

**ИССЛЕДОВАНИЕ МЕМБРАНОСТАБИЛИЗИРУЮЩЕЙ,
АНТИОКСИДАНТНОЙ И АНТИТОКСИЧЕСКОЙ
АКТИВНОСТИ ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ
ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ (НА
ПРИМЕРЕ ПЛОДОВ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ И
ЛИСТЬЕВ КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ) НА ТЕСТ-СИСТЕМЕ
PARAMESCIUM CAUDATUM**

О. В. Тринеева, А. И. Сливкин

ФБГОУ ВО «Воронежский государственный университет»
поступила в редакцию 14.01.2016 г.

Аннотация. В работе установлено, что настой листьев крапивы двудомной обладает выраженной мембраностабилизирующей активностью. Отвары плодов облепихи крушиновидной различных способов консервации данным видом активности практически не обладают. Все исследуемые объекты в высоких концентрациях проявляют антиоксидантные свойства. Отвары плодов облепихи крушиновидной, независимо от способа консервации, обладают выраженной антитоксической активностью во всех исследуемых концентрациях. Полученные данные открывают новые возможности применения давно известных растений и подтверждают перспективность их использования для получения новых лекарственных форм.

Ключевые слова: мембраностабилизирующая, антиоксидантная, антитоксическая активности, культура инфузорий, листья крапивы двудомной, плоды облепихи крушиновидной свежие и высушенные.

Annotation. The paper found that the infusion of nettle leaves has expressed membrane stabilizing activity. Broth fruits of sea buckthorn different ways of preserving this type of activity is almost not possess. All test objects at high concentrations exhibit antioxidant properties. Broth fruits of sea buckthorn, regardless of the method of conservation, have a pronounced antitoxic activity in all investigated concentrations. The findings open up new possibilities of application of well known plants and confirm the perspective of their use for the production of new dosage forms.

Keywords: membrane-stabilizing, antioxidant, antitoxic activity, culture ciliates, nettle leaves, the fruits of sea buckthorn fresh and dried.

Первичная оценка фармакологического эффекта различных препаратов с использованием теста *in vivo* в научной литературе представлена довольно широко [1-9]. Культура клеток *Paramecium caudatum* (рис. 1) была использована в качестве биологической модели для определения острой токсичности, а также антиоксидантного (регулирующего перекисное окисление липидов) и мембраностабилизирующего типов действия водных

извлечений из лекарственного растительного сырья (на примере листьев крапивы двудомной и плодов облепихи крушиновидной различных способов консервации). *Paramecium caudatum* легко культивировать, и при исследовании их роста и размножения возможно быстро получить большой объем цифровой информации. Двигательная активность парамеций во многом формируется на основе работы ионных каналов, встроенных в мембрану ресничек, и является характеристикой, отражающей функциональное состояние клетки

[1,2]. При этом *Paramecium caudatum* функционирует в направлении сохранения мембранного потенциала. В результате снижения мембранного потенциала клетки двигаются медленнее или вращаются на месте вокруг одного конца.

Цель работы - исследование мембраностабилизирующего, антиоксидантного и антитоксического действия водных извлечений из лекарственного растительного сырья (на примере листьев крапивы двудомной и плодов облепихи крушиновидной различных способов консервации).



Рис. 1. Культура инфузорий

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Определение проводили по методике [3]. Сущность метода заключается в выявлении характера действия исследуемого вещества на механизмы адаптации и резистентности клетки к воздействию на нее разрешающего внешнего неблагоприятного фактора. Из нескольких существующих методик нами был выбран «Метод разрешающего воздействия» с использованием культуры инфузорий *Paramecium caudatum*. В работе использовали культуру инфузорий, содержащую в экспоненциальной фазе не менее 2500 - 3000 особей в 1 мл среды, а в стационарной не менее 6500 - 7500 особей [4-9].

Объектами исследования явились отвары свежих и высушенных плодов облепихи крушиновидной и настоек листьев крапивы двудомной. Извлечения из лекарственного растительного сырья готовили в соответствии с требованиями ОФС ГФ XIII изд. «Настои и отвары» [10]. В 18 пробирок помещали по 9.0 мл культуры инфузорий в стационарной фазе роста. В первую пробирку добавляли 1.0 мл дистиллированной воды, перемешивали. Во вторую пробирку добавляли 1.0 мл исследуемого образца, перемешивали. Далее

переносили по 1 мл жидкости из второй пробирки в третью, из третьей в четвертую и т.д. Штатив с пробирками термостатировали сутки при 25°C. Из контрольной пробирки отбирали по 1 мл культуры инфузорий (3-4 пробирки) и добавляли туда 10%-ный раствор натрия хлорида (при исследовании мембраностабилизирующей активности), 3% раствор водорода пероксида (при исследовании антиоксидантной активности) и 14% спирт этиловый (при исследовании антитоксической активности). Контроль гибели клеток вели под микроскопом с помощью секундомера. Объем, приводящий к 100%-ной гибели клеток в течение 5 минут, представлен в таблице 1.

Таблица 1
Объем раствора разрешающего фактора клеток, приводящий к 100%-ной гибели в течение 5 минут

№ п/п	Разрешающий фактор	Объем раствора, мл
1	10%-ный раствор натрия хлорида	0.25
2	3% раствор водорода пероксида	1.5
3	14% спирт этиловый	0.4

Далее отбирали по 1,0 мл жидкости из опытных пробирок, добавляли туда оттестированное количество раствора разрешающего фактора, выполняющего роль неблагоприятного фактора, и измеряли продолжительность жизни до гибели 100% клеток. Опыт повторяли необходимое количество раз и для дальнейшей работы использовали среднюю арифметическую величину. Расчет индекса биологической активности проводили по формуле [1-3].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оценку мембраностабилизирующего, антиоксидантного и антитоксического действия исследуемых объектов проводили в соответствии со значениями индекса биологической активности (таблица 2).

Анализируя полученные данные, можно отметить, что настой листьев крапивы двудомной обладает наивысшей мембраностабилизирующей активностью в самых высоких концентрациях при разведении $1 \cdot 10^{-1}$ и $1 \cdot 10^{-2}$, далее активность снижается. Отвар плодов облепихи крушиновидной свежих проявляет активность в концентрациях $1 \cdot 10^{-1}$ и $1 \cdot 10^{-4}$, далее в концентрациях $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-14}$ жизнеспособность клеток снижается и сохраняется примерно на постоянном уровне. Отвар плодов облепихи крушиновидной высушенных в концентрации $1 \cdot 10^{-1}$ вызывают гибель клеток в те-

чение периода инкубирования без добавления повреждающего фактора, что, по-видимому, связано с повышенной кислотностью извлечений [11], губительно действующих в высоких концентрациях на культуру инфузорий. Мембраностабилизирующая активность проявляется в концентрациях $1 \cdot 10^{-3}$ и $1 \cdot 10^{-4}$, в остальных случаях жизнеспособность клеток снижается (рис. 2). При сравнении индекса мембраностабилизирующей активности исследуемых объектов между собой, можно сделать вывод о том, что отвары плодов облепихи крушиновидной различных способов консервации данным видом активности практически не обладают (табл. 2). Настой листьев крапивы двудомной обладает выраженной мембраностабилизирующей активностью при разведении $1 \cdot 10^{-1}$, повышая жизнеспособность клеток на 64 %.

При анализе антиоксидантной активности исследуемых объектов установлено, что настой листьев крапивы двудомной проявляет активность в концентрациях от $1 \cdot 10^{-1}$ - $1 \cdot 10^{-4}$, в остальных случаях жизнеспособность клеток снижается. Отвары плодов облепихи крушиновидной как свежих, так и высушенных обладают антиоксидантной активностью в наивысших концентрациях $1 \cdot 10^{-1}$ и $1 \cdot 10^{-2}$. При увеличении степени разведения данной активностью не обладают, а в большинстве случаев снижают жизнеспособность клеток (рис. 3). В среднем все исследуемые объекты в высоких концентрациях проявляют антиоксидантные свойства, повышая устойчивость клеток к воздействию процессов сво-

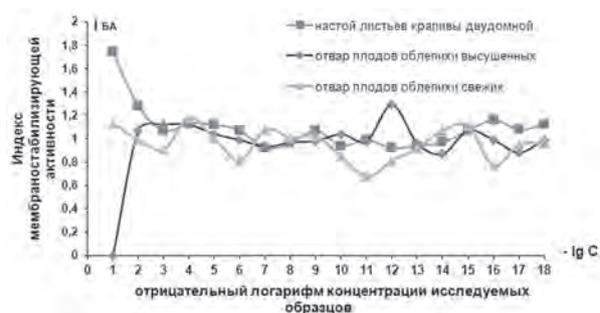


Рис. 2. Зависимость индекса мембраностабилизирующей активности исследуемых объектов от их концентрации в растворе

боднорадикального окисления примерно на 20-30%.

Результаты определения антитоксической активности показали, что настой листьев крапивы двудомной проявляет активность в четырех разведениях $1 \cdot 10^{-1}$; $1 \cdot 10^{-2}$; $1 \cdot 10^{-11}$ и $1 \cdot 10^{-15}$, в остальных случаях жизнеспособность клеток снижается (табл. 2).

Отвары плодов облепихи крушиновидной, независимо от способа консервации, обладают выраженной антитоксической активностью во всех исследуемых концентрациях, повышая устойчивость клеток к воздействию токсического агента - этанола примерно в 2 раза (рис. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что настой листьев крапивы двудомной обладает выраженной мембраностабилизирующей активностью, все исследуемые объекты в высоких концентрациях

Таблица 2

Оценка мембраностабилизирующего (М), антиоксидантного (АО) и антитоксического (АТ) действия исследуемых объектов

Степень разведения исследуемого объекта	Индекс биологической активности объекта (I _{БA}) [*]								
	Настой листьев крапивы двудомной			Отвар плодов облепихи крушиновидной свежих			Отвар плодов облепихи крушиновидной высушенных		
	М	АО	АТ	М	АО	АТ	М	АО	АТ
$1 \cdot 10^{-1}$	1.74	1.46	2.01	1.13	1.44	3.61	-	1.26	-
$1 \cdot 10^{-2}$	1.28	1.48	1.72	0.99	1.24	3.37	1.07	1.30	1.77
$1 \cdot 10^{-3}$	1.07	1.37	1.10	0.91	1.07	2.48	1.12	0.96	3.41
$1 \cdot 10^{-4}$	1.13	1.21	1.40	1.18	0.89	1.47	1.12	0.88	2.22
$1 \cdot 10^{-5}$	1.12	0.96	0.34	1.00	0.90	0.69	1.04	0.92	2.23
$1 \cdot 10^{-6}$	1.07	0.93	0.62	0.81	0.85	2.28	0.99	0.73	2.65
$1 \cdot 10^{-7}$	0.92	0.99	1.02	1.08	0.84	1.78	0.93	0.78	2.46
$1 \cdot 10^{-8}$	0.96	0.95	0.64	1.01	0.91	2.32	0.97	0.79	2.61
$1 \cdot 10^{-9}$	1.07	0.88	0.83	1.02	1.01	1.88	0.98	0.78	2.47
$1 \cdot 10^{-10}$	0.94	0.94	0.82	0.85	0.95	1.67	1.04	0.74	2.53
$1 \cdot 10^{-11}$	0.99	0.91	1.90	0.68	0.87	1.99	0.98	0.62	2.22
$1 \cdot 10^{-12}$	0.92	0.92	0.63	0.81	0.98	2.18	1.29	0.73	2.72
$1 \cdot 10^{-13}$	0.94	0.97	0.65	0.92	0.85	1.94	0.96	0.82	2.67
$1 \cdot 10^{-14}$	0.97	0.91	1.13	1.07	0.95	1.81	0.87	0.90	2.71
$1 \cdot 10^{-15}$	1.07	0.92	1.54	1.11	0.92	1.79	1.07	0.85	2.70
$1 \cdot 10^{-16}$	1.16	0.86	0.60	0.77	0.97	2.95	0.99	0.75	2.89
$1 \cdot 10^{-17}$	1.08	0.94	1.05	0.95	0.93	3.25	0.88	0.71	2.66
$1 \cdot 10^{-18}$	1.12	0.89	0.92	0.96	1.00	3.38	0.99	0.71	2.59

* - I_{БA} от 1.000+0.100 объект активностью не обладает; I_{БA} > 1.000+0.100 объект повышает жизнеспособность клеток; I_{БA} < 1.000 объект снижает жизнеспособность клеток.



Рис. 3. Зависимость индекса антиоксидантной активности исследуемых объектов от их концентрации в растворе

проявляют антиоксидантные свойства, отвары плодов облепихи крушиновидной, независимо от способа консервации, обладают выраженной антиоксидантной активностью во всех исследуемых концентрациях. Полученные данные, несомненно, открывают новые возможности применения давно известных растений и подтверждают целесообразность и перспективность их использования для получения новых лекарственных форм.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Оценка мембраностабилизирующего действия препаратов травы горца почечуйного / А.С. Чистякова, А.И. Сливкин, А.А. Сорокина и др. // Вестник ВГУ. Сер.: Химия. Биология. Фармация. — 2014. — №4. — С. 138-141.
2. Сравнительное изучение антиоксидантной активности растительных сборов / С.Р. Хасанова, Т.И. Плеханова, Д.Т. Гашимова и др. // Вестник ВГУ. Сер.: Химия. Биология. Фармация. — 2007. — №1. — С. 163-166.
3. Бузлама В.С. Способ отбора веществ — адаптогенов: Авт. свид. СССР № 9901189 от 21.09.82. — 1982 г.
4. Исследование репаративных свойств фитогеля, содержащего экстракты чабреца и солодки / Т.А. Володина, Н.А. Пеньевская, С.И. Викторов и др. // Фундаментальные исследования. — 2012. — №11. — С. 472-477.
5. Медведев Б.Н. Изучение антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности адиакрома / Б.Н. Медведев, Л.Н. Малоштан, Е.Ю. Яцен-



Рис. 4. Зависимость индекса антиоксидантной активности исследуемых объектов от их концентрации в растворе

ко // Украинский биофармацевтический журнал. — 2010. — №6(11). — С. 46-51.

6. Огай М.А. Антиоксидантный и мембраностабилизирующий эффект тау-рина / М.А. Огай, Э.Ф. Степанова, Д.Б. Холодов, В.А. Николаевский // Вестник ВГУ. Сер.: Химия. Биология. Фармация. — 2011. — №1. — С. 186-191.

7. Умнова О.А. Сравнение биологической активности фитохимических композиций в нативной и липосомальной формах / О.А. Умнова // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. — 2010. — Т.51, № 6. — С. 476-480.

8. Правдивцева М.И. Определение токсичности экзополисахаридов некоторых молочнокислых бактерий биопробой на инфузории колподо / М.И. Правдивцева, Л.В. Карпунина, Е.В. Полукаров // Фундаментальные исследования. — 2008. — №12. — С. 43.

9. Шадрин И.А. Токсикологический анализ некоторых кормов по реакции выживаемости инфузорий *Paramecium caudatum* / И.А. Шадрин // Вестник КрасГАУ. — 2008. — №2. — С. 128-134.

10. Государственная Фармакопея РФ XIII изд. ОФС «Настои и отвары». (<http://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/11/materialy-podeyatelnosti-deparatamenta/stranitsa-856/spisok-obschih-farmakopeynyh-statey>) (дата обращения 15.06.2015 г).

11. Тринева О.В. Органические кислоты в плодах облепихи крушиновидной / О.В. Тринева, И.И. Сафонова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин // Фармация. — 2013. — №7. — С. 7-10.

Воронежский государственный университет
Тринева О. В., кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии
E-mail: trineevaov@mail.ru

Voronezh State University
Trineeva O. V., candidate of pharmaceutical sciences, associate professor of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology
E-mail: trineevaov@mail.ru

Сливкин А. И., д.фарм.н., проф., зав. каф. фармацевтической химии и фармацевтической технологии

Тел.: 255-47-76

E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Slivkin A. Y., Full Professor, PhD, Dsci, Head of the pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology department

Ph.: 255-47-76

E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru