

ИЗУЧЕНИЕ АДАПТОГЕННОЙ И АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СУБСТАНЦИИ 20-Е, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ СЕРПУХИ ПЯТИЛИСТНОЙ (*SERRATULA QUINQUEFOLIA* BIEB. EX 98 WILLD.), КУЛЬТИВИРУЕМОЙ НА СЕВЕРНОМ КАВКАЗЕ

¹Могиленко Т.Г., ¹Денисенко О.Н., ¹Воронков А.В., ¹Кулешова С.А., ²Одинокоев В.Н.,
²Галаяутдинов И.В.

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт - филиал ГБОУ ВПО «ВолгГМУ» Минздрава России, Пятигорск, Россия (357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, проспект Калинина, 11), e-mail: mogylenko_tanya@rambler.ru;

²Институт нефтехимии и катализа Российской академии наук, г. Уфа, e-mail: odinokov@anrb.ru

Проведены исследования адаптогенной и антигипоксической активности субстанции 20-гидроксиэкдизона (20-Е), выделенной из свежего сырья серпухи пятилистной, культивируемой в условиях Ботанического сада г. Пятигорска. Род *Serratula* L. сем. Asteraceae насчитывает 70 видов. На Кавказе к широко распространенным видам относится серпуха пятилистная. Субстанция 20-Е представляет собой аморфный порошок кремового цвета, без запаха. Полученные результаты в ходе скрининговых исследований фармакологической активности субстанции 20-Е свидетельствуют о ее выраженном действии на некоторые функции ЦНС, сопоставимом с эффектом известного адаптогенного средства – левзеи экстракта жидкого. Установлена антигипоксическая и адаптогенная активность субстанции 20-Е. Адаптогенный эффект субстанции 20-Е в 2,4 раза превышает данный эффект препарата сравнения.

Ключевые слова: серпуха пятилистная, субстанции 20-гидроксиэкдизона (20-Е), адаптогенная и антигипоксическая активность

THE STUDY ANTIHYPOXIC AND ADAPTOGENIC ACTIVITY OF THE SUBSTANCE 20-E, EXTRACTED FROM *SERRATULA QUINQUEFOLIA* BIEB. 98 EX WILLD., CULTIVATED IN THE NORTH CAUCASUS

¹Mogilenko T.G., ¹Denisenko O.N., ¹Voronkov A.V., ¹Kuleshova S.A., ²Odinokov V.N.,
²Galyautdinov I.V.

¹Pyatigorsk Branch of the State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Volgograd State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation (357532, Stavropol territory, Pyatigorsk, Prospekt Kalinina, 11), e-mail: mogylenko_tanya@rambler.ru;

²Institute of petrochemistry and catalysis, Russian Academy of Sciences, Ufa, e-mail: odinokov@anrb.ru

Conducted research antihypoxic and adaptogenic activity of substances 20-hydroxyecdysone (20-E) isolated from fresh raw materials *Serratulaquinquefolia* cultivated in the Botanical garden of Pyatigorsk. The genus *Serratula* L. FAM. Asteraceae includes about 70 species and has a wide range. In the Caucasus common species is *Serratulaquinquefolia*. Substance 20-E is an amorphous cream-coloured powder, without smell. The results obtained in the screening of pharmacological activity of the substance 20-E, are evidence of its pronounced effect on some functions of the Central nervous system, FOSS-set with known adaptogenic effect means is levzei extract liquid. Set antihypoxic activity of the substance 20-E, confirming its adaptogenic action. Adaptogenic substance effect of 20-E in 2,4 times exceeds the effect of the drug comparison.

Keywords: *Serratula quinquefolia*, substances 20-hydroxyecdysone, antihypoxic and adaptogenic activity.

Экдистероиды по химическому строению относятся к классу полигидроксилированных стероидов. По своей структуре они близки к гормонам линьки членистоногих и обладают широким спектром биологической активности. Экдистероиды впервые были выделены в 1954 году А. Бутенандтом и П. Карлсоном в кристаллическом виде из коконов тутового шелкопряда [1,3]. Фитоэкдистероиды обнаружены в 176 видах

иявляются распространенными вторичными метаболитами растений. Они выполняют защитную функцию, проявляя антифидантную активность по отношению к неадаптированным видам насекомых-фитофагов. Причем в организме млекопитающих экдистероиды не синтезируются [3,4].

Экспериментально доказано, что экдистероиды регулируют деятельность нервной, эндокринной и иммунной систем, обладают анаболической активностью, используются в предоперационном и послеоперационном периодах. Подтверждена их эффективность в терапии язвенной болезни желудка, гепатита и цирроза, прогрессирующей дистрофии мышц, лучевой болезни, при вялом заживлении ран и ожогов и целом ряде других патологических состояний. В настоящее время в спортивной и военной медицине широко применяются препараты на основе экдистероидов, как растительного, так и синтетического происхождения, для повышения адаптации при экстремальных психических и физических нагрузках, в чрезвычайных ситуациях, а также для повышения работоспособности. Основным преимуществом применения растительных адаптогенов перед другими является отсутствие токсических и побочных эффектов.

Главными растительными источниками растительных адаптогенов в промышленных масштабах являются многолетние виды рапонтникум сафлоровидный (левзея сафлоровидная или «маралий корень») – *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin. и представители рода серпуха (*Serratula*). Растительные адаптогены относятся к числу биологически активных веществ (БАВ), которые проявляют относительно небольшое анаболическое действие и при этом в значительной степени способны восстанавливать и повышать работоспособность при умственном и физическом переутомлении, в отличие от синтетических препаратов.

Род *Serratula* L. сем. *Asteraceae* насчитывает около 70 видов и имеет широкий ареал [2]. Растения этого рода издавна применяются в народной медицине как противовоспалительное, ранозаживляющее, антисептическое и гомеостатическое средство [3,4].

Цель исследования. Поиск новых растительных источников адаптогенов.

Материалы и методы. Изучение адаптогенной и антиоксидантной активности субстанции 20-Е, выделенной из свежего сырья серпухи пятилистной

Результаты и обсуждение. На Кавказе распространена серпуха пятилистная-*S. quinquefolia* Bied. Ex Willd [2]. Следует отметить, что это растение имеет большую сырьевую массу надземной части, хорошо культивируется, но глубоких химических исследований этого вида до настоящего времени не проводилось. В связи с этим серпуха пятилистная представляет несомненный интерес для исследований, как альтернативный растительный источник получения экдистероидов.

Из свежего культивированного сырья нами была получена субстанция 20-Е [5].

Субстанция 20-Е представляет собой аморфный, кристаллический порошок кремоватого цвета, хорошо растворимый в воде.

Полученную субстанцию 20-Е в соответствии с общепринятой комбинированной табуляцией классов токсичности по Hodgen и Sterne можно отнести к относительно безвредным веществам 5 класса токсичности, т.е. практически нетоксичным. Острую токсичность определяли на беспородных мышах обоего пола массой 20,0-24,0г., вводя субстанцию 20-Е в нарастающих дозах перорально от 3000,0 мг/кг до 6000,0 мг/кг [6].

Согласно требованиям ГОСТ 12.1.007 – 76, субстанция 20-Е является малоопасной для человека и относится к веществам 4 класса токсичности

Изучение адаптогенной активности проводили на белых обоеполах беспородных мышах весом $34,0 \pm 2,0$ г. Фармакологические исследования проводились согласно требований и методических рекомендаций Фармкомитета Минздрава России по работе с животными и в соответствии с правилами доклинической оценки безопасности фармакологических средств [7,8,9]. Все животные находились в одинаковых условиях вивария (древесная подстилка, температура в помещении $22-24^{\circ}\text{C}$) и стандартном рационе (брикетированный корм). Контрольные животные содержались в таких же условиях, получая вместо препарата физиологический раствор (плацебо) [7,8].

Определение адаптогенной активности субстанции 20-Е проводили в тестировании животных на модели актографии – определение физической выносливости [9]. В качестве актографа использовали гладкий деревянный стержень диаметром 2см, вращающийся со скоростью 10 об/мин.

Определение антигипоксической активности проводили на мышах весом $30,0 \pm 2,0$ г. Животных помещали в герметически закрывающиеся емкости объемом 225,0 мл, тем самым вызывая гиперкапническую гипоксию. Время от момента помещения мышей в закрытую емкость до появления у них судорог являлось критерием оценки антигипоксической активности. Исследуемые вещества вводили за 30 мин до эксперимента.

Субстанцию 20-Е вводили в дозе 20,0 мг/кг в виде водного раствора в объеме 0,5 мл. В качестве препарата – аналога для сравнительной оценки эффекта использовали левзеи экстракт жидкий в дозе 0,66 мл/кг. Животным контрольной группы вводили физиологический раствор в том же объеме. В каждой группе было по 8 мышей, критерием оценки действия субстанции 20-Е служило время удержания мышей на стержне [8]. Физическую выносливость определяли до и через 30 мин после введения исследуемой субстанции 20-Е. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Изучение адаптогенной активности субстанции 20-Е

Исследуемый объект, мг/кг	Время нахождения на стержне до введения, сек	Время нахождения на стержне через 30 мин после введения, сек	Δ %
Контроль (физ. раствор)	40,53± 3,35	61,44 ±2,84	+51,59 ±1,72
Левзеи экстракт жидкий	34,90± 2,17	113,56 ±10,78	+219,39 ±12,07*
Субстанция 20-Е	37,72± 2,52	242,36 ±37,52	+531,52± 32,67*

Примечание: * - изменения статистически достоверны (t) относительно контроля, $p < 0,05$;

- изменения статистически достоверны (t) относительно препарата – аналога (левзеи экстракт жидкий), $p < 0,05$.

Как видно из таблицы, субстанция 20-Е достоверно увеличивает выносливость мышей в 6,4 раза, по отношению к исходным показателям, а экстракт левзеи жидкий - в 3,2 раза. Время пребывания на стержне в контрольной группе увеличилось в 1,5 раза.

Наблюдалось увеличение физической выносливости в 2,4 раза субстанция 20-Е в сравнении с препаратом – аналогом.

Суммарные данные опыта по антигипоксической активности представлены в таблице 2.

Таблица 2

Влияние субстанции 20-Е на устойчивость мышей к гиперкапнической гипоксии

Исследуемый объект	Время до появления судорог, мин	%, по отношению к контролю	%, по отношению к препарату сравнения
Контроль (физ. раствор)	14,2 ±0,85		
Препарат сравнения – Левзеи экстракт жидкий	19,70±1,15*	38,73±2,84	
Субстанция 20Е	18,25±0,92*	28,52±1,97	- 7,37±1,04

Примечание: * - изменения статистически достоверны (t) по отношению к контролю, $p < 0,05$.

В ходе проведенного исследования было установлено, что в контрольных опытах среднее значение устойчивости мышей к гипоксии составило 14,2 мин. В равноценных условиях экстракт левзеи жидкий увеличивал время появления судорог на 38,7% в сравнении с контролем. Анализируемая субстанция 20-Е увеличивала время появления судорог на 28,5% по отношению к контролю.

По сравнению с действием препарата - сравнения антигипоксический эффект субстанции 20-Е ниже на 7,37%.

Полученные результаты антигипоксического и актопротекторного действия

субстанции 20-Е в ходе экспериментального изучения на мышах показали влияние экидистероидов на некоторые показатели деятельности ЦНС.

В условиях метода «открытое поле» путем определения ориентировочной реакции и исследовательской деятельности получена оценка нейротропной активности [8,9,10]. «Открытое поле» - это круглая арена диаметром до 80 см, разделенная на равные секторы. Тестирование проводили с 12 до 14 часов в свето- и звукоизолированном помещении. В ходе опыта спустя 30 минут после введения исследуемых объектов животное помещали в центр арены и контролировали его поведение в течение 3-х минут. Каждое животное подвергалось тесту только один раз. Животные лишались воды и пищи на время эксперимента.

Результаты исследования приведены в таблице 3.

Таблица 3

Изучение влияния субстанции 20Е на двигательную и эмоциональную активность крыс в тесте «открытое поле»

Исследуемый объект	Двигательная и поисково-исследовательская активность			Эмоциональная активность	
	Время в центре, сек	Число пересеченных секторов	Число «стоек»	Время груминга, сек	Число болюсов
Контроль	1,1 ± 0,10	22,4 ± 1,21	15,2 ± 1,81	4,6 ± 1,10	2,6 ± 1,04
Левзеи экстракт жидкий	0,7 ± 0,01	31,3 ± 0,95*	10,4 ± 0,90*	9,6 ± 1,78*	0,43 ± 0,15
Субстанция 20Е	0,5 ± 0,01#*	34,6 ± 1,18*	9,25 ± 0,85*	13,1 ± 2,14*	0,25 ± 0,10

Примечание: * - изменения статистически достоверны (t) относительно контроля, p<0,05;

-изменения статистически достоверны (t) относительно препарата - аналога, p<0,05.

Число пересеченных квадратов животными, получавшими левзеи экстракт и субстанцию 20-Е, достоверно увеличивалось относительно контроля в среднем на 45%, что свидетельствует об увеличении двигательной активности.

Снижалось время адаптации при применении препарата сравнения и субстанции 20-Е. Вертикальный компонент двигательной активности животных (стойки) при введении субстанции 20-Е и препарата сравнения достоверно снижался относительно контрольных показателей на 40,0 и 31,5% соответственно, что свидетельствует об уменьшении поисково-исследовательской активности.

Время умывания животных достоверно увеличивали как левзеи экстракт жидкий, так и субстанция 20-Е, в сравнении с контролем соответственно в 2,0 и 2,8 раза. Наблюдалось снижение количества болюсов (дефекационных шариков) на фоне субстанции 20-Е в 10 раз относительно контроля, что свидетельствует о психоседативном действии.

Итог исследования актопротекторной активности, подтверждает, что субстанция 20-Е увеличивает двигательную активность животных.

Снижение вертикального компонента двигательной активности свидетельствует об уменьшении поисково-исследовательской активности. Изменения показателей эмоциональной деятельности мозга свидетельствуют об эмоциональной стабильности субстанции 20-Е и препарата сравнения – левзеи экстракта жидкого.

Выводы. Следовательно, в ходе проведенных фармакологических исследований было, установлено, что субстанция 20-Е оказывает антигипоксическую активность, подтверждающая ее адаптогенное действие, сопоставимое по силе с действием препарата сравнения - жидким экстрактом левзеи.

В сравнении с жидким экстрактом левзеи адаптогенный эффект субстанции 20-Е в 2,4 раза выше. Субстанция 20-Е на 54% увеличивает двигательную активность.

Изменение эмоционального поведения крыс свидетельствует о психоседативной активности субстанции 20-Е.

Проведенные скрининговые исследования фармакологической активности свидетельствуют о выраженном действии субстанции 20-Е на некоторые функции ЦНС, сопоставимом с эффектом известного адаптогенного средства – левзеи экстракта жидкого.

Список литературы

1. Ахрем А.А. Экдистероиды: Химия и биологическая активность / А.А. Ахрем, Ковганко Н.В. - Минск: Изд-во Наука и техника, 1989. - 327 с.
2. Галушко А.И. Флора Северного Кавказа: определитель: в 3-х т. /Ростов на Дону: Изд-во Ростовского университета, 1980.- Т.3.- 328с.
3. Лафон Р. Современное состояние проблемы использования экдистероидов для млекопитающих и человека / Р. Лафон, Л. Дайан // Вестн. Ин-та Биологии. - 2005. - № 3. - 8с.
4. Лафон Р. Фитоэкдистероиды и мировая флора: разнообразие, распределение и эволюция // Физиология растений. – 1998. – Т.45, № 3. – С. 326- 346.
5. Могиленко Т.Г. Технология получения экдистероидсодержащей субстанции из надземной части серпухи пятилистной, интродуцированной на Северном Кавказе / Т.Г. Могиленко, О.Н. Денисенко и др.// Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – 2014. Вып. 69. – С. 65-66.
6. Могиленко Т.Г. Изучение фармакологической активности субстанции 20-гидроксиэкдизона выделенной из надземной части Серпухи пятилистной, интродуцированной на Северном Кавказе / Т.Г. Могиленко, О.Н. Денисенко и др.//

Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. - Волгоград, 2015. Вып. 70. – С.65-67.

7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств // Под ред. Миронова А.Н. - М.: Изд-во Гриф и К, 2012. – 944с.

8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ // Под.ред. Р.Ц. Хабриева. - 2-е изд., перераб и доп. – М.: Медицина, 2005.- 835с.

9. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М., 2000. – 352с.

Рецензенты:

Мелик-Гусейнов В.В., д.фарм.н., профессор факультета последипломного образования кафедры фармации Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Пятигорск;

Юсупов Р.Д., д.м.н., профессор кафедры стоматологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Пятигорск.