

ОЦЕНКА МЕМБРАНСТАБИЛИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ ТРАВЫ ГОРЦА ПОЧЕЧУЙНОГО

А. С. Чистякова¹, А. И. Сливкин¹, А. А. Сорокина², А. А. Мальцева¹,
А. С. Ткачева¹, А. О. Игнатова¹

¹ Воронежский государственный университет

² Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Поступила в редакцию 16.05.2014 г.

Аннотация. Получены жидкие лекарственные формы из травы горца почечуйного. Проведена первичная оценка фармакологического эффекта настоя и жидкого экстракта (1:1) травы горца. Показана мембран стабилизирующая активность полученных лекарственных форм.

Ключевые слова: Трава горца почечуйного, настой, жидкий экстракт, мембранстабилизирующее действие, культура клеток инфузорий *Paramecium caudatum*.

Abstract. Prepared liquid dosage forms of the herb *Polygonum persicaria*. Conducted an initial evaluation of the pharmacological effect of infusion and liquid extract (1:1) herb *Polygonum*. Shows the membranestabilizing activity of these dosage forms.

Keywords: Herb *Polygonum persicaria*, infusion, liquid extract, membranestabilizing effect, cell culture ciliates *Paramecium caudatum*.

В последнее время большое внимание уделяется первичной оценке фармакологического эффекта различных препаратов с использованием теста *in vivo*, в частности с применением культуры инфузорий. Инфузории вида *Paramecium caudatum* рекомендованы рядом исследователей для ориентировочной оценки антиоксидантного, мембраностабилизирующего, адаптогенного действия различных препаратов. Парамеции являются чувствительными биообъектами, что связано с наличием ресничек, расположенных по всей поверхности их тела и выполняющих роль хеморецепторов, реагирующих на растворенные химические вещества. По способности повышать толерантность парамеций к клеточным ядам под воздействием исследуемых веществ можно опосредованно судить об их адаптогенной активности. Парамеции находятся в постоянном движении, поэтому легко наблюдать малейшие изменения в движении под воздействием повреждающего фактора. Кроме того, разрушение структурных связей

мембраны химическими веществами приводит к лизису клеток, что также можно фиксировать визуально или с помощью микроскопа [1].

Целью настоящего исследования являлось изучения мембранстабилизирующего действия жидких лекарственных форм из травы горца почечуйного.

Объектами исследования выступали настой (1:10) и жидкий экстракт (1:1) из травы горца. Для получения данных лекарственных форм была использована трава горца почечуйного, заготовленная в окрестностях Воронежской области и отвечающая общим требованиям нормативной документации, предъявляемым к растительному сырью.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Настой из травы горца (1:10) готовили по общепринятой методике, учитывая коэффициент водопоглощения = 7 [2].

Жидкий экстракт (1:1) травы горца почечуйного готовили с использованием наиболее распространенных методов их получения, методом перколяции. В качестве экстрагента выступал спирт этиловый в концентрации 70% [3, 4].

В связи с тем, что спирт этиловый в концентрации 70% влияет на жизнедеятельность культуры инфузорий, вызывая их гибель, перед проведением эксперимента его отгоняли под вакуумом и полученный сухой остаток растворяли в дистиллированной воде при слабом нагревании на водяной бане.

Оценку мембран стабилизирующего действия исследуемых лекарственных форм проводили по методике В.С. Бузламы [5]. Данный метод позволяет определить характер действия изучаемых объектов на клетки при воздействии на них внешнего неблагоприятного фактора. Из нескольких существующих методик был выбран «Метод разрешающего воздействия» с использованием культуры инфузорий *Paramecium caudatum* [6].

В работе нами была использована культура инфузорий, содержащая в экспоненциальной фазе не менее 2500 особей в 1 мл среды, а в стационарной фазе не менее 7000 особей [6].

В процессе работы было использовано последовательные разведения изучаемых объектов. Перед началом эксперимента в течение суток проводили термостатирование культуры инфузорий в присутствии исследуемых лекарственных форм [6]. Контрольным опытом выступала культура инфузорий без добавления объектов исследования, также термостатированная в течении суток.

В качестве повреждающего фактора использовали 10%-ный раствор хлорида натрия, который вызывает.

На первом этапе эксперимента устанавливали объем раствора хлористого натрия, который приведет к 100% гибели клеток в течение 5 минут. Для этого использовали культуру клеток из контрольной пробирки. При этом, после добавления в пробирку с культурой инфузорий раствора натрия хлорида, мы наблюдали ускорение в движении организмов, с последующим съезживанием клеток и прекращением движения в течение 3,5 минут. Контроль гибели клеток вели под микроскопом с помощью секундомера [6].

Следующий этап исследования был посвящен оценке мембран стабилизирующего действия изучаемых объектов. Для этого отбирали по 1,0 мл жидкости из опытных пробирок, добавляя туда оттестированное количество хлористого натрия, измеряли продолжительность жизни клеток до 100%-ной гибели. Испытание проводили не менее 3-х раз, для дальнейшей работы использовали среднюю арифметическую величину [5, 7].

Оценку мембранстабилизирующего действия исследуемых объектов проводили в сравнении с

данными, полученными в аналогичных условиях, по действию настоя травы синюхи голубой, а также настойки аралии, экстракта элеутерококка [7].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате проведения эксперимента, объем раствора натрия хлорида в количестве 0,15 мл был нами выбран в качестве оптимального, при добавлении которого наблюдается гибель клеток в течение 3,5 минут (рис.1).

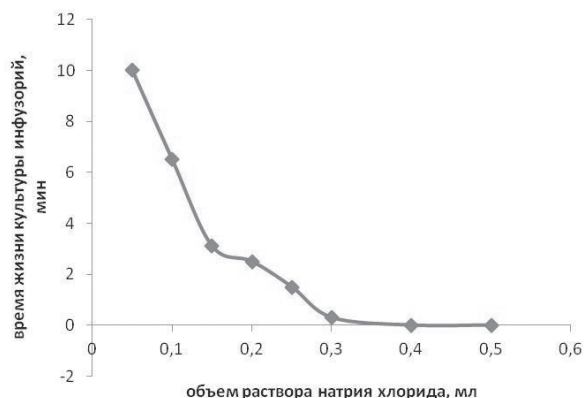


Рис. 1. Зависимость времени жизни культуры инфузорий от добавленного объема повреждающего фактора

В ходе эксперимента установлено, что настой травы горца почечуйного проявляет высокую активность в концентрации $1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-3}$, жизнеспособность клеток сохранялась в концентрациях $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-9} - 1 \cdot 10^{-15}$, $1 \cdot 10^{-20} - 1 \cdot 10^{-21}$, $1 \cdot 10^{-23}$, в остальных концентрациях наблюдалась снижение активности. Жидкий экстракт проявлял активность в концентрациях $1 \cdot 10^{-3}$ и $1 \cdot 10^{-4}$, жизнеспособность сохранялась в $1 \cdot 10^{-5}$, $1 \cdot 10^{-9}$ и $1 \cdot 10^{-19}$, в остальных активность снижалась, а в концентрации $1 \cdot 10^{-2}$ наблюдалась гибель клеток. Данный факт объясняется высокой концентрацией комплекса биологически активных веществ в жидком экстракте, близкой к нативной в растении, что и привело к гибели клеток.

Проводя сравнение активности изучаемых объектов с литературными данными, можно отметить, что активность, проявляемая травой горца, как в водной, так и спиртовой лекарственной форме своей активности не уступает ведущим адаптогенам.

Таким образом, у препаратов травы горца почечуйного была установлена высокая мембранстабилизирующая активность в низких разведениях, что открывает новые аспекты применения данного растения.

Таблица 1

Индекс биологической активности препаратов травы горца почечуйного на модели повреждения культуры инфузорий

Настой травы синохи**	Настой травы горца почечуйного	Жидкий экстракт травы горца почечуйного	Настойка аралии**	Жидкий экстракт элеутерококка**	$I_{БА}$	Индекс биологической активности в растворах с концентрациями С, %
-	1.87	-	1.27	1.63	$1 \cdot 10^{-2}$	
1.3	1.52	1.55	1.02	1.82	$1 \cdot 10^{-3}$	
0.78	0.97	1.45	0.95	1.82	$1 \cdot 10^{-4}$	
0.79	0.99	1,01	0.84	1.48	$1 \cdot 10^{-5}$	
0.73	1.07	0.72	0.83	1.18	$1 \cdot 10^{-6}$	
0.73	1.06	0.66	0.83	-	$1 \cdot 10^{-7}$	
0.73	1.13	0.99	0.93	-	$1 \cdot 10^{-8}$	
1.16	1.02	1.00	1.05	-	$1 \cdot 10^{-9}$	
0.72	1.07	0.95	1.02	-	$1 \cdot 10^{-10}$	
0.83	1.03	0.66	1.05	-	$1 \cdot 10^{-11}$	
0.82	1.03	0.68	0.85	-	$1 \cdot 10^{-12}$	
-	1.0	0.60	-	-	$1 \cdot 10^{-13}$	
-	1.09	0.71	-	-	$1 \cdot 10^{-14}$	
-	1.01	0.63	-	-	$1 \cdot 10^{-15}$	
-	1.11	0.65	-	-	$1 \cdot 10^{-16}$	
-	0.96	0.71	-	-	$1 \cdot 10^{-17}$	
-	0.99	0.66	-	-	$1 \cdot 10^{-18}$	
-	0.98	1.06	-	-	$1 \cdot 10^{-19}$	
-	1.05	0.59	-	-	$1 \cdot 10^{-20}$	
-	1.11	0.95	-	-	$1 \cdot 10^{-21}$	
-	0.97	0.98	-	-	$1 \cdot 10^{-22}$	
-	1.02	0.68	-	-	$1 \cdot 10^{-23}$	
-	1.10	0.67	-	-	$1 \cdot 10^{-24}$	
-	1.14	0.62	-	-	$1 \cdot 10^{-25}$	

** - литературные данные [7].



Рис. 2. Зависимость индекса биологической активности исследуемых объектов от их концентрации в растворе

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Степанова Э.Ф. Использование экспресс-методов оценки биологической активности на культуре клеток при разработке фитопрепаратов адаптогенного действия / Э.Ф.Степанова, [и др.] // Фармация на современном этапе — проблемы и достижения. Научные труды НИИФ, том XXXIX, часть 1, М.: — 2000, — С. 299-302.
2. Чистякова А.С. Определение коэффициента водопоглощения горца почечуйного травы/ А.С. Чистякова, [и др.]// Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. — Пятигорск: Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, 2014. — Вып. 69. — С. 100-102.

3. Мальцева А.А. Количественное определение флавоноидов в траве горца почечуйного / А.А. Мальцева [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. — 2013. — № 2. — С. 199-202.

4. Природные флавоноиды / Д.Ю. Корулькин [и др.]. — Новосибирск : Академическое изд-во Тео, 2007. — 232 с.

5. Экспресс – биотест: Биологический мониторинг экологических систем / Методические

указания. — Воронеж: Изд-во Всероссийск. Научн.-исслед.вет.ин-та патологии, фармакологии и терапии. — 1977. — 11 с.

6. Бузлама В.С. Способ отбора веществ – адаптогенов: Авт. свид. СССР. — 9901189 от 21.09.82. — 1982.

7. Мальцева А.А. Исследование комплекса биологически активных веществ растения *Polemonium coeruleum* L.: дис... канд. фарм. наук / А.А. Мальцева. — Москва, 2011. — 184 с.

Мальцева Алевтина Алексеевна — доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии, к.фарм.н.; тел.: (473) 2530428; e-mail: alinevoroneg@mail.ru

Чистякова Анна Сергеевна — ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, e-mail: anna081189@yandex.ru

Сорокина Алла Анатольевна — д.ф.н., профессор, кафедры фармакогнозии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова; e-mail: sorokinaalla@mail.ru

Сливкин Алексей Иванович — доктор фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, декан фармацевтического факультета ВГУ; e-mail: slivkin@pharmvsu.ru

Ткачева Анна Сергеевна — студентка фармацевтического факультета ВГУ, e-mail: annawater@yandex.ru

Игнатова Алена Олеговна — студентка фармацевтического факультета ВГУ, e-mail: annawater@yandex.ru

Maltseva Alevtina A. — the associate professor of chair of Management and Economics of Pharmacy and Pharmacognosy, PhD; tel.: (473) 2530428; e-mail: alinevoroneg@mail.ru

Chistyakova Anna S. — Assistant of chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology of pharmaceutical faculty VSU, e-mail: anna081189@yandex.ru

Sorokina Alla A. — PhD, the professor of chair of Pharmacognosy I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; e-mail: sorokinaalla@mail.ru

Slivkin Alexey I. — doctor of pharmaceutical sciences, professor, manager chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, dean of pharmaceutical faculty of VSU; e-mail: slivkin@pharmvsu.ru

Tkacheva Anna S. — student of pharmaceutical faculty of Voronezh State University, e-mail: annawater@yandex.ru

Ignatova Alena O. — student of pharmaceutical faculty of Voronezh State University, e-mail: annawater@yandex.ru