

УДК 615.1/4

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2020.25.88.001>

СТРЕССПРОТЕКТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ СУХИХ ИЗ КОРНЕВИЩ И НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ RHAPONTICUM UNIFLORUM L.

Л. Н. Шантанова, доктор биол. наук, профессор, заведующий лабораторией безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН» (ФГБУН ИОЭБ СО РАН); ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» (ФГБОУ ВО «БГУ»), г. Улан-Удэ, shantanova@mail.ru,

И.Э. Матханов, канд. мед. наук, ст. научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН» (ФГБУН ИОЭБ СО РАН), г. Улан-Удэ, matkhanov1965@mail.ru,

С.М. Николаев, доктор мед. наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН» (ФГБУН ИОЭБ СО РАН); ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» (ФГБОУ ВО «БГУ»), г. Улан-Удэ, smnikolaev@mail.ru,

И.Г. Николаева, доктор фарм. наук, ст. научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН» (ФГБУН ИОЭБ СО РАН); ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» (ФГБОУ ВО «БГУ»), г. Улан-Удэ, i-nik@mail.ru,

В.Е. Хитрихеев, доктор мед. наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии Медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» (ФГБОУ ВО «БГУ»), г. Улан-Удэ, khitrikheewe@yandex.ru

Представлены результаты исследования стресспротективной активности экстрактов, полученных из корневищ и надземной части растения *Rhaponticum uniflorum* L., основными действующими веществами которого являются фитоэкдистероиды и флавоноиды. Разработанные экстракты – практически нетоксичные вещества. Их курсовое введение в экспериментально-терапевтической дозе 100 мг/кг оказывает стресспротективное действие при остром эмоциональном стрессе, уменьшая выраженность признаков триады Селье благодаря ограничению гиперактивации центральных стрессреализующих систем организма. Периферические механизмы адаптогенного действия экстрактов *R. uniflorum* связаны

с ингибированием процессов свободнорадикального окисления.

Ключевые слова: лекарственные растения, *Rhaponticum uniflorum*, фитоэкдистероиды, сухие экстракты, стресспротективная активность

В настоящее время отмечается интерес к экдистероидсодержащим растениям как источникам новых адаптогенных препаратов, обеспечивающих повышение неспецифической сопротивляемости организма. Фитоэкдистероиды обладают широким спектром фармакологических свойств: регулируют метаболизм, оказывают противовоспалительное, антиоксидантное, противоопухолевое,

иммуномодулирующее, ноотропное, стресспротективное, анаболическое действие [1,2]. При этом синтез белка под их влиянием не сопряжен с гормональным эффектом анаболиков животного и синтетического происхождения, что обеспечивает отсутствие опасных для жизни побочных эффектов при их приеме [3]. В этой связи их используют для коррекции массы тела во время тренировочного процесса и достижения высоких показателей в профессиональном спорте. В России единственным экидистероидсодержащим растением, включенным в Государственные фармакопеи РФ и Государственный реестр лекарственных средств, является левзея сафлоровидная (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin.).

В последние годы предпринимаются активные исследования другого вида рода *Rhaponticum* – *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. В отличие *R. carthamoides*, этот вид распространен более широко, произрастает в степных и горных районах Восточной Сибири, Дальнего Востока России. Содержание экидистероидов в подземных органах растения по разным источникам варьирует от 0,023 до 0,85% [4]. Препараты из *R. uniflorum* имеют широкое применение в традиционной медицине Востока: тибетской, монгольской и китайской [5].

Целью настоящей работы явилось определение стресспротективной активности экстрактов сухих из надземной и подземной частей *R. uniflorum* при эмоциональном стрессе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экстракты сухие получены из подземной (корневища с корнями) и надземной (трава) частей *R. uniflorum*. Растительное сырье заготовлено в период массового цветения в 2015–2016 гг. в Республике Бурятия и Забайкальском крае. Способ получения экстрактов заключается в трехкратной экстракции 60% этиловым спиртом и водой очищенной, последующей

фльтрации, упаривании и сушке в вакуум-сушильном аппарате. Способ получения экстракта сухого из корневищ с корнями *R. uniflorum* запатентован [6]. Биологически активные вещества полученных экстрактов представлены экидистероидами, флавоноидами, фенолкарбоновыми кислотами, тритерпеновыми сапонинами, аминокислотами и др. Содержание суммы экидистероидов в пересчете на экидистерон в экстракте сухом составляет 3,9% [7].

Экспериментальная работа проведена на белых крысах линии Wistar обоего пола массой 180–200 г. Модель психоэмоционального стресса воспроизводили методом иммобилизации животных в металлических пеналах, погруженных в воду (25°C) на 4 часа [8]. Крысам опытных групп профилактически в течение 7 дней до стрессорного воздействия внутрижелудочно вводили экстракты в дозах 100 мг/кг в объеме 10 мл/кг водного раствора. В качестве препарата сравнения использовали dealкоголизированный экстракт *R. carthamoides* в дозе 5,0 мл/кг. На 7-е сутки эксперимента животных подвергали психоэмоциональному стрессу и оценивали выраженность стрессорных повреждений. Для этого определяли показатели триады Селье: гипертрофию надпочечников, инволюцию тимуса и селезенки, количество повреждений в слизистой оболочке желудка с подсчетом индекса Паулса. В сыворотке крови определяли интенсивность процессов свободнорадикального окисления и активность эндогенной АОС по содержанию малонового диальдегида [9], активности каталазы [10] и супероксиддисмутазы [11], концентрации восстановленного глутатиона [12]. В плазме и сыворотке крови определяли содержание адреналина, норадреналина, адренотропного гормона (АКТГ), кортикостерона и альдостерона с использованием стандартных иммуноферментных наборов Tri Cat ELISA и анализатора DSX (США). Статистическую обработку полученных данных осуществляли с применением t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение острой токсичности показало, что экстракты корневищ и травы *R. uniflorum* являются практически нетоксичными веществами в соответствии с действующей классификацией [13].

Установлено, что курсовое профилактическое введение животным экстрактов корневищ и травы *R. uniflorum* в дозах 100 мг/кг на фоне 4-часового эмоционального стресса оказывало выраженное антистрессорное действие, о чем свидетельствует достоверное уменьшение выраженности признаков триады Селье (табл. 1).

Как следует из табл. 1, курсовое введение экстрактов *R. uniflorum* сопровождалось уменьшением выраженности признаков стресс-реакции: гипертрофия надпочечников

у крыс, получавших экстракты *R. uniflorum* корней и травы, была меньше соответственно на 27 и 20%, чем в контроле; масса тимуса на 35 и 42% и селезенки – на 14 и 18% соответственно больше, чем у крыс контрольной группы. Наряду с этим испытываемые средства оказывали гастропротективное действие, уменьшая выраженность язвенных повреждений слизистой оболочки животных, о чем свидетельствует уменьшение индекса Паулса для точечных кровоизлияний и эрозий. У крыс, получавших экстракт *R. uniflorum* корней, полосовидных язв не было отмечено; у животных, получавших экстракты *R. uniflorum* и *R. carthamoides*, – у одной крысы в группе, тогда как в контрольной группе отмечались у 80% животных. В целом по показателям триады Селье эффективность экстрактов *R. uniflorum* была сопоставима с таковой у препарата сравнения – экстракта

Таблица 1

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ *R. UNIFLORUM* НА СТЕПЕНЬ ГИПЕРТРОФИИ НАДПОЧЕЧНИКОВ, ИНВОЛЮЦИЮ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ОРГАНОВ, ИНДЕКС ПАУЛСА У БЕЛЫХ КРЫС НА ФОНЕ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА

Показатели	Группы животных				
	Интактная, n=8	Контрольная (стресс + H ₂ O), n=10	Опытная 1 (стресс + <i>R. uniflorum</i> корни), n=10	Опытная 2 (стресс + <i>R. uniflorum</i> трава), n=10	Опытная 3 (стресс + <i>R. carthamoides</i>), n=10
Масса (мг/100 г)					
надпочечников	16,0±1,08	25,0±2,51	18,3±1,34*	20,2±1,95*	16,3±1,62*
тимуса	57,3±2,23	33,5±3,16	45,4±3,47*	47,6±4,03*	49,5±2,53*
селезенки	458,0 ±14,5	359,2±20,5	408,5±23,4	425,3±16,8*	430±26,2*
ИП для кровоизлияний		6	2,8	3,2	4,3
ИП для эрозий		3	0,65	0,55	0,75
ИП для язв		1,25	0	0,01	0,01

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

R. carthamoides, а по ряду параметров превосходила таковую.

Установлено, что стресспротективная активность экстрактов *R. uniflorum* обусловлена ограничением гиперактивации центральных стрессреализующих систем: симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой (табл. 2).

Как следует из данных, представленных в табл. 2, введение экстрактов *R. uniflorum* сопровождается снижением активности пускового звена стресс-реакции – симпато-адреналовой системы, о чем свидетельствует уменьшение концентрации катехоламинов в крови животных опытных групп: при введении экстрактов *R. uniflorum* корней и травы концентрация адреналина снижается соответственно на 23 и 30%; содержание норадреналина – на 20 и 25% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. Наряду с этим на фоне введения испытуемых фитосредств отмечено снижение активности гипоталамо-гипофизарно-адреналовой

системы, на что указывает снижение концентрации адренокортикотропного гормона на 30 и 40% соответственно, кортикостерона – на 22 и 24%; альдостерона – на 12 и 24% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. Показано, что стресспротективная активность экстракта *R. uniflorum* травы несколько превосходила таковую у экстракта *R. uniflorum* корней, а также активность препарата сравнения – экстракта левзеи сафлоровидной.

Данные, представленные в табл. 3, свидетельствуют, что курсовое введение экстрактов *R. uniflorum* сопровождается снижением индукции процессов свободнорадикального окисления (СРО), являющихся универсальным ведущим молекулярно-клеточным механизмом повреждения клеточных мембран при стрессорных повреждениях. В частности, на это указывает снижение концентрации МДА в крови крыс опытных групп 1 и 2 в среднем на 30% по сравнению с данными крыс контрольной группы. Установлено, что ограничение

Таблица 2

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ R. UNIFLORUM НА СОДЕРЖАНИЕ ГОРМОНОВ ГИПОФИЗА И НАДПОЧЕЧНИКОВ В КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ

Показатели	Группы животных				
	Интактная, n=8	Контрольная (стресс + H ₂ O), n=10	Опытная 1 (стресс + <i>R. uniflorum</i> корни), n=10	Опытная 2 (стресс + <i>R. uniflorum</i> трава), n=10	Опытная 3 (стресс + <i>R. carthamoides</i>), n=10
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

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ *R. UNIFLORUM* НА ПОКАЗАТЕЛИ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ БЕЛЫХ КРЫС НА ФОНЕ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА

Группы	Показатели			
	МДА, нмоль/мл	ВГ, ммоль/л	Каталаза, мкат/л	СОД, ед. активности
Интактная, n=8	12,2±1,03	3,1±0,16	8,3±0,61	15,6±1,08
Контрольная (стресс + H ₂ O), n=8	24,7±1,41	0,8±0,12	5,9±0,48	6,2±0,57
Опытная 1 (стресс + <i>R. uniflorum</i> корни), n=8	15,3±1,04*	2,1±0,04*	7,0±0,22*	11,3±0,94*
Опытная 2 (стресс + <i>R. uniflorum</i> трава), n=8	14,8±1,05*	2,3±0,17*	7,3±0,46*	9,74±0,14*
Опытная 3 (стресс + <i>R. carthamoides</i>), n=8	14,3±0,92*	1,5±0,09*	6,7±0,72*	10,9±0,86*

процессов СРО обусловлено повышением активности эндогенной антиоксидантной системы организма (АОС), о чем свидетельствует повышение концентрации восстановленного глутатиона в 2,6 раза – при введении экстракта *R. uniflorum* корней и в 3 раза – при введении экстракта *R. uniflorum* травы. Также на фоне введения испытуемых экстрактов повышается активность ферментов антиоксидантной защиты каталазы и СОД: при введении экстракта *R. uniflorum* корней – соответственно на 18 и 82%, а при введении экстракта *R. uniflorum* травы – на 24 и 57% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. При этом антиоксидантная активность испытуемых средств была аналогичной таковой у препарата сравнения – экстракта левзеи сафлоровидной.

Можно полагать, что стресспротективная активность указанных экстрактов обусловлена высоким содержанием экдистероидов, а также таких соединений, как флавоноиды, аминокислоты и др., усиливающих их биологические

эффекты, что в конечном итоге обеспечивает инактивацию свободных радикалов, ведущих к нарушению функциональной и структурной состоятельности биологических мембран при эмоциональном стрессе. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что *R. uniflorum* является перспективными экдистероидсодержащим растительным сырьем для получения новых адаптогенных средств. Учитывая, что содержание экдистероидов в траве растения в 1,3 раза выше, чем в подземных органах, а фармакологическая активность экстракта из нее аналогична таковой у экстракта из корневищ, использование надземной части *R. uniflorum* имеет важное значение для рационального использования лекарственного растительного сырья.

ВЫВОДЫ

1. Экстракты *R. uniflorum* корней и травы при курсовом введении в дозах 100 мг/кг

оказывают стресспротективное действие при эмоциональном стрессе, препятствуя развитию признаков триады Селье.

2. Стресспротективная активность экстрактов *R. uniflorum* обусловлена ограничением гиперактивации центральных стрессреализующих систем: симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой.

3. Периферические эффекты адаптогенного действия экстрактов *R. uniflorum* связаны с ингибированием процессов свободнорадикального окисления и повышением активности эндогенной антиоксидантной системы организма.

Работа выполнена в рамках темы Госзадания №0337-2018-0001.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Володин В.В. Экдистероидсодержащие растения – источники новых адаптогенов / В.В. Володин, С.И. Матаев // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2011. – Т. 7, №2. – С. 52–59.
2. Dinan L. Effects and applications of arthropod steroid hormones (ecdysteroids) in mammals / L. Dinan, R.J. Lafont // *Endocrinol.* – 2006. Vol. 191. – P. 1–8.
3. Тодоров И.Н. Влияние экдистерона на биосинтез белков и нуклеиновых кислот в органах мышей / И.Н. Тодоров // Химико-фармацевтический журнал. – 2000. – Т. 34, №9. – С. 3–5.
4. Тимофеев Н.П. Промышленные источники получения экдистероидов. Часть II. Ecdysterone: Растения рода *Rhaponticum* (обзор) // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. – М., 2007. – С. 8–49.
5. Zhang Y. H, Wang H.Q. Ecdysteroids from *Rhaponticum uniflorum* // *Phamazie*, 2001. Vol. 56. Is. 10. – P. 828–829.
6. 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., Татаринова Н.Н., Разуваева Я.Г., Матханов И.Э., Сенг Ли; Сонг Панг; заявитель и патентообладатель – Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (RU) – №2015107164; заявл. 2.03.2015; опубл. 20.04.2016, бюлл. №11.
7. Гармаева Л.Л. Фармакогностическое исследование *Fornicium uniflorum* L. и разработка средства, обладающего стресспротективной и антигипоксической активностью / Л.Л. Гармаева. Дисс. ... канд. фарм. наук. – Улан-Удэ, 2016. – 209 с.
8. Overmier J. The ulcerogenic effect of a rest period after exposure to water-restraint stress / J. Overmier, R. Murison, H. Ursin // *Behav. Neural. Biol.* – 1986. – Vol. 46. – P. 372–382.
9. 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.
10. Королюк М.А. Методы определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16–19.
11. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – №11. – С. 678–681.
12. Anderson M.E. Glutathion: chemical, biochemical and medicinal aspects / M.E. Anderson // *Pt. Ann.* – N. Y. – 1989. – P. 333–405.
13. Hodge H. *Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning* / H. Hogde, R. Sterner. Ed. IV. – Baltimore, 1975. – 427 p.

STRESS-PROTECTIVE ACTIVITY OF THE EXTRACTS FROM RHAPONTICUM UNIFLORUM L.

L.N. Shantanova^{1,2}, I.E. Matkhanov¹, S.M. Nikolaev^{1,2}, I.G. Nikolaeva^{1,2}, V.E. Khitrikheev²

¹ Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude, Russia

² Buryat State University, Ulan-Ude, Russia

*The article gives the research findings of the stress-protective activity of extracts derived from rhizomes and aerial part of *Rhaponticum uniflorum* L., in which phytoecdysteroids and flavonoids are the main active ingredients. The developed extracts are practically non-toxic substances. Their course administration in experimental-therapeutic dose 100 mg/kg has the stress-protective effect in acute emotional stress decreasing the manifestation of the Selye's triad signs due to inhibition of hyperactivity of central stress-realizing bodily systems. Peripheral mechanisms of adaptogenic effect of the *Rhaponticum uniflorum* extracts are connected with inhibition of free radical oxidation processes.*

Keywords: medicinal plants, *Rhaponticum uniflorum*, phytoecdysteroids, dry extracts, stress-protective activity