

УДК 615.32

<https://www.doi.org/10.34907/JRQAI.2024.25.85.008>

ОЦЕНКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА ПЛОДОВ СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ

И.А. Лупанова, канд. биол. наук, руководитель Центра доклинических исследований ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

Д.В. Шишканов, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела экспериментальной фармакологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

Е.Н. Курманова, научный сотрудник отдела экспериментальной фармакологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

Е.В. Ферубко, доктор мед. наук, зав. отделом экспериментальной фармакологии, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

Е.В. Уютова, научный сотрудник отдела химии природных соединений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

О.Л. Сайбель, доктор фарм. наук, руководитель Центра химии и фармацевтической технологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

В.В. Карабаева, старший научный сотрудник отдела экспериментальной фармакологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

Т.Е. Трумпе, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела экспериментальной фармакологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

*В отделе экспериментальной фармакологии ФГБНУ ВИЛАР была изучена фармакологическая активность экстракта плодов софоры японской. Результаты проведенных исследований в условиях опытов *in vivo* свидетельствуют о том, что данный экстракт по параметрам острой токсичности относится к категории малотоксичных веществ, а также обладает выраженным капилляроукрепляющим, противовоспалительным и антиэкссудативным действием.*

Ключевые слова: экстракт плодов софоры японской, острая токсичность, формалиновый отек, интерстициальный отек, модель ксилового воспаления, противовоспалительное действие, капилляроукрепляющее действие

Важнейшей задачей современной медицины является создание эффективных и безопасных лекарственных средств, в том числе на основе активных фармацевтических субстанций

растительного происхождения, которые характеризуются способностью комплексно влиять на различные звенья патологического процесса и возможностью длительного применения пациентами разных возрастных групп. Они легче переносятся, значительно реже вызывают побочные эффекты и, как правило, не обладают кумулятивными свойствами.

Одним из перспективных источников получения биологически активных веществ (БАВ) широкого спектра действия является листопадное дерево семейства Бобовые (*Fabaceae*) – софора японская (*Styphnolobium japonicum* L.). Данное растение культивируется как медоносное и декоративное в Китае, Корее, Японии, Вьетнаме и других странах Азии, в Европе и Северной Америке, а также на юге европейской части СНГ – в Узбекистане, Таджикистане, Туркменистане, Азербайджане, Армении, Восточной Грузии, Крыму и на Кавказе [1].

Наряду с этим софора японская находит применение в традиционной медицине Китая, Японии, Кореи. Лечебные средства, полученные из различных частей данного растения, используются в качестве противоотечного, детоксицирующего, противопаразитарного и других средств [2]. Цветки и бутоны софоры японской включены в Китайскую и Европейскую фармакопею [1]. Благодаря проявлению выраженной антиоксидантной активности лекарственные средства на их основе рекомендуются к применению для поддержания общего здоровья и хорошего самочувствия пациентов [3]. Плоды софоры японской также служат ценным источником БАВ, преимущественно противовоспалительного действия [2].

В связи с этим в ФГБНУ ВИЛАР разработан способ получения субстанции из плодов софоры японской, содержащей комплекс фенольных соединений.

Исследование химического состава полученного экстракта методом ВЭЖХ-МС/МС позволило идентифицировать в составе данного

экстракта 15 индивидуальных соединений, представляющих собой разнообразные гликозиды кемпферола, кверцетина и генистеина. Основными из них являются кемпферол-диглюкозид, кемпферол-рамноглюкозид, кемпферол-рамноглюкорамнозид, кемпферол-глюкорамноглюкозид, рутин, софорикозид и генистеинглюкорамнозид.

Учитывая потенциальные фармакологические свойства идентифицированных в полученном нами экстракте веществ, **целью** данного исследования явилось изучение противовоспалительного, противоотечного и капилляроукрепляющего действия экстракта плодов софоры японской (ЭПС) для оценки перспективы его использования в качестве фармацевтической субстанции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служил экстракт плодов софоры японской, полученный путем экстракции измельченного сырья спиртом этиловым 70%, последующим концентрированием водно-спиртового извлечения, его очисткой от липофильных соединений, отделением нерастворимых веществ и сушкой. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на кемпферол-глюкозид в экстракте, установленное методом дифференциальной спектрофотометрии, составило $13,34 \pm 0,40\%$.

В экспериментах *in vivo* были использованы белые нелинейные крысы-самцы массой тела 200–220 г в количестве 72 особи и белые нелинейные мыши-самцы массой тела 19–22 г в количестве 130 особей. Производитель животных – Филиал «Андреевка» ФГБНУ «НЦБТ» ФБМА России (Московская область). Лабораторные животные содержались в виварии ФГБНУ ВИЛАР на стандартном рационе. Перед началом эксперимента животные находились на карантине 14 дней. Эксперименты на животных проводили в соответствии

с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123, 1986). Конкретные процедуры с использованием животных до их начала рассматривались и утверждались Комиссией по гуманному обращению с животными ФГБНУ ВИЛАР (протоколы №76 от 09.06.2022, №84 от 26.09.2022, №90 от 02.12.2022).

Острую токсичность ЭПС изучали согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [4]. В эксперименте были использованы белые нелинейные мыши-самцы массой тела 20–22 г. Животные были разделены на 6 групп по 10 особей в каждой. Изучаемый экстракт растворяли в воде очищенной и вводили животным опытных групп однократно внутрижелудочно в дозах 300, 500, 1000, 1500, 2000 мг/кг с помощью специального атравматического зонда в объеме 0,4 мл на одно животное. Животным контрольной группы вводили эквивалентный объем воды очищенной. Токсический эффект ЭПС оценивали по результатам наблюдения за общим состоянием животных с момента введения препарата. Критериями оценки острой токсичности служили картина интоксикации и выживаемость животных. Длительность наблюдения за лабораторными животными составляла 14 суток. В ходе эксперимента отслеживали клинические признаки интоксикации, динамику массы тела, поведение, внешний вид, двигательную активность, реакцию на внешние раздражители. Оценка параметров острой токсичности проводили по методу Кербера.

Противовоспалительное действие ЭПС изучали на модели формалинового отека. В эксперименте были использованы белые нелинейные мыши-самцы массой тела 19–20 г. Животные были разделены на 4 группы

по 10 особей в каждой. Животным опытных групп исследуемое вещество вводили в дозах 100 и 200 мг/кг. Препаратом сравнения являлась очищенная микронизированная флавоноидная фракция (диосмин+флавоноиды в пересчете на гесперидин) (ОМФФ) в дозе 200 мг/кг. Исследуемые вещества суспендировали в 1% крахмальном геле и вводили мышам внутрижелудочно с помощью специального атравматического зонда 1 раз в сутки на протяжении 3 суток. Животные контрольной группы получали 1% крахмальный гель в эквивалентном объеме. Формалиновый отек вызывали однократным субплантарным введением под апоневроз задней правой лапки мыши 0,05 мл 1% формалина в качестве флогогенного агента. Через три часа после введения формалина определение антиэкссудативного эффекта проводили с использованием формулы:

$$\% \text{ угнетения отека} = \frac{P_k - P_0}{P_k} \times 100,$$

где P_k – разность масс лапок с отеком и без отека у животных контрольной группы; P_0 – разность масс лапок с отеком и без отека у животных опытной группы.

Антиэкссудативное действие ЭПС изучали на модели интерстициального отека. В эксперименте были использованы белые нелинейные мыши-самцы с массой тела 19–20 г. Животные были разделены на 3 группы по 10 особей в каждой. Животным опытных групп ЭПС вводили в дозе 200 мг/кг. Препаратом сравнения являлась ОМФФ в дозе 200 мг/кг. Исследуемые вещества суспендировали в 1% крахмальном геле и вводили мышам внутрижелудочно с помощью специального атравматического зонда 1 раз в сутки на протяжении 4 суток. Животные контрольной группы получали 1% крахмальный гель в эквивалентном объеме.

Интерстициальный отек вызывали однократным субплантарным введением под апоневроз задней правой лапки мыши 0,03 мл 0,9%

физиологического раствора через 1 час после последнего введения исследуемых веществ. Через 1 час после введения физиологического раствора определение антиэкссудативного эффекта проводили с использованием формулы предыдущего эксперимента.

Изучение капилляроукрепляющего действия ЭПС выполняли согласно «Методике определения реактивности капилляров кожи к воспалительным раздражителям» на модели локальной воспалительной реакции (ксилолового воспаления) на крысах [4].

В эксперименте использовали нелинейных крыс-самцов с массой тела 200–220 г. Животные были разделены на 4 группы по 8 особей в каждой. Животным опытных групп ЭПС вводили в дозах 100 и 200 мг/кг. Препаратом сравнения являлась ОМФФ в дозе 80 мг/кг. Исследуемые вещества суспендировали в 1% крахмальном геле и вводили крысам внутривенно 1 раз в сутки на протяжении 30 суток. Контрольные животные получали крахмальный гель в эквивалентном объеме.

За сутки до последнего введения исследуемых веществ всем животным депилировали переднюю брюшную стенку. Площадь депилируемой поверхности составляла 3×3 см². За 12 часов до начала проведения эксперимента животных лишали корма. В качестве индикатора проницаемости сосудов использовали раствор трепановой сини. Через 1 час после последнего введения исследуемых веществ животным в хвостовую вену вводили 0,5% раствор трепангового синего в 0,9% растворе NaCl в объеме 1 мл на 100 г массы тела. Через 30 сек. на кожу животных наносили 50 мкл ксилолола. Далее регистрировали время появления первых петехий (в мин.), время их отчетливого окрашивания, а также интенсивность прокрашивания. По разнице во времени появления пятен и их диаметру (визуально) в контрольной и опытных группах судили о действии исследуемых объектов на проницаемость капилляров.

Для оценки значимости различий в трех экспериментальных группах применяли метод однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) с последующим апостериорным анализом (post-hoc analysis). Достоверность различий с контролем считали при $p < 0,05$ [5]. Статистические данные обрабатывали с помощью лицензионной программы Statistica version 13 (TIBCO Software Inc, США). Для всех количественных данных вычисляли среднюю арифметическую величину (M) и стандартную ошибку средней арифметической (m).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования острой токсичности установлено, что у мышей всех групп в течение всего срока наблюдения (14 суток) не было выявлено клинических признаков интоксикации. Клинико-функциональный статус у всех животных не имел отклонений от физиологического состояния, присущего мышам данной возрастной группы. В течение всего срока наблюдения не было отмечено гибели мышей в опытных группах. Животные были активны, охотно поедали корм, адекватно реагировали на внешние раздражители. Таким образом, при изучении острой токсичности ЭПС не установлены показатели ЛД₅₀, так как введенные дозы исследуемого экстракта в желудок мышам не вызывали гибели животных. В соответствии с классификацией токсичности химических веществ ЭПС является малотоксичным веществом [6].

Несмотря на широкое применение софоры японской в традиционной китайской медицине, в литературе практически нет информации о побочных эффектах и оценках безопасности применения препаратов на ее основе. Однако Китайская фармакопея 2015 года рекомендует не превышать дозу в 5–10 г для цветков и бутонов софоры японской и 6–9 г для плодов софоры. Китайское управление по контролю

за продуктами питания и лекарствами предотвращает от использования данного растения беременными женщинами и пациентами с патологиями селезенки. В Китае в инструкциях к таким препаратам добавляют информацию, что пероральное применение плодов софоры может привести к легкой диарее у некоторых пациентов [1].

При изучении противовоспалительного действия ЭПС были получены следующие результаты (рис. 1).

В результате статистического анализа выявлено, что ЭПС в дозах 100 и 200 мг/кг обладал противовоспалительным эффектом, достоверно уменьшая формалиновый отек у животных на 17 и 33% соответственно по сравнению с контрольной группой животных. В группе животных, получавших препарат сравнения ОМФФ, также отмечено достоверное уменьшение формалинового отека на 24%.

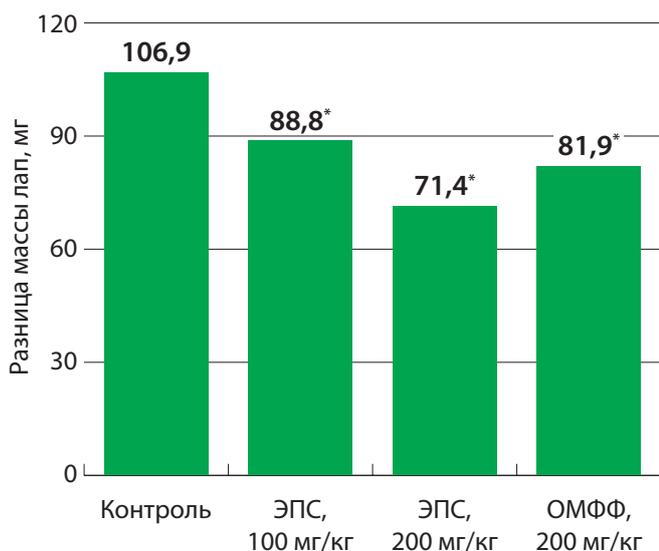
При изучении антиэкссудативного действия ЭПС были получены следующие результаты (рис. 2).

Установлено, что ЭПС в дозе 200 мг/кг обладает выраженным антиэкссудативным действием, достоверно уменьшая интерстици-

альный отек у животных на 28% по сравнению с контрольной группой животных. В группе животных, получавших препарат сравнения, также отмечено достоверное уменьшение интерстициального отека на 31%.

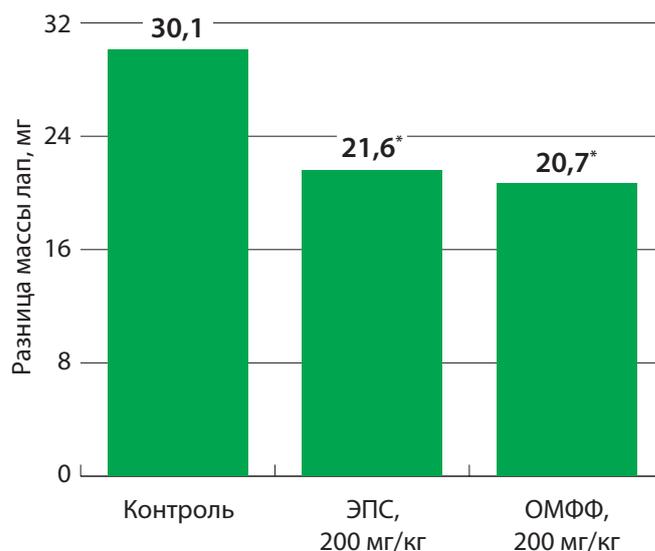
Результаты изучения капилляроукрепляющего действия ЭПС приведены в табл. 1.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что экстракт плодов софоры японской обладает выраженным капилляроукрепляющим действием в условиях экспериментальной модели ксилолового воспаления, снижая проницаемость сосудистой стенки. В группах животных, получавших ЭПС в дозах 100 и 200 мг/кг, отмечено достоверное увеличение времени появления петехий (на 28 и 34% соответственно) и времени отчетливого их прокрашивания (на 25 и 31%), что говорит о выраженном капилляроукрепляющем действии изучаемой фракции. У животных, получавших препарат сравнения в дозе 80 мг/кг, также отмечено достоверно выраженное увеличение времени появления петехий (на 38%) по сравнению с контрольной группой. Кроме того, отмечено увеличение времени отчетливого прокрашивания петехий на 28%.



* Различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

РИС. 1. Результаты влияния ЭПС на течение экссудативной фазы воспаления лап мышей



* Различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

РИС. 2. Результаты влияния ЭПС на течение интерстициального отека лап мышей

Таблица 1

РЕЗУЛЬТАТЫ ВЛИЯНИЯ ОБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ КАПИЛЛЯРОВ

Группы	Доза, мг/кг	Время появления петехий, мин.	% к контролю	Время отчетливого прокрашивания петехий, мин.	% к контролю
Контроль	–	1,02±0,24	–	1,77±0,39	–
ЭПС	100	1,31±0,09*	28	2,21±0,29*	25
ЭПС	200	1,37±0,22*	34	2,32±0,26*	31
ОМФФ	80	1,41±0,18*	38	2,27±0,28*	28

* Различия статистически значимы по сравнению с контролем $p < 0,05$.

Достоверных различий между временем появления петехий у животных, получавших ЭПС в дозах 200 мг/кг, и группы, получавшей препарат сравнения, зарегистрировано не было, что свидетельствует о сопоставимом капилляроукрепляющем эффекте исследуемого экстракта и препарата сравнения ОМФФ.

Установленные в опытах *in vivo* противовоспалительное, капилляроукрепляющее и противоотечное действия ЭПС могут быть обусловлены входящим в состав экстракта комплексом фенольных соединений.

Так, согласно литературным данным, БАВ софоры японской оказывают противовоспалительное действие в опытах *in vitro* и *in vivo*. Многие изофлавоноиды, например генистеин, генистин, софорикозид и оробол, проявляют выраженную противовоспалительную активность за счет ингибирования цитокинов, факторов воспаления и медиаторов, формирующихся в процессе воспалительной реакции [1].

Elberry A. et al. (2020) в своих исследованиях показали, что метанольный экстракт плодов софоры японской обладает противовоспалительными свойствами, снижая синтез цитокинов, TNF-α и IGF-1 [7]. Kim B.H. et al. (2003) выявили, что софорикозид, выделенный из плодов софоры японской, ингибировал циклооксигеназу (COX-2) [8].

Таким образом, экстракт плодов софоры японской является источником БАВ противо-

воспалительного, антиэкссудативного и капилляроукрепляющего действия. Однако необходимы дальнейшие исследования для выявления возможных молекулярных механизмов их действия.

Исследования выполнены в рамках темы НИР «Направленный скрининг, оценка фармакологической активности и безопасности биологических активных веществ и фармацевтических композиций на их основе» (FGUU-2022-0010).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. He X. Local and traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Sophora japonica* L.: A review / X. He, Ya. Bai, Z. Zhao et al. // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2016. – Vol. 187. – P. 160–182. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.014>.
2. Thabit S. *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott Fruits Increase Stress Resistance and Exert Antioxidant Properties in *Caenorhabditis elegans* and Mouse Models / S. Thabit, H. Handoussa, M. Roxo et al. // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24(14). – P. 2633. DOI: 10.3390/molecules24142633.
3. Madden E. *United States Pharmacopeia comprehensive safety review of Styphnolobium japonicum flower and flower bud* / E. Madden,

- C. McLachlan, H. Oketch-Rabah et al. // Research Phytotherapy. – 2022. – Vol. 36(5). – P. 2061–2071. DOI: 10.1002/ptr.7438.*
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
 5. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н.В. Трухачева. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2013. – 384 с.
 6. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения / И.В. Березовская // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – №37(3). – С. 32–34.
 7. Elberry A. The protective effect of *Sophora japonica* on prostatic hypertrophy and inflammation in rat / A. Elberry, Sh. Mufti, Jau. Al-Maghrabi et al. // *Inflammopharmacology*. – 2020. DOI: 10.1007/s10787-020-00723-5.
 8. Kim B.H. Anti-inflammatory action of legume isoflavonoid sophoricoside through inhibition on cyclooxygenase-2 activity / B.H. Kim, E.Yo. Chung, Bo-K. Min et al. // *Planta Medica*. – 2003. – Vol. 69(5). – P. 474–6. DOI: 10.1055/s-2003-39712.

STUDY OF THE PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF EXTRACT OF STIPHNOLOBIUM JAPONICUM FRUITS

I.A. Lupanova, D.V. Shishkanov, E.N. Kurmanova, E.V. Ferubko, E.V. Uyutova, O.L. Sajbel, V.V. Karabaeva, T.E. Trumpe

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (FGBNU VILAR), Moscow, Russia

*The pharmacological activity of the extract of *Stiphnolobium japonicum* fruits was studied in the Department of Experimental Pharmacology FGBNU VILAR. The results of in vivo experiments indicated that this extract is low-toxic according to the parameters of acute toxicity and also has a capillary strengthening, anti-inflammatory and anti-oedemateous effects.*

Keywords: extract of *Stiphnolobium japonicum* fruits, acute toxicity, formalin edema, interstitial edema, xylene inflammation model, antiinflammatory activity, capillary strengthening effect