение. На современном этапе развития общества отмечается рост т.н. «болезней цивилизации», фиксируются новые, ранее не известные нозологические формы и синдромы, связанные с депрессией адаптационно-приспособительных механизмов, особенно часто у людей, живущих в неблагоприятных экологических и климатогеографических условиях. В условиях Крайнего Севера организм человека наиболее подвержен влиянию целого комплекса неблагоприятных факторов, истощающих его адаптивные резервы, влияющих на здоровье и способствующих развитию болезней. В этой связи проблемы повышения неспецифической сопротивляемости организма с помощью фармакологических средств – адаптогенов становятся все более актуальными. Для этой цели перспективным направлением является разработка средств растительного происхождения, лишенных многих недостатков химиотерапевтических

средств, таких как привыкание, токсичность, развитие побочных негативных реакций при длительном применении.

Группа адаптогенов растительного происхождения достаточно многочисленна, многие из этих растений издавна применялись в народной медицине в качестве общеукрепляющих, тонизирующих средств. Механизм их действия долгое время оставался неизвестен. В современной концепции биологически активные вещества, ответственные за фармакологический эффект растительных адаптогенов, условно разделяются на три группы: фенольные соединения, тетрациклические тритерпеноиды (тритерпеновые гликозиды) и оксипилены. Эти соединения структурно подобны эндогенным медиаторам и гормонам центральных стресс-реализующих систем организма – симпат-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой.

Однако эти механизмы далеко не единственные, существует множество других биологически активных веществ, обуславливающих адаптогенные свойства растения [15]. Такими веществами являются фитостероиды, являющиеся полигидроксильрованными стеринами, структурно идентичными или близкими к истинным гормонам линьки насекомых; они содержатся практически во всех растительных объектах, но различия в уровнях концентрации достигают до 8-9 порядков [8]. Физиологическое влияние фитостероидов на организм

человека и теплокровных животных весьма разнообразно: они регулируют обменные процессы, являясь лигандами для внутриклеточных и мембранных рецепторов, обладают способностью изменять гомеостаз организма, воздействуя на рост, дифференциацию и запрограммированную смерть клеток [13], обладают психостимулирующим, адаптогенным, тонизирующим, иммуномодулирующим и др. видами действия [1, 5, 6, 9, 10]. Несмотря на высокую биологическую активность фитостероидов, в настоящее время существует единственное фармакопейное эдистероидсодержащее растение – левзея сафлоровидная (*Leuzea carthamoides* (Willd.)), препараты которой используются в клинической практике. В связи с этим поиск новых природных источников фитостероидов, изучение их состава и свойств является перспективным направлением современной фармакологической науки. Нами разработан способ получения сухого экстракта из корневищ растения – левзеи одноцветковой (*Fornicium uniflorum* L.), содержащего эдистероиды [4].

Целью настоящего исследования явилось определение стресс-протективной активности сухого экстракта из корневищ *Fornicium uniflorum* в эксперименте при иммобилизационном стрессе у крыс.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводили на крысах линии Wistar обоего пола массой 180-200 г в соответствии с правилами,

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН: ШАНТАНОВА Лариса Николаевна – д.б.н., зав. лаб., shantanova@mail.ru, НИКОЛАЕВ Сергей Матвеевич – д.м.н., гл.н.с., nikolaev@mail.ru, ГУЛЯЕВ Сергей Мирович – к.м.н., с.н.с., gulyaev@inbox.ru, ТАТАРИНОВА Наталья Константиновна – аспирант, МУРУЕВ Баир Андреевич – аспирант, bai.andr@mail.ru; МАТХАНОВ Иринчей Эдуардович – к.м.н., с.н.с. Российского научного центра медицинской реабилитации и курортологии МЗ РФ, г. Москва; БАНЗАРАКШЕЕВ Виталий Гамбалович – к.м.н., доцент МИ Бурятского гос. ун-та, gambalovi4@mail.ru.

принятыми «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986 г.), приказом МЗ РФ № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики» (19.06.2003 г.). Животные были распределены на 4 группы: группу интактных животных, контрольную группу и две опытные группы. Крысам 1-й опытной группы вводили внутрижелудочно водный раствор экстракта из корневищ *Fornicium uniflorum* в дозе 100 мг/кг в объеме 10 мл/кг в течение 7 дней до стрессорного воздействия (1 раз в день за 30 мин до кормления). Крысам 2-й опытной группы вводили внутрижелудочно деалкоголизированный экстракт *Leuzea carthamoides* в дозе 5,0 мл/кг, служивший препаратом сравнения. Животные контрольной группы получали эквивалентное количество дистиллированной воды по аналогичной схеме. На 7-е сут эксперимента животных контрольной и опытных групп подвергали иммобилизационному стрессу. Модель иммобилизационного стресса воспроизводили путем фиксации животных в положении лежа на спине в течение 18 ч [11]. После окончания эксперимента животных декапитировали под эфирным наркозом, брали кровь для биохимических анализов, извлекали органы (надпочечники, тимус, селезенку, желудок), определяли изменение относительной массы иммунных органов после стресса, а также степень деструктивных повреждений слизистой оболочки стенки желудка с подсчетом индекса Паулса [2]. Интенсивность процессов свободнорадикального окисления (СЮ) определяли по концентрации малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови [7]. Антиоксидантный статус оценивали по активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы [3] и содержанию восстановленного глутатиона [12]. Статистическую обработку данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. В ходе исследований установлено, что 18-часовой иммобилизационный стресс у крыс сопровождается развитием классической «триады Селье»: гипертрофией надпочечников, инволюцией иммунокомпетентных органов, повреждением слизистой оболочки стенки желудка (табл. 1-2). У крыс, получавших экстракт *F. uniflorum*, отмечали уменьшение выраженности признаков «триады Селье»: масса надпочечников была на 30% меньше, масса тимуса и селезенки соответственно на 48 и 41%

Таблица 1

Влияние экстракта *F. uniflorum* на выраженность признаков «триады Селье» у крыс при 18-часовом иммобилизационном стрессе

Группа животных	Относительная масса органов, мг/100 г		
	тимус	селезенка	надпочечники
Интактная (n=6)	47,0±2,88	491,6±37,84	16,8±1,77
Контрольная (n=8) (стресс+ H ₂ O)	34,6±3,89	282,6±20,56	25,0±2,24
Опытная 1 (n=8) (стресс+ <i>F. uniflorum</i>)	51,5±5,79*	400,8±29,42*	17,5±1,72*
Опытная 2 (n=8) (стресс+ <i>L. carthamoides</i>)	40,2±3,00	404,0±26,36*	17,6±0,75*

Примечание. В табл. 1–3 * значимость различий по сравнению с контролем при p<0,05.

Таблица 2

Влияние экстракта *F. uniflorum* на выраженность повреждений слизистой оболочки желудка белых крыс при 18-часовом иммобилизационном стрессе

Показатель	Группа животных			
	интактная (n=8)	контрольная (стресс+H ₂ O) (n=8)	опытная 1 (стресс + экстракт <i>F. uniflorum</i>) (n=8)	опытная 2 (стресс+ экстракт <i>L. carthamoides</i>) (n=8)
Кровоизлияния, %	0	100	40	50
Среднее число кровоизлияний на 1 крысу	0	4,8	2,5	2,7
ИП для кровоизлияний	0	0,38	0,12	0,13
Эрозии, %	0	60	0	30
Среднее число эрозий на 1 крысу	0	2,6	0	0,6
ИП для эрозий	0	0,13	0	0,02
Язвы полосовидные, %	0	50	0	0
Среднее число язв на 1 крысу	0	1,0	0	0
ИП для язв	0	0,04	0	0

Примечание. ИП – индекс Паулса.

Таблица 3

Влияние экстракта *F. uniflorum* на интенсивность процессов СРО и состояние антиоксидантной системы крыс при 18-часовом иммобилизационном стрессе

Показатель	Группа			
	интактная (n=8)	контрольная (стресс+H ₂ O) (n=8)	опытная 1 (стресс+экстракт <i>F. uniflorum</i>) (n=8)	опытная 2 (стресс+экстракт <i>L. carthamoides</i>) (n=8)
МДА, мкмоль/л	4,8±0,21	10,3±0,55	7,5±0,28*	7,8±0,62*
Восстановл. глутатион, ммоль/мл	0,73±0,041	0,56±0,024	0,69±0,07*	0,75±0,050*
Каталаза, мкат/л	25,5±1,13	15,4±0,97	20,4±2,03*	25,8±1,54*
СОД, ед. активности	11,2±0,78	4,3±0,31	7,3±0,65*	6,8±0,27*

больше по сравнению с аналогичными показателями у крыс контрольной группы. Иммобилизационный стресс у крыс контрольной группы вызывал повреждение слизистой оболочки стенки желудка в виде точечных кровоизлияний, эрозий и полосовидных язв. У крыс 1-й опытной группы, получавших экстракт *F. uniflorum*, стрессорные повреждения слизистой оболочки стенки желудка были менее выражены. Эрозий слизистой оболочки стенки желудка у них не обнаруживали в отличие от крыс 2-й опытной группы. Глубоких повреждений в слизистой оболочке стенки желудка в виде полосовидных язв у крыс опытных групп не отмечали. Таким образом, введение крысам

используемого средства оказывало выраженный гастропротективный эффект при стрессовом воздействии.

Профилактическое введение сухого экстракта *F. uniflorum* оказывало выраженное антиоксидантное действие: концентрация МДА была на 27% меньше, активность каталазы и СОД была на 32 и 70% соответственно выше, а содержание восстановленного глутатиона на 23% больше по сравнению с аналогичными показателями у животных контрольной группы (табл.3). Показатели антиоксидантной активности у крыс, получавших испытываемое средство, были сопоставимы с таковыми показателями у крыс, получавших *L. carthamoides*.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что экстракт *F. uniflorum* обладает выраженным стресс-протективным свойством, препятствует развитию стресс-реакции – гипертрофии надпочечников, инволюции иммунокомпетентных органов и деструкции в слизистой оболочке стенки желудка у крыс при иммобилизационном стрессе. Известно, что важную роль в развитии стрессовых повреждений органов играет активизация свободнорадикального окисления, ведущая к нарушению структурной целостности липидного слоя клеточных мембран и снижению активности мембраносвязанных ферментов. Длительная многочасовая иммобилизация сопровождается усилением продукции свободных радикалов, интенсификацией процессов ПОЛ и депрессией антиоксидантной системы защиты, о чем свидетельствуют увеличение содержания МДА в сыворотке крови и снижение активности ферментов антиоксидантной защиты у крыс контрольной группы. Стресс-протективное действие испытываемого средства связано с ингибирующим влиянием на процессы СРО. Вклад в реализацию антиоксидантной активности экстракта *F. uniflorum* вносят кроме веществ фенольной природы также и экдистероиды растения, обладающие как прямыми антирадикальными свойствами, так и способностью повышать уровень эндогенной антиоксидантной системы защиты организма животных [14].

Заключение. Сухой экстракт *F. uniflorum* обладает выраженными стресс-протективными свойствами при 18-часовом иммобилизационном стрессе у белых крыс. Испытуемое средство препятствует развитию классических признаков «триады Селье»: гипертрофии надпочечников, инволюции иммунокомпетентных органов, деструктивных процессов в слизистой оболочке стенки желудка. Стресс-протективное действие экстракта *F. uniflorum* обусловлено антиоксидантным действием фенольных соединений и экдистероидов, содержащихся в растении. Антиоксидантные эффекты указанных веществ определяются как прямым антирадикальным действием, так и опосредованным их влиянием на СРО, способностью повышать уровень эндогенной антиоксидантной системы защиты организма. Стресс-

протективное действие экстракта *F. uniflorum* обеспечивается также свойством экдистероидов активизировать механизмы адаптации организма при стрессовой нагрузке. Результаты проведенных исследований аргументируют целесообразность применения в клинической практике извлечений из *F. uniflorum* в качестве адаптогенных средств при стрессовых состояниях, физических и психо-эмоциональных нагрузках, в экстремальных условиях внешней среды, а также в качестве оздоровительных средств для профилактики многих заболеваний.

Литература

1. Алексеева Л.И. Фитозекдистероиды / Л.И. Алексеева, В.В. Володин, С.О. Володина. – СПб.: Наука, 2003. – С. 293.
2. Alexeeva L.I. Phytoecdysteroids / L. I. Alexeeva, V.V. Volodin, S.O. Volodina // St-Petersburg: Nauka, 2003. – P. 293.
3. Амосова Е.Н. Поиск новых противоэрозивных средств из растений Сибири и Дальнего Востока / Е.Н. Амосова, Е.П. Зуева, Т.Г. Разина // Экспер. и клинич. фармакология. – 1998. – Т. 61. – С. 31-35.
4. Amosova E.N. Search for new antiulcer drugs from plants in Siberia and the Far East / E.P. Zueva, T.G. Razina // Exper. and clinical pharmacology. – V. 61. – P. 31-35.
5. Королук М.А. Методы определения активности каталазы / М.А. Королук, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16-19.
6. Korolyuk M.A. Methods for the determination of catalase activity / M.A. Korolyuk, L.I. Ivanova, I.G. Mayorova // Lab. work. – 1988. – №1. – P. 16-19.
7. Николаев С.М. Способ получения средства, обладающего стресспротективной и антигипоксической активностью / С.М. Николаев, И.Г. Николаева, Л.Н. Шантанова: Патент РФ № 2582282. Опубл. 20.04.2016. Бюлл. №11.
8. Nikolaev S.M. Method for obtaining a drug with stress protective and antihypoxic activity. Nikolaev, I.G. Nikolaeva, L.N. Shantanova Patent of the Russian Federation No. 2582282. Pub. 04/20/2016. Bull. №11.
9. Пчеленко Л.Д. Адаптогенный эффект экдистероидсодержащей фракции *Serratula coronata* L. / Л.Д. Пчеленко, Л.Г. Метелкина, С.О. Володина // Химия растительного сырья, 2002, 1, С.69-80.
10. Pchelenko L.D. The adaptogenic effect of the ecdysteroid-containing fraction of *Serratula coronata* L. / Pchelenko L.D., L.D. Metelkina, S.O. Volodina // Chemistry of plant raw materials, 2002. №1. – С.69-80.
11. Сыров В.Н. Сравнительное изучение анаболической активности фитозекдистероидов и стеранаболов в эксперименте / В.Н. Сыров // Химико-фармац. журн. – 2000. – №4. – С.31-35.
12. Syrov V.N. Comparative study of the anabolic activity of phytoecdysteroids and steranabols in experiment / V.N. Syrov // Chem.-Pharm. Journal. – 2000. – №4. – P.31-35.
13. Темирбулатов Р.А. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение / Р.А. Темирбулатов, Е.И. Селезнев // Лаб. дело. – 1981. – №4. – С. 209-211.
14. Temirbulatov R.A. A method for increasing the intensity of free radical oxidation of lipid-containing blood components and its diagnostic significance / R.A. Temirbulatov, E.I. Seleznev // Lab. work. – 1981. – №4. – P. 209-211.
15. Тимофеев Н.П. Промышленные источники получения экдистероидов. Часть I. Ponasterone and muristerone / Н.П. Тимофеев // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. Сб. науч. трудов. М., РАЕН, 2003, 9, С.64-86.
16. Timofeev N.P. Industrial sources for obtaining ecdysteroids. Part I. Ponasterone and muristerone / N.P. Timofeev // Non-traditional natural resources, innovative technologies and products. Collection of scientific works. – M., RANS. – 2003. – №9. – С.64-86.
17. Тимофеев Н.П. Фитозекдистероиды: фармакологическое использование и активность (обзор) / Н.П. Тимофеев // Медицинские науки. – 2005. Т.4, №10. – С. 26-66.
18. Timofeev N.P. Phytoecdysteroids: pharmacological use and activity (review) / N.P. Timofeev // Medical Sciences. – 2005. – V.4, №10. – P.26-66.
19. Тодоров И.Н. Влияние экдистерона на биосинтез белков и нуклеиновых кислот в органах мышей / И.Н. Тодоров, Ю.Н. Митрохин, О.И. Ефремова, Л.И. Сидоренко // Химико-фармацевтический журнал. – 2000, 34 (9). – С.3-5.
20. Todorov I.N. Effect of ecdysterone on biosynthesis of proteins and nucleic acids in the organs of mice / Yu.N. Mitrokhin, O.I. Efremova, L.I. Sidorenko // Chem.- Pharm. Journal. – 2000, 34 (9). – P.3-5.
21. Юматов Е.А. Сравнительный анализ устойчивости функций сердечно-сосудистой системы у крыс разных линий при иммобилизации / Е.А. Юматов, Ю.Г. Скоцелас // Журн. высшей нервн. деят. – 1979. – №2. – С.345-350.
22. Yumatov E.A. Comparative analysis of the stability of cardiovascular functions in rats of different lines during immobilization / E.A. Yumatov, Yu.G. Scotselyas // Journal of Higher Nervous Activity. – 1979. – No. 2. – P. 345-350.
23. Anderson M.E. Glutathion: chemical, biochemical and medicinal aspects / M.E. Anderson / Pt.A.-N.Y. – 1989. – P. 333-405.
24. Kucharova S. Hormone nuclear receptors and their ligands: role in programmed cell death / S. Kucharova, R. Farkas // Endocr. Regul. – 2002. – Vol.36, №1. – P.37-60.
25. Miliuskas G. Identification of radical scavenging compounds in *Rhaponticum carthamoides* by means of LC-DADSPE-NMR // G. Miliuskas, T.A. Beek, P. Waard // J. Nat Prod. – 2005, 68(2). – P. 168-172.
26. Panossian A. Plant adaptogens III. Earlier and more recent aspects and concepts on their mode of action / A. Panossian, G. Wikman, H. Wagner // Phytomed. – 1999, Vol. 6(4). – P. 287-300.