

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕМБРАНСТАБИЛИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ ПЛОДОВ РЯБИНЫ ЧЕРНОПЛОДНОЙ

Е. Е. Логвинова, Т. А. Брежнева, А. И. Сливкин, И. С. Трубенева, В. Н. Тарабрина

Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 24.04.2015 г.

Аннотация. Проведен сравнительный анализ мембранстабилизирующего действия жидких лекарственных форм плодов рябины черноплодной.

Ключевые слова: Плоды рябины черноплодной, лекарственная форма, инфузии, мембранстабилизирующий эффект.

Abstract. A comparative analysis of membranstabiliziruyuscheho action of liquid dosage forms black chokeberry fruits.

Keywords: Black chokeberry fruit, dosage form, infusion, membranstabiliziruyuschy effect.

В последнее время повышенное внимание уделяется разработке и изучению фитопрепаратов, полученных из различного лекарственного растительного сырья. Причина - целый ряд преимуществ растительных препаратов по сравнению с их синтетическими аналогами.

В связи с этим особое значение приобретает первичная оценка фармакологического эффекта вновь создаваемых препаратов.

Для первичной оценки и скрининга новых лекарственных форм из лекарственного растительного сырья в последнее время часто применяют испытание «in vivo» с применением культуры инфузорий *Paramecium caudatum*.

Именно этот простейший одноклеточный организм рекомендован рядом исследователей в качестве биообъекта для оценки антиоксидантной, мембранстабилизирующей и адаптогенной активности различных препаратов.

Плоды аронии содержат в своем составе богатейший комплекс БАВ [1], в связи с чем создание

лекарственных форм на их основе может рассматриваться как перспективное.

Цель настоящего исследования - сравнительный анализ мембранстабилизирующего действия новых жидких лекарственных форм плодов *Aronia melanocarpa*.

Объектами исследования выступали настой (1:10) и жидкий экстракт (1:1), полученные из высушенных цельных и измельченных плодов аронии черноплодной, заготовленных на территории Воронежской области в период сентябрь-октябрь 2014 года. Лекарственное растительное сырье было стандартизовано в соответствии с требованиями ГФ XI [2].

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Настой из плодов аронии (1:10) готовили по общепринятой методике с учетом коэффициента водопоглощения, который был установлен в ранее проведенных экспериментах [2]. Для цельных плодов аронии $K_v = 1.5$, для измельченных плодов - $K_v = 2.0$.

Жидкий экстракт (1:1) плодов рябины черноплодной готовили методом перколяции. В каче-

© Логвинова Е. Е., Брежнева Т. А., Сливкин А. И., Трубенева И. С., Тарабрина В. Н., 2015

стве экстрагента выступал спирт этиловый в концентрации 40% [3].

Так как спирт этиловый в концентрации 40% влияет на жизнедеятельность культуры инфузорий, вызывая их гибель, перед началом эксперимента его отгоняли под вакуумом, а полученный сухой остаток растворяли в воде очищенной при слабом нагревании на водяной бане.

Оценку мембранстабилизирующего действия полученных лекарственных форм проводили по методике В.С. Бузламы [4]. Данный метод позволял определить характер действия изучаемых объектов на клетки при воздействии на них внешних неблагоприятных факторов. Из нескольких имеющихся методик был выбран «Метод разрушающего воздействия» с использованием культуры инфузорий «*Paramecium caudatum*».

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 [4].

В ходе исследования была приготовлена серия последовательных разведений изучаемых лекарственных форм. Перед началом эксперимента проводили термостатирование культуры инфузорий совместно с изучаемым объектом в течение суток. В качестве контрольного опыта выступала культура инфузорий без добавления объекта исследования, термостатированная в течение суток.

В качестве повреждающего фактора выступал 10% раствор хлорида натрия, который вызывает повреждение мембраны культуры инфузорий и дальнейшую гибель одноклеточного организма.

На первом этапе устанавливали объем 10% раствора натрия хлорида, приводящий к гибели 100% клеток культуры инфузорий в течение 5 минут. Для этого из контрольной пробирки отбирали по 1 мл культуры инфузорий и добавляли 10% раствор натрия хлорида (от 0.1 до 0.5мл). При добавлении в пробирку с культурой раствора хлорида натрия вначале наблюдали ускорение движения инфузорий, затем их съезживание и в дальнейшем прекращение движения в течение 2.5 минут. Контроль времени гибели клеток осуществляли под микроскопом с помощью секундомера.

В ходе проведенного эксперимента был установлен относительный объем хлористого натрия, приводящий к гибели 100% клеток в течение 2.5 минут – 0.25мл.

На следующем этапе исследования провели оценку мембранстабилизирующего действия исследуемых жидких лекарственных форм. Для

этого перед началом исследования в 18 пробирок помещали по 9 мл культуры инфузорий в стационарной фазе роста. В первую пробирку добавляли 1мл воды очищенной, перемешивали. Во вторую - 1мл исследуемого препарата, перемешивали. Далее готовили последовательные разведения препарата, перенося по 1 мл жидкости из второй пробирки в третью, из третьей в четвертую и т.д. Штатив с пробирками термостатировали сутки при 25°C.

По окончании термостатирования отбирали по 1мл жидкости из опытных пробирок, добавляли туда отгестированное количество 10% раствора хлористого натрия, выполняющего роль неблагоприятного фактора, и измеряли продолжительность жизни клеток культуры инфузорий, общее количество которых принимали за 100%. Испытание проводили не менее 3 раз. Для дальнейших расчётов использовали среднюю величину.

Оценку мембранстабилизирующего действия исследуемых объектов проводили в сравнении с данными, полученными в аналогичных условиях, для известных адаптогенов - настойки аралии и экстракта элеутерококка [5].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основании полученных данных был рассчитан индекс биологической активности исследуемых препаратов $I_{\text{БА}}$ (если его значение больше 1, то препарат обладает мембранстабилизирующим действием, тем большим, чем выше значение индекса). Полученные значения $I_{\text{БА}}$ позволили сделать вывод о том, что настой измельченных плодов аронии проявляет высокую мембранстабилизирующую активность в концентрациях от $1 \cdot 10^{-4}$ до $1 \cdot 10^{-19}$. В более высоких концентрациях $1 \cdot 10^{-2}$, $1 \cdot 10^{-3}$ наблюдалась гибель клеток, которая может быть связана с повышенной кислотностью неразбавленных извлечений из плодов, губительной для культуры инфузорий.

Индекс биологической активности настоя из цельных плодов составил в среднем $I_{\text{БА}}=1.1$, а в некоторых разведениях оказался меньше, чем $I_{\text{БА}}<1.1$. На основании этого был сделан вывод о том, что данное извлечение биологически не активно, а в некоторых разведениях и снижает жизнеспособность клеток инфузорий.

Мембранстабилизирующая активность жидкого экстракта проявлялась в концентрациях $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-5}$, $1 \cdot 10^{-14}$, $1 \cdot 10^{-15}$, $1 \cdot 10^{-17}$, $1 \cdot 10^{-18}$, в остальных разведениях активность снижалась.

Проводя сравнение мембранстабилизирующей активности исследуемых объектов с литера-

Индекс биологической активности извлечений из плодов рябины черноплодной

I _{БА*}	Лекарственная форма				
	Настойка аралии**	Жидкий экстракт элеутерококка**	Настой плодов (измельченных) аронии	Настой плодов (цельных) аронии	Жидкий экстракт аронии
1·10 ⁻²	1.27	1.63	-	-	-
1·10 ⁻³	1.02	1.82	-	1.23	1.94
1·10 ⁻⁴	0.95	1.82	1.37	1.04	1.27
1·10 ⁻⁵	0.84	1.4	0.96	1.07	1.03
1·10 ⁻⁶	0.83	1.18	1.19	1.18	1.04
1·10 ⁻⁷	0.83	-	1.68	1.07	1.09
1·10 ⁻⁸	0.93	-	1.85	0.88	1.08
1·10 ⁻⁹	1.05	-	1.12	0.98	0.98
1·10 ⁻¹⁰	1.02	-	1.29	1.1	0.98
1·10 ⁻¹¹	1.05	-	1.51	0.93	0.93
1·10 ⁻¹²	0.85	-	1.73	0.93	0.75
1·10 ⁻¹³	-	-	1.68	0.94	0.88
1·10 ⁻¹⁴	-	-	1.88	1.05	1.15
1·10 ⁻¹⁵	-	-	1.43	1.07	1.2
1·10 ⁻¹⁶	-	-	1.49	0.98	0.85
1·10 ⁻¹⁷	-	-	1.42	1.05	1.13
1·10 ⁻¹⁸	-	-	1.55	0.85	1.12
1·10 ⁻¹⁹	-	-	1.55	0.82	1.07

турными данными, можно сделать вывод о том, что активность жидких лекарственных форм плодов аронии, как водных так и спиртовых, не уступает известным адаптогенам (табл.1).

Проведенными экспериментами была установлена высокая мембранстабилизирующая активность фитопрепаратов аронии черноплодной в низких разведениях.

На основании полученных данных наиболее рациональной лекарственной формой можно считать настой, полученный из измельченных плодов аронии. Жидкий экстракт плодов аронии проявляет аналогичную активность в более узком концентрационном диапазоне.

Таким образом высушенные плоды рябины черноплодной могут быть рекомендованы как новый перспективный источник для получения фитопрепаратов, обладающих адаптогенным действием.

*Воронежский государственный университет
Логвинова Е. Е., ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии*

E-mail: liza-ugl@mail.ru

Брежнева Т. А., к.фарм.н., доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии

E-mail: t_brezhneva@mail.ru

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Особенности измельчения плодов аронии черноплодной / А.С. Федюлин, Т.В. Борисова, Б.Д. Левин, В.М. Воронеев // Химия растительного сырья — 2006. — №4 — 55-58 С.
2. Государственная фармакопея СССР. — 11-е изд. — М.: Медицина, 1989. — Вып. 2: Лекарственное растительное сырьё. — 400 С.
3. Бобылев Р.В. Технология лекарственных форм / Р. В. Бобылев, Г. П. Грядунова, Л. А. Иванова и др., под ред. Л. А. Ивановой. — М.: Медицина, 1991. — 544 С.
4. Бузлама В.С. Способ отбора веществ – адаптогенов: Авт. свид. СССР. — 9901189 от 21.09.82. — 1982.
5. Мальцева А.А. Исследование комплекса биологически активных веществ растения *Polemonium coeruleum* L.: дис...канд. фарм. Наук / А.А. Мальцева. — Москва, 2011. — 184 С.

*Voronezh State University
Logvinova E. E., assistant professor; Dept. of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology*

E-mail: liza-ugl@mail.ru

Brezhneva T. A., PhD, associate professor; Dept. of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology

E-mail: t_brezhneva@mail.ru

Сливкин А. И., д.ф.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии

E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Трубенева И. С., студентка 5 курса

E-mail: irisha.berest@mail.ru

Тарабрина В. Н., интерн кафедры последипломного образования

E-mail: nika-love-10@mail.ru

Slivkin A. I., PhD, professor, Dept. of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology

E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Trubeneva I. S., – student 5 courses

E-mail: irisha.berest@mail.ru

Tarabrina V. N., intern, Dept. of postgraduate education

E-mail: nika-love-10@mail.ru