

**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»**

УДК 618.146–053.6–055.2:616–007.17:616–006:616–084

**ЖУКОВ Андрей Михайлович**

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ТОКСИЧНОСТЬ  
КОМПЛЕКСА БИОФЛАВОНОИДОВ ГОРЦА ВЕЙРИХА  
— ЭКСТРАКТА СУХОГО И НАСТОЙКИ СПИРТОВОЙ**

14.00.25 – фармакология, клиническая фармакология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Минск 2006

Работа выполнена в ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены»

**Научный руководитель:** ЗАХАРЕВСКИЙ Александр Степанович, доктор медицинских наук, профессор УО «Белорусский государственный медицинский университет», кафедра фармакологии

**Официальные оппоненты:** КУЗЬМИЦКИЙ Болеслав Брониславович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник Института биоорганической химии Национальной Академии Наук Беларуси, лаборатория биоиспытаний

ТАЛАПИН Виталий Иванович, доктор медицинских наук, профессор

**Оппонирующая организация:** ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Защита диссертации состоится 31.10.2006 г. в 12<sup>00</sup> на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.07 при УО «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83; тел. 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2006 года.

Ученый секретарь совета  
по защите диссертаций  
доктор медицинских наук

М.К. Кевра

# **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

## **Актуальность темы диссертации**

Нарушения функции кровеносных капилляров являются важным звеном в развитии и течении многих заболеваний и патологических состояний (геморрагический диатез, капилляротоксикоз, инфекционные заболевания, лучевая болезнь, интоксикации и др.). Для профилактики и лечения сосудистых нарушений широко используются препараты витаминов группы С и Р. К последним относятся флавоноиды, содержащиеся во многих растениях, в частности лекарственные препараты рутин и кверцетин. Оба препарата для Республики Беларусь являются импортными, а потребность в них значительно возросла после аварии на Чернобыльской АЭС. Актуальность разработки оригинальных препаратов этой фармакотерапевтической группы подтверждается тем, что в Государственную программу Республики Беларусь по минимизации и преодолению последствий катастрофы на Чернобыльской АЭС (1996–2000 гг.) был включен научный раздел: «Получить биологически активные соединения растительного происхождения, обладающие радиомодифицирующими и лечебно-профилактическими свойствами, осуществить их комплексную медико-биологическую оценку и разработать рекомендации по производству и применению». Основным исполнителем этой темы был определен Белорусский научно-исследовательский санитарно-гигиенический институт, который привлек для выполнения программы сотрудников Минского государственного медицинского института, института радиобиологии АН Республики Беларусь и Минского завода медицинских препаратов.

В качестве объекта для исследования был выбран комплекс флавоноидов растения горец Вейриха, который по составу основных химических компонентов сходен с рутином и кверцетином. Выделение биофлавоноидов, изготовление лекарственных форм и доклинические исследования были проведены на базе и с участием сотрудников названных научно-медицинских учреждений. Фрагмент этих исследований, выполненный А.М Жуковым, составил основу настоящей диссертационной работы.

## **Связь работы с крупными научными программами**

Работа выполнена в рамках научного раздела Государственной программы Республики Беларусь по минимизации и преодолению последствий катастрофы на Чернобыльской АЭС (1996–2000 гг.) «Получить биологически активные соединения растительного происхождения, обладающие радиомодифицирующими и лечебно-профилактическими свойствами, осуществить их комплексную медико-биологическую оценку и разработать

рекомендации по производству и применению», номер государственной регистрации 19972393.

### **Цель исследования**

Экспериментальное фармако-токсикологическое обоснование возможности создания капилляроукрепляющих лекарственных средств на основе комплекса флавоноидов горца Вейриха.

### **Задачи исследования**

1. Изучить на различных экспериментальных моделях капилляроукрепляющие свойства экстракта и настойки горца Вейриха.
2. Определить антиокислительные и аскорбат-сберегающие свойства препаратов горца Вейриха.
3. Сравнить биологическую активность комплекса флавоноидов горца Вейриха с фармакопейными препаратами рутином и кверцетином.
4. Оценить токсикологическую безопасность экстракта и настойки горца Вейриха в качестве лекарственных средств.

### **Объект и предмет исследования**

Объект исследования: экстракт горца Вейриха сухой, настойка горца Вейриха спиртовая.

Предмет исследования: фармакологические и токсикологические свойства флавоноидных препаратов горца Вейриха.

### **Методология и методы проведения исследования**

При проведении исследований использовали фармакологические, иммунологические, гематологические, биохимические, патоморфологические, цитохимические методы, применяемые в экспериментальной медицине.

Полученные количественные данные обработаны методами вариационной статистики с оценкой значимости различий между средними величинами по параметрическому критерию Стьюдента средствами программного пакета Microsoft Excel. Различия между группами признавались достоверными при  $p < 0,05$ .

### **Научная новизна полученных результатов**

Впервые получена совокупность экспериментальных данных, обосновывающих создание новых лекарственных средств на основе флавоноидного комплекса травы горца Вейриха, обладающих капилляроукрепляющими и антиоксидантными свойствами.

Впервые установлено, что спиртовая настойка и экстракт горца Вейриха по спектру и выраженности фармакологических свойств не только не уступают, но по ряду критериев превосходят фармакопейные препараты сравнения рутин и кверцетин.

Впервые показано, что препараты горца Вейриха отвечают требованиям токсикологической и биологической безопасности, предъявляемым к лекарственным средствам.

### **Практическая значимость полученных результатов**

1. Результаты проведенных исследований экстракта горца Вейриха позволили разработать нормативно-техническую документацию (НТД) на лекарственный препарат – таблетки «Горвэкс». Получено разрешение Фармакологического комитета на проведение его клинических испытаний.
2. По результатам проведенных исследований подготовлена и передана в ОАО «Белмедпрепараты» НТД на лекарственный препарат «Настойка горца Вейриха» для получения разрешения на проведение клинических испытаний и их организацию.

### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Результаты экспериментальной оценки капилляроукрепляющих, антиокислительных, аскорбат–сберегающих и радиомодифицирующих свойств комплекса биофлавоноидов горца Вейриха в форме экстракта сухого и настойки спиртовой.
2. Препараты горца Вейриха не токсичны для животных при однократном введении в желудок в дозах 15000 мг/кг для экстракта и 144,9 мл/кг для настойки горца Вейриха. В условиях хронического 4-х месячного эксперимента при введении внутрь в дозах, превосходящих рекомендуемые в 20 раз, экстракт и настойка горца Вейриха не оказывают токсического действия и потенциально безвредны при курсовом применении.
3. По совокупности фармакологических свойств сухой экстракт и спиртовая настойка горца Вейриха являются капилляроукрепляющими препаратами широкого спектра биологического действия, не уступающими по эффективности фармакопейным средствам — рутину и кверцетину.

### **Личный вклад соискателя**

Направление работы сформулировано научным руководителем. Планирование и проведение экспериментов, интерпретация и статистическая обработка полученных научных данных выполнены соискателем лично. Некоторая часть фармакологических и токсикологических тестов выполнялась при участии д.м.н. А.С. Захаревского, к.б.н. Л.А. Мелентович, к.м.н.

С.С. Прихожего, к.м.н. С.К. Шадурской, к.б.н. Ушкова А.А., н.с. Н.А. Ивко, н.с. В.А. Степанищевой, к.б.н. Л.А. Русяева.

### **Апробация результатов диссертации**

Результаты проведенных исследований, включенных в диссертацию, доложены на Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы медицинской реабилитации населения, пострадавшего вследствие Чернобыльской катастрофы» (Минск, 1997), объединенном Пленуме Республиканской проблемной комиссии по гигиене и Правления научного общества гигиенистов «Актуальные проблемы научного обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения и пути их реализации» (Минск, 2000).

### **Опубликованность результатов диссертации**

По теме диссертации опубликовано 6 работ общим объемом 1,4 авторских листа (56000 печатных знаков), из них 3 статьи в рецензируемых сборниках научных статей, две — в журнале «Рецепт» и одна — в журнале «Медицинская панорама». Помимо этого, соискателем опубликовано 12 работ, посвященных смежной научной проблематике.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, основной части, состоящей из 4 глав (содержит описание использованных материалов и методов исследования, анализ полученных результатов), заключения и библиографического списка (127 источников). Полный объем диссертации составляет 92 страницы, включая 23 таблицы и 9 иллюстраций на 14 страницах.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

В экспериментах использованы 628 рандомбредных крыс, 175 рандомбредных мышей и 62 морские свинки, полученных из питомника Рапполово» (г. Санкт-Петербург) или воспроизведенных в виварии РНПЦГ (г. Минск).

Исследованы сухой экстракт и спиртовая настойка горца Вейриха. Препараты готовились, анализировались и поставлялись Научно-фармацевтическим центром ОАО «Белмедпрепараты» (г. Минск).

Капилляроукрепляющие свойства препаратов горца Вейриха изучались в экспериментах на белых крысах, содержащихся в течение трех недель на

витамин Р-дефицитной диете (Ярусова Н.С., Березовская Н.Н. и др., 1959). В первой серии опытов исследуемые вещества вводились на протяжении третьей недели пребывания животных на авитаминозной диете, а во второй серии — в течение четвертой недели эксперимента, после перевода животных на обычный рацион вивария. Исследуемые препараты дозировали в мг или мл на кг массы тела животного. Экстракт горца Вейриха вводился на 2 %-ном крахмальном геле.

Влияние экстракта и настойки горца Вейриха на проницаемость капилляров у белых крыс исследовано на 3-х хорошо известных и рекомендуемых экспериментальных моделях: количественное определение витального красителя Эванса голубого, накопившегося в коже в месте введения (нанесения) нарушающих проницаемость химических агентов — ксилола, гистамина, серотонина и брадикинина; распределение между кровью и тканями меченного  $^{125}\text{I}$  тироксинсвязывающего глобулина ( $^{125}\text{I}$ -ТСГ); соотношение содержания иммуноглобулина G, меченного флуоресцеина изотиоцианатом (ФИТЦ), в крови и скелетных мышцах.

Влияние флавоноидов горца Вейриха на ломкости капилляров определяли в опытах с использованием накожной присоски, соединенной с вакуумным насосом. Показателем резистентности капилляров служила величина пониженного давления, при котором на коже появлялись петехии.

Антиокислительная активность препаратов исследована на моделях НАДФН- и  $\text{CCl}_4$ -зависимого перекисного окисления липидов (ПОЛ) в микросомах печени крыс. Интенсивность ПОЛ оценивали по содержанию тиобарбитуратов в среде инкубации (Bernheim F., Wilbur K.M., 1948).

Влияние экстракта горца Вейриха на обмен аскорбиновой кислоты исследовано в опытах на крысах и морских свинках, содержащихся 10 дней на витамин Р-дефицитной диете и в течение этого времени получавших изучаемые препараты в одинаковой дозе 40 мг/кг в желудок. Для определения содержания аскорбиновой кислоты и ее метаболитов в крови и печени подопытных животных использовалась реакция образования озазонов (Соколовский В.В., Лебедева Л.В. и др., 1974).

Для сравнительной оценки полученных результатов проводились параллельные исследования известных фармакопейных препаратов — рутина и кверцетина.

Радиомодифицирующие свойства экстракта горца Вейриха изучались в опытах на облученных белых крысах (6 Гр), предварительно на протяжении 30 суток ежедневно получавших препарат (25 мг/кг в желудок), при этом оценивались функциональные показатели системы кровообращения и данные компьютерного анализа сердечного ритма (Баевский Р.М. и др., 1984).

Токсикологические свойства экстракта и настойки горца Вейриха при однократном внутрижелудочном введении исследованы в опытах на белых мышах и крысах. Экстракт горца Вейриха применялся в виде 50 %-ной водной суспензии. Рабочий раствор настойки горца Вейриха получали отгонкой спирта на водяной бане при 85 °С, дозу пересчитывали на исходный объем настойки. Показатели острой токсичности рассчитывались методом пробит-анализа (Беленький М.Л., 1963).

Параметры токсичности при длительном внутрижелудочном введении препаратов изучались в хроническом 4-месячном эксперименте на белых крысах. Экстракт горца Вейриха вводили на 2 %-ном крахмальном клейстере, а настойку – после отгонки спирта, в пересчете на сухое вещество (4,4 г/л). Схема хронического эксперимента предусматривала: ежедневное введение экстракта горца Вейриха в течение 1,5-месяцев в дозе 30 мг/кг, а также введение настойки (3 мг/кг) и экстракта горца Вейриха (3, 30 и 60 мг/кг) в течение 3-х месяцев. Отдельную группу составляли животные, получавшие на протяжении 3-месяцев экстракт горца Вейриха в дозе 60 мг/кг, но подвергшиеся эвтаназии после 30-дневного восстановительного периода. Для изучения кумулятивных свойств препараты горца Вейриха вводились крысам в желудок ежедневно на протяжении 51 суток в количестве  $\frac{1}{10}$  от дозы, испытанной в остром опыте.

В ходе хронического эксперимента регистрировали интегральные показатели состояния животных (общее состояние, прирост массы тела, потребление корма и воды, двигательную активность, особенности поведения, реакции на внешние раздражители, выживаемость), проводили физиологические (ректальная температура, суммационно–пороговый показатель, электрокардиография), гематологические (содержание гемоглобина, морфологический состав крови, цветовой показатель) и биохимические исследования (активность аланин- и аспартат-аминотрансфераз в сыворотке крови, содержание мочевины в сыворотке крови и моче, хлоридов в крови и моче, глюкозы в крови, белка в сыворотке крови и моче, клиренс креатинина, активность супероксиддисмутазы в гемолизате крови и другие). Определяли также суточный диурез и удельный вес мочи. Были проведены патоморфологические и гистохимические исследования внутренних органов животных.

Оценка возможной аллергенной опасности экстракта и настойки горца Вейриха осуществлялась на модели воспроизведения гиперчувствительности замедленного типа на белых мышах с использованием провокационных проб — теста опухания лапки мыши (ТОЛМ) и реакции специфического лейколизиса (РСЛЛ) (Методические указания МЗ Республики Беларусь от 30.06.1994 № 48-9405).

В ходе 4-месячного токсикологического эксперимента у подопытных крыс был исследован ряд иммунологических показателей: бактерицидная



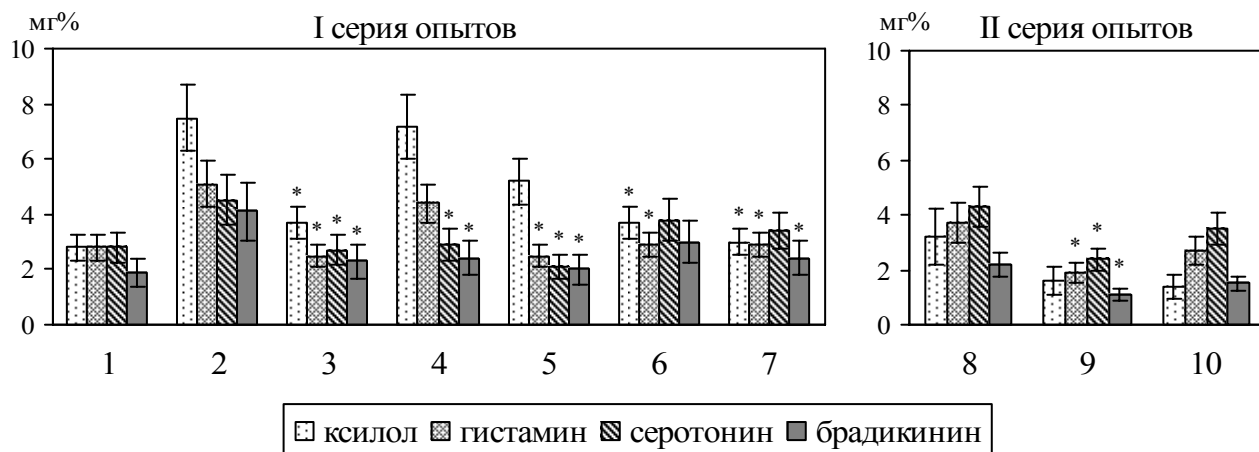
активность сыворотки крови и лизоцима (В.М. Шубик с соавт., 1981), накопление в крови циркулирующих иммунных комплексов (Н.А. Кузовкова с соавт., 1992), интенсивность фагоцитоза с определением процента активных клеток, индексов фагоцитоза и переваривания, а также коэффициента переваривания (В.И. Тернов, А.П. Волкова, 1965).

## Результаты исследований и их обсуждение

### Влияние комплекса флавоноидов горца Вейриха на проницаемость стенок капилляров

**Определение проницаемости капилляров по распределению красителя Эванса голубого.** Проницаемость капилляров оценивали по количеству красителя, проникшего из сосудистого русла в кожу в месте введения химических анализаторов. Прокрашенный участок кожи (176,6 мм<sup>2</sup>) иссекали, экстрагировали формамидом и по оптической плотности раствора рассчитывали содержание краски в мг%.

Проведенные исследования подтвердили, что 30-дневное пребывание белых крыс на витамин Р-дефицитной диете (контроль 2) сопровождалось статистически значимым повышением проницаемости капилляров кожи по сравнению со здоровыми животными (контроль 1, рисунок 1).



1 – здоровые животные (контроль 1); 2 – Р-авитаминозные животные (контроль 2); 3 – экстракт горца Вейриха, 50 мг/кг; 4 – настойка горца Вейриха, 1,5 мл; 5 – настойка горца Вейриха, 3,0 мл; 6 – рутин, 50 мг/кг; 7 – кверцетин, 25 мг/кг; 8 – Р-авитаминозные животные (контроль 2'); 9 – настойка горца Вейриха, 1,5 мл; 10 – рутин, 50 мг/кг. \* — P<0,05 в сравнении с контролем 2

**Рисунок 1 — Влияние исследуемых биофлавоноидов на проницаемость капилляров кожи у крыс для витального красителя Эванса голубого**

Введение экстракта горца Вейриха (50 мг/кг) в течение последней недели 30-дневного пребывания животных на витамин Р-дефицитной диете (серия

опытов I) статистически достоверно уменьшает проницаемость капилляров у подопытных крыс по сравнению с авитаминозными животными на моделях с использованием всех 4-х химических анализаторов (рисунок 1, группа 3). Сходные, но менее выраженные результаты получены в группах животных 4 и 5, получавших настойку горца Вейриха: при введении настойки в количестве 1,5 мл защитный эффект проявился только на модели с использованием серотонина и брадикинина, а в дозе 3 мл — гистамина, серотонина и брадикинина. Нарушение проницаемости капилляров, вызываемых ксилолом, настойка горца Вейриха в использованных дозах не устраняет (рисунок 1, группы 4 и 5).

Влияние на проницаемость капилляров рутина (50 мг/кг) и кверцетина (25 мг/кг), так же, как и настойки, выражено слабее, чем у экстракта горца Вейриха: рутин эффективен на модели с использованием ксилы и гистамина, а кверцетин — ксилы, гистамина и брадикинина (рисунок 1, группы 6 и 7).

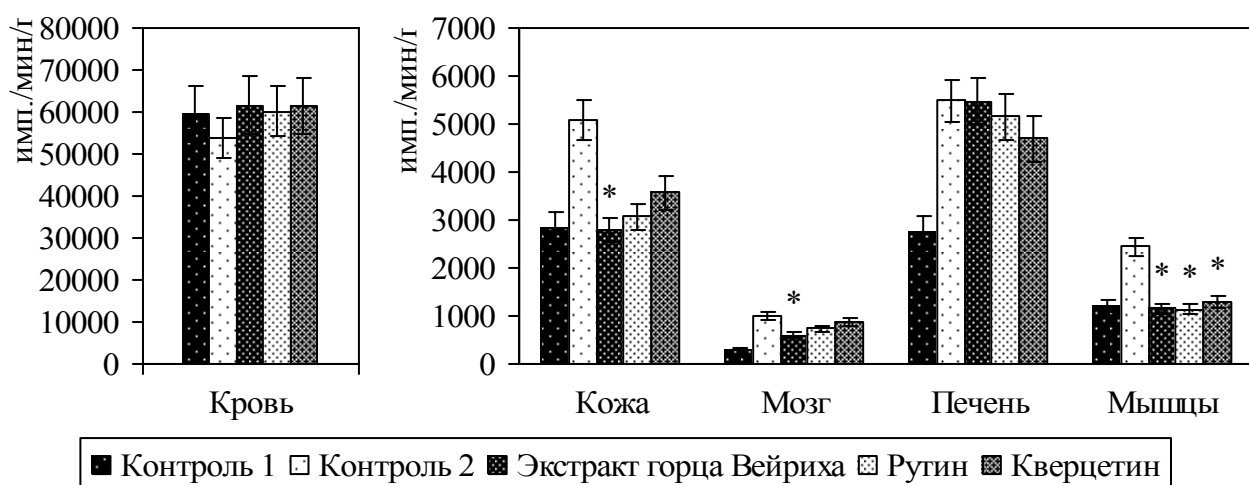
Во второй серии экспериментов, когда введение крысам настойки горца Вейриха (1,5 мл) осуществлялось в первую неделю после завершения авитаминозной диеты, присущее ей капилляроукрепляющее действие, установленное в первой серии опытов, не только сохранялось, но даже усиливалось — защитный эффект отсутствовал только на модели с использованием ксилы. Препарат сравнения рутин (50 мг/кг) в этих условиях опыта не проявил статистически значимого терапевтического эффекта (рисунок 1, группы 8 – 10).

Отмеченное в опытах более выраженное влияние экстракта горца Вейриха на проницаемость капилляров, отсутствие защитного эффекта у настойки горца Вейриха на модели с использованием ксилы и малая эффективность рутина и кверцетина на моделях с использованием серотонина и брадикинина указывают на существование различий в механизмах их капилляроукрепляющего действия.

**Определение проницаемости капилляров по распределению радиоактивно меченного  $^{125}\text{I}$ -ТСГ.** Меченный белок вводили животным опытных групп на следующие сутки после завершения Р-авитаминозной диеты (на 22-й день эксперимента) по 0,4 мл (2000000 имп./мин) внутривенно. Через 1 ч животных подвергали эвтаназии, брали кровь, навески органов и тканей для радиоиндикации. Удельная радиоактивность тканей рассчитывалась на 1 г.

У животных, пребывавших на витамин Р-дефицитной диете, отмечалось выраженное повышение содержания  $^{125}\text{I}$ -ТСГ в коже, мышцах, печени, мозге по сравнению со здоровыми животными (рисунок 2, группы 1 и 2). В результате введения крысам экстракта горца Вейриха (50 мг/кг) статистически достоверно по сравнению с авитаминозной группой животных снижалось проникновение меченного  $^{125}\text{I}$  глобулина в кожу (на 45 %), через гематоэнцефалический барьер

(на 40 %) и в мышцы (на 52 %). Изменение содержания меченного белка в печени крыс данной группы не получило статистического подтверждения (рисунок 2, группа 3).



**Рисунок 2 — Влияние экстракта горца Вейриха на проницаемость капилляров для  $^{125}\text{I}$ -ТСГ у белых крыс**

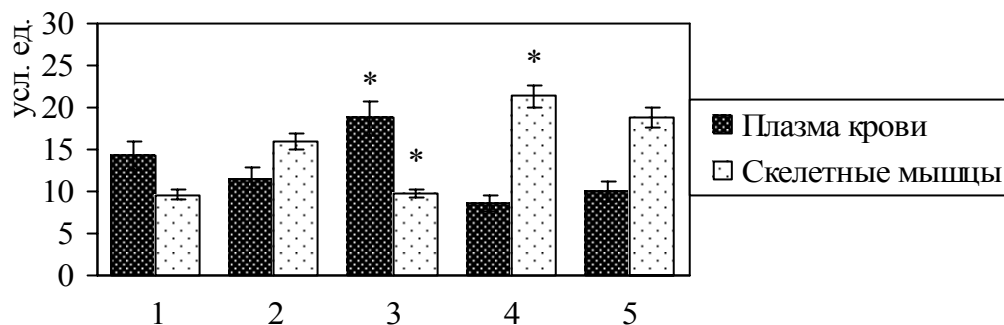
Препарат сравнения рутин (50 мг/кг в желудок) снижал уровень поступления меченного глобулина из крови в мышцы на 53 % ( $P < 0,05$ ), а радиоактивность тканей кожи, печени и мозга оставалась на уровне авитаминозного контроля. После введения крысам кверцетина статистически значимый эффект (снижение содержания радиоактивного глобулина на 48 % по сравнению с контролем 2) наблюдался только на сосудах мышц (рисунок 2, группы 4 и 5).

Таким образом, рутин и кверцетин в использованных дозах на данной экспериментальной модели значительно слабее влияют на Р-авитаминозные нарушения проницаемости капилляров.

**Определение проницаемости капилляров по распределению иммуноглобулина G между кровью и скелетными мышцами.** Белково-флюоресцеиновый комплекс вводился крысам внутривенно в дозе 5 мл/кг. Через 60 минут у животных брались на исследование плазма крови и ткань скелетных мышц. Результаты фотометрии выражали в условных единицах. Проницаемость капилляров оценивалась также морфологически по методу Lindwall, Vjorkeund (1974).

Установлено, что у животных, находившихся в течение 30 дней на витамин Р-дефицитной диете, содержание ФИТЦ-меченного белка в скелетных мышцах возросло на 67,7 % (рисунок 3, группа 2). В группе животных, получавших экстракт горца Вейриха (рисунок 3, группа 3), содержание ФИТЦ-меченного белка в плазме было на 62,6 % выше, чем у крыс с Р-авитаминозом

( $P < 0,05$ ), и превышало его количество у здоровых животных (контроль 1). Уровень содержания флуоресцентной метки в скелетных мышцах также не отличался от такового у здоровых крыс (контроль 1) и был на 39 % ниже ( $P < 0,05$ ) по сравнению с группой Р-авитаминозных животных (контроль 2).



1 – здоровые животные (контроль 1); 2 – Р-авитаминозные животные (контроль 2); 3 – экстракт горца Вейриха, 50 мг/кг; 4 – рутин, 50 мг/кг; 5 – кверцетин, 25 мг/кг. \* —  $P < 0,05$  в сравнении с контролем 2

**Рисунок 3 — Влияние экстракта горца Вейриха на проницаемость капилляров для иммуноглобулина G**

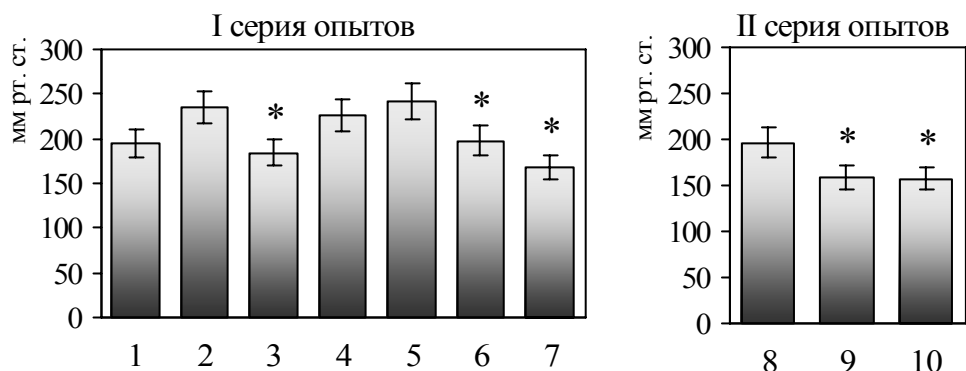
В группе животных, которым вводили рутин, поступление меченого белка из плазмы в мышечную ткань было более значительным как по сравнению с Р-авитаминозными, так и здоровыми животными. Изменения, вызванные кверцетином, не нашли статистического подтверждения (рисунок 3, группы 4 и 5).

Морфологических изменений в мышцах ни в одной из опытных групп животных не отмечено.

### **Влияние флавоноидов горца Вейриха на ломкость капилляров**

Определение ломкости капилляров у крыс проводилось на депилированных участках кожи в области спины посредством присоски, соединенной с вакуумным насосом (Ярусова Н.С. и др., 1959). Давление под присоской снижалось с постоянной скоростью 10 мм рт. ст. за 15 сек.

Результаты проведенных исследований подтверждают, что использованная витамин Р-дефицитная диета приводит к нарушениям ломкости капилляров: величина минимального давления, при котором на коже возникают петехии у здоровых животных составляет  $194,6 \pm 6,0$  мм рт. ст. (контроль 1), а у авитаминозных —  $235,0 \pm 9,5$  мм рт. ст. (контроль 2). Экстракт горца Вейриха в дозе 50 мг/кг предупреждал повышение ломкости капилляров кожи у белых крыс, возникавшее во время пребывания их на витамин Р-дефицитной диете. Так, медиана уровня давления, характеризующего устойчивость капилляров к повреждению, стала даже несколько меньше ( $187,9 \pm 10,6$  мм рт. ст.), чем у здоровых животных (рисунок 4, группа 3).



1 – здоровые животные (контроль 1); 2 – P-авитаминозные животные (контроль 2); 3 – экстракт горца Вейриха, 50 мг/кг; 4 – настойка горца Вейриха, 1,5 мл; 5 – настойка горца Вейриха, 3,0 мл; 6 – рутин, 50 мг/кг; 7 – кверцетин, 25 мг/кг; 8 – P-авитаминозный контроль; 9 – настойка горца Вейриха, 1,5 мл; 10 – рутин, 50 мг/кг. \* —  $P < 0,05$  в сравнении с контролем 2

#### Рисунок 4 — Влияние исследуемых биофлавоноидов на ломкость капилляров кожи у белых крыс

Настойка горца Вейриха в дозах 1,5 и 3 мл не оказала существенного влияния на ломкость капилляров (рисунок 4, группа 4 и 5) После введения рутина (50 мг/кг) и кверцетина (25 мг/кг) отмечено выраженное, сопоставимое с эффектом экстракта горца Вейриха, защитное действие — петехии на коже появлялись при давлении  $198,0 \pm 6,6$  мм рт. ст. и  $168,0 \pm 10,7$  мм рт. ст. соответственно (рисунок 4, группы 6 и 7).

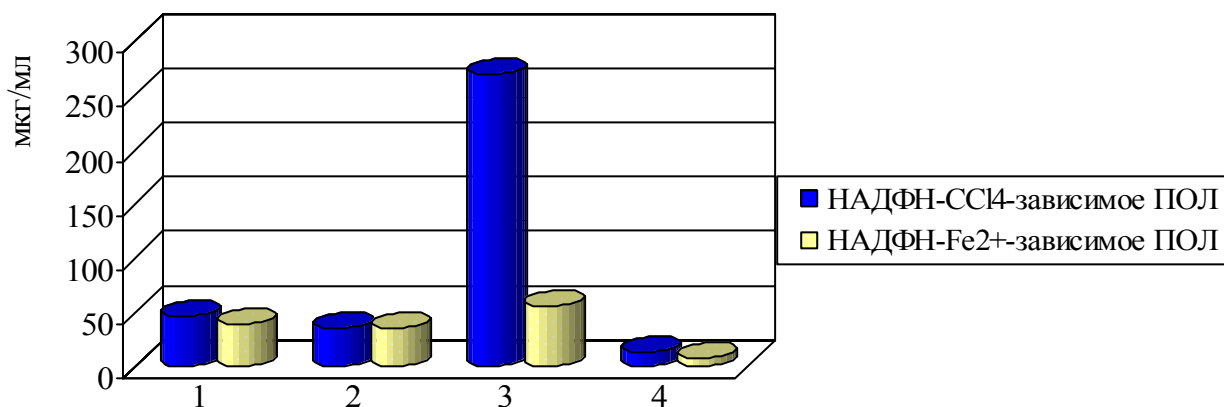
В отличие от результатов I серии опытов, настойка горца Вейриха в дозе 1,5 мл при применении в восстановительный период (после отмены авитаминозной диеты) оказала выраженное защитное действие на ломкость капилляров. Практически такой же эффект вызывает и препарат сравнения рутин в дозе 50 мг/кг (рисунок 4, группы 9 и 10). Следует отметить, что в аналогичных по времени введения условиях (в восстановительный период) рутин не оказал влияния на проницаемость капилляров (см. рисунок 1, группа 10).

#### Антиоксидантные свойства сухого экстракта и спиртовой настойки горца Вейриха

Для характеристики антиокислительного действия исследуемых препаратов была рассчитана величина  $I_{50}$ , соответствующая концентрации препарата, ингибирующей на 50 % образование ТБК-активных продуктов в системах НАДФН- $Fe^{2+}$  - и НАДФН- $CCl_4$ -зависимого ПОЛ.

При сравнении значений  $I_{50}$  видно, что экстракт горца Вейриха по своему антирадикальному действию более чем в 5 раз эффективнее рутина и близок к

кверцетину. Спиртовая настойка горца Вейриха обладает сопоставимой и более выраженной антиоксидантной активностью (рисунок 5, группы 1 и 2).



1 – экстракт горца Вейриха; 2 – настойка горца Вейриха; 3 – рутин; 4 – кверцетин

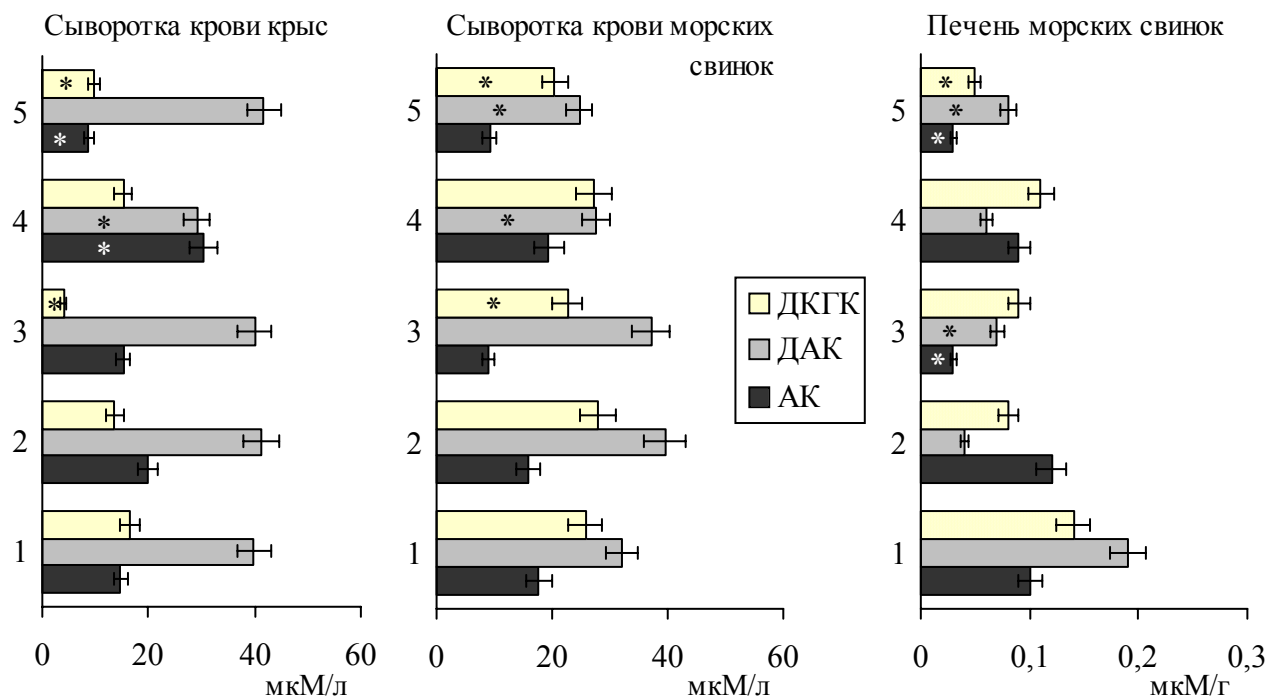
**Рисунок 5 — Значения показателя  $I_{50}$  для экстракта и настойки горца Вейриха в системах НАДФН- $Fe^{2+}$ - и НАДФН- $CCl_4$ -зависимого ПОЛ**

Экстракт и настойка горца Вейриха, а также кверцетин ингибируют практически одинаково оба исследованных процесса микросомального перекисного окисления липидов, следовательно, их антиокислительное действие обусловлено преимущественно антирадикальными свойствами. В то же время у рутина способность ингибировать НАДФН- $CCl_4$ -зависимое ПОЛ выражено слабее, поэтому можно предположить, что у него преобладают хелатирующие свойства (рисунок 5).

### **Влияние экстракта горца Вейриха на метаболизм аскорбиновой кислоты**

Авитаминоз Р не приводил к существенным изменениям содержания метаболитов аскорбиновой кислоты в сыворотке крови подопытных животных, за исключением повышения в 1,2 раза уровня дегидроаскорбиновой кислоты (ДАК) у морских свинок ( $P < 0,05$ ). В то же время отмечено статистически значимое снижение уровня общей аскорбиновой кислоты (ОАК) в печени морских свинок, в основном за счет 4-х кратного уменьшения содержания ДАК, при одновременном снижении уровня неактивной формы аскорбата – дикетогулоновой кислоты (ДКГК).

Введение животным экстракта горца Вейриха (40 мг/кг) сопровождалось статистически достоверным снижением содержания ОАК и ДКГК в сыворотке крови у крыс, снижением уровня ДКГК в сыворотке крови морских свинок при сохранении уровней активных форм аскорбата, а также снижением уровня ОАК и восстановленной формы аскобиновой кислоты (АК) при повышении ДАК в печени морских свинок, что свидетельствует о замедлении распада витамина С в тканях подопытных животных (рисунок 6).



1 – здоровые животные (контроль 1); 2 – Р-авитаминозные животные (контроль 2); 3 – экстракт горца Вейриха, 40 мг/кг; 4 – рутин, 40 мг/кг; 5 – кверцетин, 40 мг/кг. \* —  $P < 0,05$  в сравнении с контролем 2

**Рисунок 6 — Влияние экстракта горца Вейриха обмен аскорбиновой кислоты**

При введении рутина (40 мг/кг) содержание ОАК в печени подопытных животных не изменялось, но статистически достоверно снижалось количество ДАК при увеличении содержания АК в сыворотке крови (у белых крыс и морских свинок), что можно расценивать, как проявление аскорбат-сберегающего действия препарата (рисунок 6, группа 4).

Под влиянием кверцетина отмечалось достоверное снижение содержания в тканях ОАК за счет уменьшения как активных (снижение количества АК в сыворотке крови у крыс и ДАК в сыворотке крови морских свинок), так и неактивной формы аскорбата (ДКГК), что свидетельствует о замедлении процесса необратимого окисления витамина С (рисунок 6). По направленности аскорбат-сберегающего действия экстракт горца Вейриха подобен кверцетину, но при этом более активен.

### **Радиомодифицирующие свойства экстракта горца Вейриха**

Введение экстракта горца Вейриха (25 мг/кг в желудок) в течение 30 суток до момента внешнего гамма-облучения крыс в сублетальной дозе 6 Гр приводило к статистически значимым положительным сдвигам всех регистрируемых гемодинамических показателей, уменьшало и частично

предупреждало функциональные нарушения сердечно-сосудистой системы, вызываемые облучением. По сравнению с контролем (необлученные животные) у животных этой группы артериальное давление оставалось на исходном уровне, более высокими были внутрижелудочковое давление (на 20 %), скорость сокращения (на 17 %) и расслабления (на 16 %) миокарда, систолический (на 23 %) и минутный (на 14 %) объемы крови, удельное кровоснабжение тканей (на 15 %) при уменьшении удельного периферического сопротивления сосудов (на 18 %) и существенного урежения частоты сердечных сокращений (на 14 %).

Анализ математико-статистических и расчетных показателей сердечного ритма показал, что под воздействием экстракта горца Вейриха повышается активность центрального контура регуляции сердечно-сосудистой системы: активируется симпатический отдел вегетативной нервной системы (увеличение индекса вегетативного равновесия на 25 %), возрастает индекс напряжения регуляторных систем на 21 %, активируются подкорковые нервные центры (увеличивается показатель средней мощности медленных волн I-го порядка на 36 %). Следовательно, введение экстракта горца Вейриха устраняет радиационно-индуцированные изменения сократительных свойств миокарда и сосудистых реакций, и препятствует нарушению регуляции системы кровообращения высшими отделами центральной нервной системы.

### **Токсикологические свойства экстракта и настойки горца Вейриха**

При однократном введении в желудок в предельных дозах экстракта (15000 мг/кг) и настойки горца Вейриха (144,9 мл/кг) и последующем двухнедельном наблюдении не отмечено гибели или токсических проявлений у подопытных животных. Непосредственно после введения как препаратов горца Вейриха, так и плацебо отмечено лишь кратковременное снижение двигательной активности и реакции на внешние раздражители. Не выявлено особенностей токсического действия препаратов с учетом видовой принадлежности и пола животных.

В условиях 4-х месячного эксперимента на крысах при ежедневном введении в желудок экстракта и настойки горца Вейриха в дозах 3, 30 и 60 мг/кг не отмечено видимых изменений общего состояния и поведения животных. Препараты не оказывают существенного влияния на весовой прирост, на показатели морфологической картины крови, биохимические показатели, характеризующие состояние углеводного, белкового, липидного витаминного и минерального обмена, не оказывают токсического действия на печень и почки. Не выявлено нарушений функционального состояния нервно-мышечной, сердечно-сосудистой и выделительной систем. Патоморфологические исследования по окончании хронического эксперимента



не обнаружили токсического и повреждающего действия экстракта и настойки горца Вейриха на органы и ткани подопытных животных.

Введение крысам экстракта и настойки горца Вейриха на протяжении 51-х суток в дозах, составляющих  $1/10$  от испытанных в остром опыте, не вызывает летальности, а также видимых признаков интоксикации, отсроченных негативных изменений в поведении и общем состоянии животных и не влияет на прирост массы тела крыс, что свидетельствует о слабой кумулятивной активности исследуемых веществ.

### **Аллергенные и иммунотоксические свойства спиртовой настойки и сухого экстракта горца Вейриха**

Внутрикожная сенсibilизация препаратами горца Вейриха в максимальной дозе 200 мкг не выявила статистически значимого увеличения показателя ТОЛМ в группах опытных животных по сравнению с контролем. Как по числу животных с положительными реакциями лейколизиса, так и по среднегрупповым величинам РСЛЛ опытные и контрольные группы животных различались несущественно.

В хроническом эксперименте в диапазоне доз 3—60 мг/кг при разной продолжительности воздействия (45—90 суток) экстракт и настойка горца Вейриха не вызывали у подопытных животных существенного изменения общих бактерицидных свойств сыворотки крови, фагоцитарной активности нейтрофилов и накопления в крови циркулирующих иммунных комплексов.

Полученные результаты позволяют сделать вывод об отсутствии у настойки и экстракта горца Вейриха алергизирующих и иммунотоксических свойств.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты диссертации

1. Комплекс флавоноидов, выделенный из многолетнего растения горец Вейриха, в лекарственной форме экстракта сухого обладает выраженными капилляроукрепляющими свойствами. На рекомендуемых для оценки функционального состояния капилляров экспериментальных моделях экстракт горца Вейриха понижает проницаемость и ломкость капилляров кожи как при профилактическом, так и терапевтическом применении. Защитный эффект у него выражен сильнее, чем у фармакопейных препаратов рутина и кверцетина, которые эффективны не на всех использованных моделях [1, 2].
2. Настойка горца Вейриха спиртовая в эквивалентной дозе оказывает капилляроукрепляющее действие, несколько менее выраженное по сравнению с экстрактом. При профилактическом введении защитный эффект настойки на проницаемость капилляров проявляется, подобно рутину и кверцетину, не по всем использованным тестам, а только на моделях с использованием серотонина и брадикинина в дозе 1,5 мл и гистамина, серотонина и брадикинина в дозе 3 мл. В то же время настойка горца Вейриха (1,5 мл) высокоэффективна при применении в период восстановления (после отмены авитаминозной диеты) — статистически значимо уменьшает проницаемость и ломкость, а препарат сравнения рутин в этих условиях достоверно влияет только на ломкость капилляров [1, 2].
3. Экстракт горца Вейриха, вводимый белым крысам в дозе 25 мг/кг в течение 30 суток до внешнего гамма-облучения в сублетальной дозе 6 Гр замедляет (частично предупреждает) развитие радиационных нарушений сократительных свойств миокарда и гемодинамики, а также нейрогуморальной регуляции сердечно-сосудистой системы [5, 6].
4. Экстракт и настойка горца Вейриха и препарат сравнения рутин обладают антиоксидантными и аскорбат-сберегающими свойствами. Антиокислительное действие их обусловлено преимущественно антирадикальной активностью, в то время как у кверцетина преобладают хелатирующие свойства. Аскорбатсберегающее действие экстракта горца Вейриха сопоставимо с аналогичным эффектом рутина и превосходит эффект кверцетина [3].
5. Экстракт и настойка горца Вейриха при однократном введении в дозах 15000 мг/кг и 144,9 мл/кг, соответственно, не токсичны для крыс и мышей. Испытанные дозы были максимальными с учетом допустимого количества жидкости, вводимой в желудок. Различий в половой и видовой резистентности не выявлено. Экстракт и настойка горца Вейриха не оказывают токсического действия при 3-месячном введении внутрь белым крысам в дозах до 60 мг/кг,

превышающих рекомендуемую терапевтическую 20-кратно. Изучаемые препараты не проявляют кумулятивных свойств при курсовом применении ( $1/10$  доз препаратов, примененных в остром эксперименте). Изучаемые вещества не индуцировали формирование гиперчувствительности по замедленному или немедленному типу у белых мышей и, следовательно, не обладают аллергизирующим действием. Экстракт и настойка горца Вейриха не проявляют иммунотоксических свойств по критериям, характеризующим антибактериальные свойства сыворотки крови, состояние гуморального и клеточного иммунитета в 4-месячном эксперименте [4, 6].

### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

1. Результаты исследований экстракта горца Вейриха включены в материалы, представленные в Комитет по науке и технологиям при Совете Министров Республики Беларусь для регистрации авторских прав на способ получения субстанции. Получен патент на изобретение «Способ получения суммы флавоноидов, обладающих Р-витаминной активностью», № 5575 Республики Беларусь, С1, авторы: А.С. Захаревский, З.П. Кузнецова, В.М. Царенков, В.А. Стельмах, А.Л. Левашкевич, М.В. Гаврилов, А.И. Дидоренко, А.С. Богдан, А.М. Жуков, А.Д. Мурашко, Л.А. Мелентович; № а 19980688; заявка 1998.07.20, опубликован 2003.06.23.
2. Результаты проведенных исследований составили основу отчета о доклинических испытаниях экстракта горца Вейриха, представленных в Фармакологический комитет на получение разрешения на проведение клинических испытаний нового лекарственного средства – таблеток «Горвэкс», рекомендуемого для профилактики и лечения функциональных нарушений кровеносных капилляров. Получено разрешение Министерства здравоохранения на проведение клинических испытаний данного препарата.
3. По результатам проведенных исследований подготовлена и передана в ОАО «Белмедпрепараты» нормативно-техническая документация на лекарственный препарат «Настойка горца Вейриха» для получения разрешения на проведение клинических испытаний и последующей организации этих испытаний.
4. Результаты проведенных исследований включены во временные фармакопейные статьи на траву, экстракт, настойку горца Вейриха и таблетки «Горвэкс».

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи в научных журналах

1. Жуков А.М., Захаревский А.С., Мелентович Л.А., Семененя И.Н., Кузнецова З.П. Капилляроукрепляющие свойства комплекса флавоноидов горца Вейриха // Рецепт. — 2006. — № 5. — С. 124—128.
2. Захаревский А.С., Жуков А.М., Миклевич А.В., Прихожий С.С., Юшкевич Е.В., Кузнецова З.П. Влияние экстракта и настойки горца Вейриха на резистентность капилляров // Рецепт. — 2006. — № 5. — С. 37—39.
3. Жуков А.М., Захаревский А.С., Костюк В.А., Шадурская С.К. Антиоксидантные свойства комплекса флавоноидов горца Вейриха // Медицинская панорама. — 2006. — № 6. — С. 69—71.

### Статьи в сборниках

4. Жуков А.М. Фармако-токсикологическая оценка новых лекарственных препаратов на основе полифенольного комплекса горца Вейриха // Сб. науч. трудов / Респ. науч.-практ. центр гигиены. — Минск, 2005. — Вып. 6: Здоровье и окружающая среда. — С. 55—60.

### Материалы конференций

5. Богдан А.С., Бондарук А.М., Жуков А.М., Кузнецова З.П., Стельмах В.А. Использование биологически активных веществ растительного происхождения в роли пищевых добавок и препаратов полифункционального назначения // Актуальные вопросы медицинской реабилитации населения, пострадавшего вследствие Чернобыльской катастрофы: материалы научно-практич. конф., посвященной 10-летию Республ. диспансера радиационной медицины — Минск, 1997. — С.42—43.
6. Жуков А.М., Ушков А.А., Степанищева В.А., Ивко Н.А., Русяев Л.В. Фармакологические свойства и токсичность нового лекарственного препарата рутиноподобного действия // Актуальные проблемы научного обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения и пути их реализации: сб. материалов объединенного Пленума Респ. проблемн. комиссии по гигиене и Правления науч. общества гигиенистов; редкол.: В.П. Филонов [и др.]. — Минск, 2000. — С. 102—103.

### Патенты

7. Способ получения суммы флавоноидов, обладающих Р-витаминной активностью: пат. 5575 Респ. Беларусь, С1, А 61К 35/78 / А. С. Захаревский, З. П. Кузнецова, В. М. Царенков, В. А. Стельмах, А. Л. Левашкевич, М. В. Гаврилов, А. И. Дидоренко, А. С. Богдан, А. М. Жуков, А. Д. Мурашко, Л. А. Мелентович; заявитель АО «Белмедпрепараты», Кооп. «Биогель». — № а 19980688; заявл. 1998.07.20; опубл. 2003.12.30 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. — 2003. — № 4. — С. 114.

## РЭЗІЮМЭ

**Жукаў Андрэй Міхайлавіч**

### **Фармакалагічныя ўласцівасці і таксічнасць комплексу біяфлаваноідаў горца Вейрыха — экстракту сухога і настойкі спіртавой**

**Ключавыя словы:** біяфлаваноіды, горац Вейрыха, руцін, кверцетін, антыаксіданты, перакіснае акісленне ліпідаў, капіляраўмацавальныя ўласцівасці, гіпавітаміноз Р, сасудзістая пранікальнасць.

**Аб’ект даследавання:** экстракт горца Вейрыха сухі і настойка горца Вейрыха спіртавая.

**Мэта працы:** эксперыментальнае фармака-таксікалагічнае абгрунтаванне лекавага прымянення фітапрэпаратаў на аснове флаваноідаў горца Вейрыха ў форме спіртавой настойкі і сухога экстракту.

**Метады даследавання.** Даследаванні выкананы на розных відах лабараторных жывёл (мышы, пацукі, марскія свінкі) з выкарыстаннем фармакалагічных, фізіялагічных, імуналагічных, гематалагічных, біяхімічных і патамарфалагічных метадаў даследаванняў, якія прымяняюцца ў эксперыментальнай медыцыне.

**Атрыманые вынікі і іх навізна:** упершыню дадзена эксперыментальнае абгрунтаванне лекавага прымянення комплексу флаваноідаў горца Вейрыха (экстракт сухі і настойка спіртавая). Прадэманстравана здольнасць новых субстанцый змяншаць павышаную, пры авітамінозе Р, пранікальнасць і ломкасць капіляраў. Устаноўлена наяўнасць у прэпаратаў горца Вейрыха антыаксідантных уласцівасцей, абумоўленых прамым антырадыкальным, а таксама аскарбат-зберагаючым дзеяннем. Выяўлена радыемадыфікавальная здольнасць экстракту горца Вейрыха, праяўляемая ў змяншэнні радыяцыйна-індуцыраваных функцыянальных парушэнняў сардэчна-сасудзістай сістэмы. Даказана таксікалагічная і біялагічная бяспека прэпаратаў горца Вейрыха пры аднакратным і курсавым прымяненні.

Вынікі праведзеных даследаванняў выкарыстаны для падрыхтоўкі нарматыўна-тэхнічнай дакументацыі ў Фармакалагічны камітэт Міністэрства аховы здароўя Рэспублікі Беларусь. Атрыманы дазвол на правядзенне клінічных выпрабаванняў экстракту горца Вейрыха ў форме таблетаў пад назвай «Горвэкс».

**Галіна прымянення:** фармакалогія, клінічная фармакалогія, тэрапія.

## РЕЗЮМЕ

**Жуков Андрей Михайлович**

### **Фармакологические свойства и токсичность комплекса биофлавоноидов горца Вейриха — экстракта сухого и настойки спиртовой**

**Ключевые слова:** биофлавоноиды, горец Вейриха, рутин, кверцетин, антиоксиданты, перекисное окисление липидов, капилляроукрепляющие свойства, гиповитаминоз Р, сосудистая проницаемость.

**Объект исследования:** экстракт горца Вейриха сухой и настойка горца Вейриха спиртовая.

**Цель работы:** экспериментальное фармако-токсикологическое обоснование лекарственного применения фитопрепаратов на основе флавоноидов горца Вейриха в форме спиртовой настойки и сухого экстракта.

**Методы исследования.** Исследования выполнены на различных видах лабораторных животных (мыши, крысы, морские свинки) с использованием фармакологических, физиологических, иммунологических, гематологических, биохимических и патоморфологических методов исследований, применяемых в экспериментальной медицине.

**Полученные результаты и их новизна:** впервые дано экспериментальное обоснование лекарственного применения комплекса флавоноидов травы горца Вейриха (экстракт сухой и настойка спиртовая). Продемонстрирована способность новых субстанций уменьшать повышенную, при авитаминозе Р, проницаемость и ломкость капилляров. Установлено наличие у препаратов горца Вейриха антиоксидантных свойств, обусловленных прямым антирадикальным, а также аскорбат–сберегающим действием. Выявлена радиомодифицирующая способность экстракта горца Вейриха, проявляемая в уменьшении радиационно-индуцированных функциональных нарушений сердечно-сосудистой системы. Доказана токсикологическая и биологическая безопасность препаратов горца Вейриха при однократном и курсовом применении.

Результаты проведенных исследований использованы для подготовки нормативно-технической документации в Фармакологический комитет Министерства здравоохранения Республики Беларусь. Получено разрешение на проведение клинических испытаний экстракта горца Вейриха в форме таблеток под названием «горвэкс».

**Область применения:** фармакология, клиническая фармакология, терапия.

## SUMMARY

**Zhukov Andrey Mihajlovich**

### **Pharmacological properties and toxicity of Polygonum Weyrichii bioflavonoids complex — dry extract and spirituous tinctures**

**Keywords:** bioflavonoids, Polygonum Weyrichii, routines, quercetinum, antioxidants, peroxide oxidation of lipids, capillar fortifying properties, hypovitaminosis P, vascular permeability.

**Object of research:** dry extract of Polygonum Weyrichii and spirituous tincture of Polygonum Weyrichii.

**Purpose of research:** an experimental pharmacological and toxicological substantiation of medicinal application of phytopreparations on the basis of Polygonum Weyrichii flavonoids in the form of spirituous tinctures and dry extract.

**Methods of research.** Researches are executed on various kinds of laboratory animals (mice, rats, cavies) with the use of pharmacological, physiological, immunological, hematological, biochemical and pathomorphologic methods of the researches used in experimental medicine.

**Received results and their scientific novelty:** for the first time the experimental substantiation of medical use of flavonoids complex of Polygonum Weyrichii plant (dry extract and spirituous tinctures) has been given. Ability of new substances to reduce increased permeability and fragility of capillaries of organism suffering from avitaminosis P has been shown. Presence of antioxidative properties causing direct antiradical as well as ascorbate-saving action in preparations of Polygonum Weyrichii has been detected. Radiomodifying ability of an extract of Polygonum Weyrichii, shown in reduction of the radioactively-induced functional infringements of cardiovascular system has been revealed. Toxicological and biological safety of preparations of Polygonum Weyrichii is proved at single time and continuous use.

Results of the lead researches were used for preparation of technical documentation for Pharmacological committee of Ministry of Health of the Republic of Belarus. The sanction to carry out clinical tests of extract of Polygonum Weyrichii in the form of tablets under the name «Horwex» has been received.

**Scope of use:** pharmacology, clinical pharmacology, therapy.