

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ВЕДУЩЕЕ ВЫСШЕЕ УЧЕБНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 615.322:615.37:616-003.96

Ефремова Ирина Николаевна

**РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОГО АДАПТОГЕННОГО
СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ФИТОПРЕПАРАТОВ ЖЕНЬШЕНЯ,
ЭХИНАЦЕИ И СОЛОДКИ**

14. 00. 25 – фармакология, клиническая фармакология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Минск 2004

Работа выполнена в Белорусском государственном медицинском университете

Научный руководитель: доктор медицинских наук, заведующий кафедрой фармакологии Белорусского государственного медицинского университета, профессор **Дубовик Б.В.**

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии Гродненского государственного медицинского университета, профессор **Бушма М.И.**

доктор медицинских наук, профессор кафедры экологической медицины и радиобиологии Международного государственного экологического университета *им. А.Д. Сахарова* **А.И. Хоменко**

Оппонирующая организация Гродненский институт биохимии НАН РБ

Защита состоится «19» «мая» 2004 г. в 15 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.07 при Белорусском государственном медицинском университете [220016, г. Минск, пр. Дзержинского, 83, тел. 272-55-98]

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Белорусского государственного медицинского университета

Автореферат разослан «15» «апреля» 2004 г.

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук,
доцент

М.К. Кевра

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации

В современную эпоху молекулярной медицины и фармакологии доминирующая роль в стратегии изыскания новых лекарственных средств принадлежит биоорганическим направлениям синтетической химии, наряду с выделением активных действующих начал из растительного и животного сырья. Вместе с тем, сохраняет свою актуальность и разработка новых лекарственных средств на основе растительных источников в связи с комплексным или уникальным действием, которое они нередко оказывают на организм человека. По определению экспертов ВОЗ композиционные фитопрепараты составляют неистощимый ресурс современной фармакологии, в котором прогнозируется создание не менее 1000 новых лекарственных средств.

На протяжении последнего полувека особенно интенсивно изучаются растительные препараты, обладающие адаптогенными и иммуностимулирующими свойствами. В этом направлении в последнее время отмечается мощный всплеск исследований в связи с новыми задачами фармакологии по расширению границ адаптации человека, повышению его функциональных ресурсов, работоспособности, качества жизни и устойчивости к действию факторов внешней среды.

Среди лекарственных средств, обладающих адаптогенными свойствами, наибольшее распространение получили препараты женьшеня, уникальные свойства которого [Брехман И.И., 1957; Дардымов И.В. 1976; Huang K.C., 1993] обуславливают его высокий и устойчивый спрос на всех континентах. В Республике Беларусь существует несколько агропромышленных предприятий, специализирующихся на выращивании лекарственных растений, в том числе и женьшеня (*Panax ginseng* C.A. Meyer). Учитывая массовое распространение импортных препаратов женьшеня в Беларуси, актуальной проблемой фармакологии и отечественной лекарственной индустрии является создание адаптогенных средств расширенного спектра действия на основе комбинаций женьшеня с другими ценнейшими лекарственными растениями, в частности, эхинацеей и солодкой, обладающих иммуномодулирующими, противовоспалительными и иными видами биологической активности (Самородов В.Н. и др., 1996; Бондарев А.И. и др., 1995; Letchamo W. e.a., 1999), которые предположительно могут дополнить или усилить адаптогенный потенциал женьшеня.

Связь работы с крупными научными программами

Работа выполнена в рамках Государственной научно-технической программы 04.12 «Лекарственные средства» (1996-2000 гг.), номер государственной регистрации 19981064.

Цель исследования

Целью исследования являлось экспериментальное фармакологическое обоснование возможности создания комбинированного иммуноадаптогенного средства на основе фитопрепаратов женьшеня, эхинацеи и солодки.

Задачи исследования

1. Изучить на различных экспериментальных моделях иммуномодулирующие, стресспротекторные, антиульцерогенные, противовоспалительные свойства фитопрепаратов женьшеня, эхинацеи и солодки при изолированном и комбинированном применении.
2. На основании полученных данных обосновать оптимальный количественный состав комбинированного препарата, обладающего иммуноадаптогенными свойствами.
3. Изучить токсикологическую безопасность комбинированного препарата в качестве лекарственного средства.

Объект и предмет исследования

Объект исследования: корень женьшеня обыкновенного (*Panax ginseng* С.А. Meyer), трава эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea*), корень солодки голой (*Glycyrrhiza glabra*), их субстанции, экстракты, комбинации и лекарственные формы.

Предмет исследования: фармакологические и токсикологические свойства фитопрепаратов женьшеня, эхинацеи, солодки и их комбинаций.

Методология и методы проведения исследования

При проведении исследования использовали фармакологические, иммунологические, гематологические, цитохимические, биохимические, патоморфологические методы, применяемые в экспериментальной фармакологии и медицине. Полученные количественные данные обработаны

параметрическими и непараметрическими методами вариационной статистики с использованием программы «STATISTICA».

Научная новизна полученных результатов

Впервые получена совокупность экспериментальных данных, обосновывающих создание комбинированного лекарственного средства на основе субстанций корня женьшеня (*Panax ginseng* C.A. Meyer), травы эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea*) и корня солодки голой (*Glycyrrhiza glabra*), обладающего расширенным спектром фармакологической активности, включающим иммуностимулирующие, стресспротекторные, антиульцерогенные и противовоспалительные свойства.

Впервые установлено, что растительные ингредиенты данной комбинации не проявляют антагонизма по критериям стресспротекторной, противоязвенной и противовоспалительной активности, а по влиянию на специфический и неспецифический иммунитет обеспечивают эффекты потенцирования.

Впервые показано, что комбинированный препарат на основе женьшеня, эхинацеи и солодки обладает высоким терапевтическим индексом и отвечает требованиям токсикологической безопасности, предъявляемой к лекарственным средствам.

Практическая значимость полученных результатов

Результаты исследований являются экспериментальным обоснованием эффективности и безопасности комбинированного лекарственного средства на основе порошка корня женьшеня обыкновенного, травы эхинацеи пурпурной и корня солодки голой, которое зарегистрировано Министерством Здравоохранения Республики Беларусь в качестве лекарственного препарата под названием «тримунал» и выпускается фармацевтической промышленностью.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Комбинированный фитопрепарат, содержащий субстанции корней женьшеня обыкновенного, травы эхинацеи пурпурной и солодки голой обеспечивает поливалентный фармакологический эффект по критериям иммуностимулирующего, стресспротекторного, антиульцерогенного, противовоспалительного действия. В составе комбинированного средства

фитопрепараты женьшеня, эхинацеи и солодки не обладают взаимным антагонизмом, а по влиянию на гуморальный иммунитет и фагоцитоз обеспечивают эффект потенцирования.

2. Комбинированный фитопрепарат на основе корней женьшеня, солодки и травы эхинацеи является малотоксичным для животных при однократном введении внутрь в дозах до 30 г/кг и может быть отнесен к IV классу опасности. При хроническом 3-х месячном введении внутрь в дозах, превосходящих рекомендуемые в 5-15 раз, комбинированный препарат является нетоксичным и потенциально безвредным.
3. По совокупности фармакологических свойств комбинированный растительный препарат на основе женьшеня, эхинацеи и солодки является иммуноадаптогенным средством широкого спектра биологического действия.

Личный вклад соискателя

Автором самостоятельно выполнены все экспериментальные фармакологические и токсикологические исследования, самостоятельно проведен теоретический и статистический анализ результатов, сформулированы научные положения и выводы диссертации. Патоморфологические исследования выполнены при консультативном участии кандидата медицинских наук, доцента Неровни А.М.

Апробация результатов диссертации

Результаты проведенных исследований, составляющих предмет диссертации, представлены в виде докладов и обсуждены на V Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 1998), Пироговской межвузовской научной конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2000), Пленуме правления Белорусского общества терапевтов (Брест, 2000), I и II научных сессиях Белорусского государственного медицинского университета (Минск, 1999, 2000), Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы современной медицины» (Минск, 2000), 5-ом Международном съезде «Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения» (Санкт-Петербург, 2001), Республиканской научно-практической конференции «Фармация Беларуси на рубеже веков» (Минск, 2001), Юбилейной научно-практической конференции, посвященной 80-летию Гомельской областной детской клинической больницы «Медико-

социальные аспекты здоровья детского населения, проживающего в условиях экологического риска» (Гомель, 2001), научно-практической конференции молодых ученых «Фундаментальные и прикладные проблемы радиобиологии и радиоэкологии» (Минск, 2002), Международной конференции «Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы» (Минск, 2003), Юбилейной научной конференции, посвященной 40-летию ЦНИЛ БГМУ «Медицина на рубеже веков» (Минск, 2003).

Опубликованность результатов

По теме диссертации опубликовано 17 работ, в которых изложены основные положения и материалы, отражающие решение цели и задач диссертационного исследования. Из них: 2 статьи в журнале «Здравоохранение», 2 статьи в рецензируемых сборниках научных статей, 13 тезисов докладов в материалах международных, республиканских съездов, научных сессий, конференций. Общее количество страниц опубликованных материалов – 45.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из общей характеристики работы, аналитического обзора литературы по теме, описания материалов и методов исследования, изложения полученных результатов и их обсуждения (5 глав), заключения и списка литературы, включающего 211 источников. Работа изложена на 109 страницах, включая 30 таблиц и 6 иллюстраций (всего 19 стр.).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Опыты проведены на 622 рандомбредных и линейных крысах и 255 рандомбредных и линейных мышах, полученных из питомника «Рапполово» (г. Санкт-Петербург) или воспроизведенных в экспериментально-биологической клинике ЦНИЛ БГМУ (г. Минск).

Изучены следующие фитопрепараты: порошок сухого корня женьшеня обыкновенного, порошок травы (цветков, листьев и стеблей) эхинацеи пурпурной, порошок сухого корня солодки голой и их лиофилизированные водно-спиртовые экстракты. Комбинированные препараты применяли в виде смесей, содержащих порошок или экстракты сухого корня женьшеня, травы

эхинацеи, корня солодки в эквивалентных количествах. Препараты женьшеня стандартизировали по содержанию гинзенозидов (ГФ XI), препараты эхинацеи – по содержанию оксикоричных кислот (в порошке – 2,3%, в экстракте – 6,5%), препараты солодки – по содержанию глицирризиновой кислоты (в порошке – 6%, в экстракте 28%). Препараты готовились, анализировались и поставлялись Научно-фармацевтическим центром ОАО «Белмедпрепараты» (г. Минск).

Препараты женьшеня и эхинацеи дозировали по массе стандартизированного порошка или по эквивалентной массе экстракта (с учетом концентрации гинзенозидов или оксикоричных кислот). Дозу солодки рассчитывали на массу глицирризиновой кислоты в порошке или экстракте. Изучаемые препараты вводили животным интрагастрально в виде суспензий на 1%-ном крахмальном геле в адекватном объеме при помощи металлического зонда с оливой. Для введения препаратов использовали шприцы с точностью дозирования 0,01-0,02 мл. Дозы рассчитывали в мг/кг массы тела животного. В качестве плацебо применяли 1%-ный крахмальный гель.

Испытания препаратов женьшеня, эхинацеи и солодки и их комбинаций в качестве модуляторов специфического иммунитета проведены в тесте продукции антителообразующих клеток (АОК) в селезенке мышей СВА при Т-зависимом иммунном ответе (Cunningham A.J., 1965). Влияние препаратов на фагоцитарную активность нейтрофилов крови человека *in vitro* и мышей *ex vivo* проведено в тестах поглощения *Staphylococcus aureus* и восстановления нитросинего тетразолия (Лабинская Н.С., 1978; Бажора Ю.И. и др., 1981).

Стресспротекторные свойства препаратов исследовали в опытах на крысах на модели 18-часовой иммобилизации (Вальдман А.В. 1977). Выраженность проявлений стресса оценивали по снижению относительной массы тимуса, брыжеечных лимфоузлов, количества ядросодержащих клеток тимуса, увеличению массы надпочечников, падению содержания в них аскорбиновой кислоты (Farmer C.J., Abt O.F., 1936), а также по индукции острых стрессогенных язв желудка (Davenport J., 1985).

Противоязвенная активность комбинированного препарата женьшеня с солодкой и эхинацеей изучена в опытах на крысах Вистар на моделях язвенных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, индуцированных цистеамином, индометацином и этанолом (Czabo S., 1981; Czabo S., Neumeuer J.L., 1981; Saton H. e.a., 1981; Robert A. e.a., 1979).

Противовоспалительные свойства фитокомплекса изучены в опытах на крысах на моделях острого карагенинового воспаления лапы (Winter С.А. е.а., 1962) и экспериментального ляписного серозита (Либерман С.С. и др., 1972).

Острая токсичность и переносимость комбинации женьшеня, эхинацеи и солодки изучена в экспериментах на мышах при 14-дневном наблюдении, хроническая токсичность – в опытах на крысах при 3-х месячном ежедневном интрагастральном введении. В ходе опытов оценивали интегральные показатели состояния животных (выживаемость, прирост массы тела, потребление корма и воды, поведение и неврологический статус, общее состояние, ректальная температура), проводили физиологические исследования (тест «открытое поле», спонтанная двигательная активность, исследовательский рефлекс, электрокардиография), гематологические исследования (гематокрит, содержание гемоглобина, количество эритроцитов, цветовой показатель, скорость оседания эритроцитов, средний объем эритроцитов, количество лейкоцитов, лейкоцитарная формула), биохимические исследования сыворотки крови (общий белок и белковые фракции, общий холестерин сыворотки крови, содержание глюкозы в сыворотке крови, активность щелочной фосфатазы и трансаминаз, уровень мочевины в сыворотке крови). По окончании эксперимента животных подвергали эвтаназии для патоморфологического изучения.

Результаты исследований обрабатывали статистически с применением параметрических и непараметрических методов анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Иммуномодулирующие свойства фитопрепаратов

Специфический иммунитет. Влияние фитопрепаратов на специфический иммунитет оценивали по количеству антителообразующих клеток в селезенке мышей линии СВА на 5-е сутки после внутрибрюшинного введения эритроцитов барана ($2 \cdot 10^8$). Препараты женьшеня (25, 50, 100 мг/кг), эхинацеи (30, 100, 300 мг/кг), солодки (3, 10, 30 мг/кг) и их комбинации вводили 1 раз в сутки в желудок на протяжении 4-х дней, начиная со дня иммунизации. Контрольные животные получали 1%-ный крахмальный гель.

Установлено, что при раздельном введении фитопрепараты женьшеня, эхинацеи и солодки обладают отчетливой иммуностимулирующей

активностью по тесту генерации АОК с экстремумом эффекта в области промежуточных значений доз в границах испытанных диапазонов. Эффект насыщения по данному тесту, который достигается при дозах среднего уровня, не удастся превысить дальнейшим 2-кратным (женьшень) или 3-кратным (эхинацея, солодка) повышением дозы каждого компонента. При комбинированном применении женьшеня, эхинацеи и солодки в оптимальных дозах (50+100+10 мг/кг, соответственно) достигается существенно больший иммуностимулирующий эффект ($P < 0,05$), чем при введении препаратов в тех же дозах в отдельности (рис. 1).

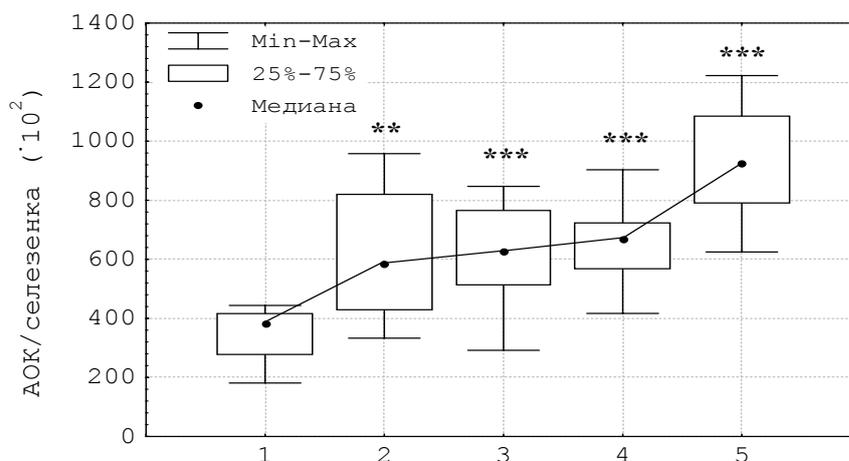


Рис. 1. Влияние женьшеня, эхинацеи, солодки и их комбинации на количество АОК в селезенке мышей, иммунизированных эритроцитами барана. 1 – плацебо, 2 – женьшень, 50 мг/кг; 3 – эхинацея, 100 мг/кг; 4 – солодка, 10 мг/кг; 5 – женьшень+эхинацея+солодка, 50+100+10 мг/кг, соответственно. **– $P < 0,01$; ***– $P < 0,001$ в сравнении с контролем. Диаграмма иллюстрирует изменение иммунного ответа популяции при действии фитопрепаратов и сдвиги интерквартильного распределения отклика в группах.

Фагоцитоз. Влияние фитопрепаратов на фагоцитарную активность нейтрофилов изучено в тестах поглощения *Staphylococcus aureus* и восстановления нитросинего тетразолия *in vitro*. Установлено, что экстракты женьшеня, эхинацеи и солодки, как и их комбинации, являются эффективными стимуляторами фагоцитарной функции нейтрофилов при 30-минутной экспозиции с клетками крови человека *in vitro*, а также в опытах *ex vivo* при 6-кратном интрагастральном введении мышам линии $C_{57}Bl_6$. Стимулирующий эффект препаратов проявляется в обоих случаях в широком диапазоне концентраций (от 3 до 3000 мг/л) и доз (10-300 мг/кг), не обнаруживая высокой крутизны дозовой зависимости эффекта.

Характерно, что все три препарата интенсивно стимулируют фагоцитарную активность нейтрофилов *in vitro* при ее исходно низком уровне и, напротив, слабее влияют на эту функцию при ее исходно высокой активности (рис. 2). При сочетанном применении наблюдается аналогичная закономерность, причем эффекты комбинации превышают эффекты индивидуальных препаратов в изоэтичных концентрациях ($P < 0,05$).

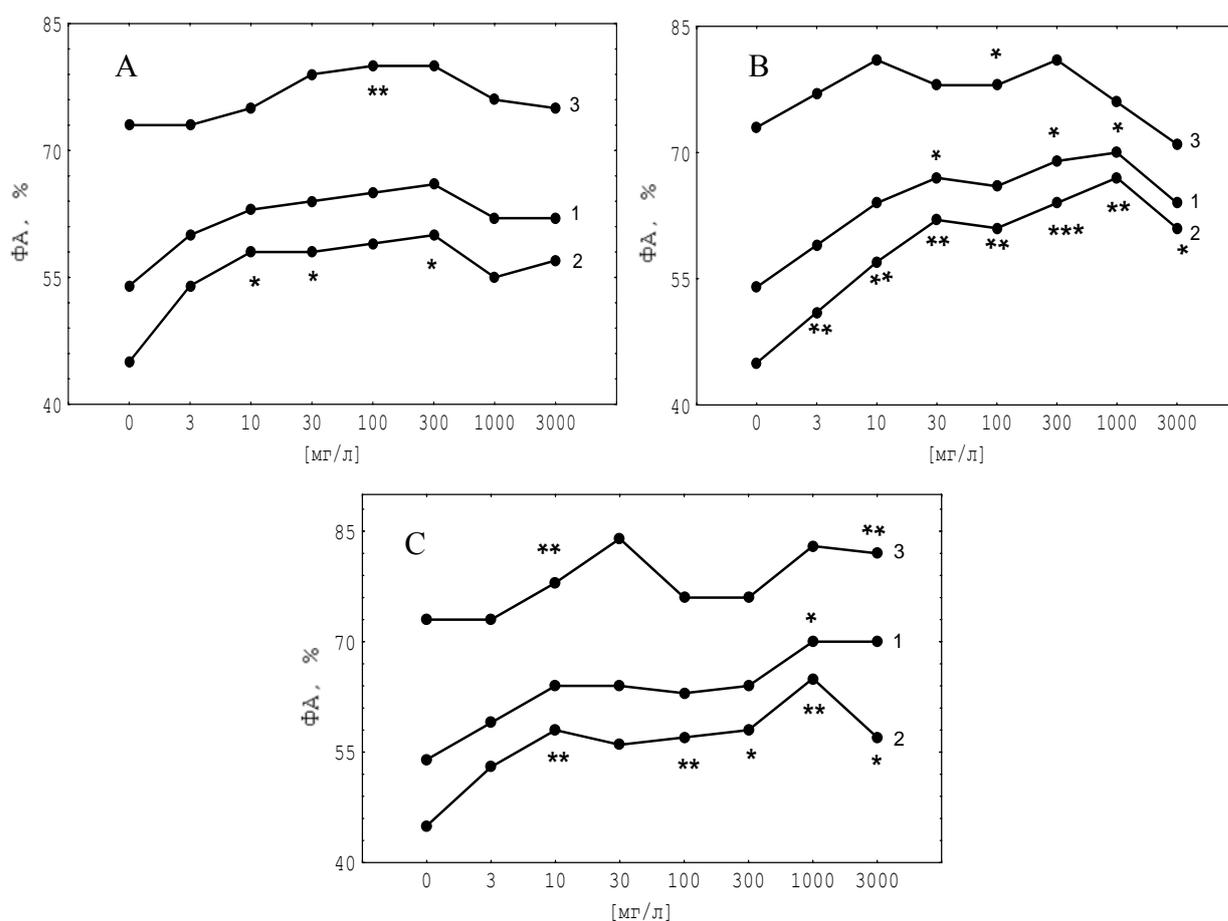


Рис. 2. Влияние женьшеня (А), солодки (В) и эхинацеи (С) на фагоцитарную активность нейтрофилов крови человека *in vitro* в зависимости от исходного уровня фагоцитоза. 1 – все доноры, n=10; 2 – доноры с ФА < 50%, n=5; 3 – доноры с ФА > 50%, n=5. * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ в сравнении с контролем. ФА – процент фагоцитирующих клеток.

В опытах на мышах *ex vivo* установлено, что комбинированное введение внутрь препаратов женьшеня, эхинацеи и солодки в течение 6 дней в дозах промежуточного уровня (50+100+30 мг/кг, соответственно) обеспечивает стабильное повышение фагоцитарной активности нейтрофилов крови в 2-4 раза ($P < 0,05$) по сравнению с оптимумом эффекта той же направленности, достигаемым при раздельном применении фитопрепаратов (рис. 3).

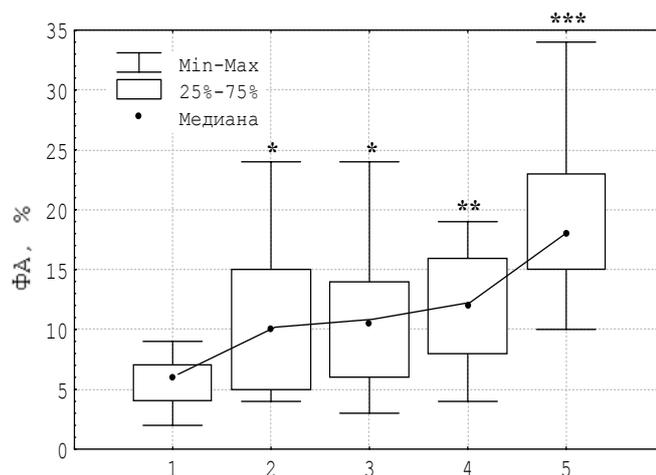


Рис. 3. Влияние 6-кратного интрагастрального введения женьшеня, эхинацеи, солодки и их комбинации на фагоцитарную активность нейтрофилов крови у мышей $C_{57}Bl_6$. 1 – плацебо; 2 – женьшень, 50 мг/кг; 3 – эхинацея, 100 мг/кг; 4 – солодка, 30 мг/кг; 5 – их комбинация в дозах 50+100+30 мг/кг, соответственно. * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ в сравнении с плацебо. ФА – процент фагоцитирующих клеток.

Проведенные исследования позволяют заключить, что комбинация женьшеня с эхинацеей и солодкой может являться эффективным средством стимуляции и коррекции гуморального иммунитета и фагоцитоза.

Стресспротекторные свойства фитопрепаратов

Стресспротекторные свойства женьшеня, эхинацеи, солодки и их комбинаций изучали на модели стресса, индуцируемого фиксацией крыс на спине в течение 18 часов. Предварительные испытания показали, что данная экспериментальная модель обладает адекватной разрешающей способностью для оценки защитных свойств растительных адаптогенов по классическим показателям острой реакции напряжения.

Установлено, что женьшень при предварительном 5-дневном введении один раз в сутки до теста в дозах 25, 50 и 100 мг/кг (в виде суспензии порошка сухих корней) обладает выраженной адаптогенной активностью, значительно ослабляя отрицательные органические и метаболические проявления стресса, включая тимико-лимфотическую инволюцию, активацию коры надпочечников и язвенные поражения слизистой желудка.

Экстракт эхинацеи в дозовом диапазоне 30, 100, 300 мг/кг при аналогичных условиях испытаний также оказывает антистрессорное действие по ряду показателей, в том числе и критерию ульцерогенеза.

Препараты солодки в интервале доз 10, 30, 100 мг/кг обладают в целом менее выраженным стресспротекторным действием, но эффективны по критерию профилактики стрессорных язв желудка ($P < 0,05$).

При совместном применении фитопрепаратов в различных дозовых диапазонах антистрессорная эффективность женьшеня, эхинацеи и солодки сохраняется без декремента и близка к эффекту насыщения, достигаемому при оптимальных дозировках индивидуально назначаемых адаптогенов. Среди изученных комбинаций предпочтительным является сочетание женьшеня, эхинацеи и солодки в дозах среднего уровня (50+100+30 мг/кг, соответственно), которое наиболее приемлемо и по иммунотропному эффекту (рис. 4).

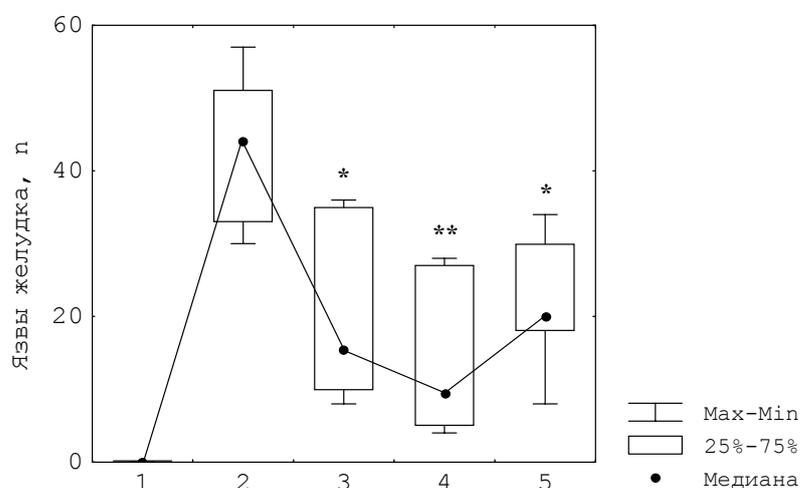


Рис. 4. Влияние 5-дневного профилактического введения фитоконплекса женьшеня, эхинацеи и солодки на количество стрессорных язв желудка у крыс. 1 – интактные животные; 2 – плацебо+стресс; 3, 4, 5 – комбинации женьшеня, эхинацеи и солодки в дозах 25+30+10, 50+100+30, 100+300+100 мг/кг (соответственно)+стресс; * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ в сравнении с группой плацебо+стресс.

Таким образом, фитоконплекс на основе женьшеня, эхинацеи и солодки может являться эффективным средством профилактики отрицательных проявлений стресса, в том числе стрессиндуцируемых эрозивно-язвенных поражений желудка – одного из наиболее часто встречающихся видов стрессорной патологии.

Антиульцерогенные свойства фитоконплекса

Противоязвенный эффект фитоконплекса изучен в экспериментах на крысах Вистар на моделях экспериментальных язв желудка и

двенадцатиперстной кишки, индуцируемых классическими ulcerogenами – цистеамином, индометацином и абсолютным этанолом.

Фитокомплекс испытывали в композициях, содержащих потенциальные антиульцерогенные компоненты – порошок корня женьшеня и экстракт солодки (в расчете на глицирризиновую кислоту) в варьирующих соотношениях (25+15, 50+10 и 50+30 мг/кг, соответственно). Доза эхинацеи (100 мг/кг) в композициях была постоянной.

Результаты исследований показали, что на всех экспериментальных моделях комбинация фитопрепаратов в дозах 50+100+30 мг/кг при однократном и 7-дневном предварительном введении оказывает гастропротекторное действие, обеспечивая статистически достоверное снижение частоты и тяжести проявления эрозивно-язвенных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки. Эффект комбинации, как правило, зависит от количества солодки и максимален в данных условиях при дозе 30 мг/кг по этой компоненте в расчете на глицирризиновую кислоту (табл. 1).

Таблица 1

Влияние ежедневного введения фитокомплекса на развитие хронического язвенного гастродуоденита у крыс, индуцированного цистеамином

Группы n=15	Дозы мг/кг	Частота случаев обнаружения язв		Тяжесть поражений (шкала 0-3 M±m)	Смерт- ность %
		Абсолютное число (%)	Индекс защиты		
Контроль	Плацебо	12/15 (80)	—	2,08±0,29	47
Фитокомплекс	50+100+30 ¹⁾	7/15 (47)	1,70 ⁺	1,05±0,24*	20 ⁺
То же	25+100+15	9/15 (60)	1,33	1,27±0,21*	27 ⁺
«	50+100+10	11/15 (73)	1,09	1,57±0,24°	33

Полученные результаты позволяют заключить, что фитокомплекс на основе женьшеня, эхинацеи и солодки является перспективным для применения в качестве гастропротекторного препарата при лекарственных и токсических поражениях слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта,

Примечание. В табл. 1 и 2: ¹⁾ дозы женьшеня, эхинацеи и солодки (соответственно); ° – достоверное различие в сравнении с контролем по U-критерию Вилкоксона-Манна-Уитни при P<0,05; * – то же по t-критерию Стьюдента; + – то же по F-критерию Фишера. Аналогичные данные получены с другими ulcerogenами.

а также в качестве средства вспомогательной терапии при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки.

Противовоспалительные свойства фитокомплекса

Исследования на моделях острого карагенинового воспаления лапы у крыс и экспериментального серозита у крыс, индуцированного ирритантным воздействием азотнокислого серебра показали, что комбинация женьшеня, эхинацеи и солодки обладает противовоспалительной активностью, сравнимой с эффектом ацетилсалициловой кислоты в дозе 200 мг/кг, близкой к ЕД₃₀ (табл. 2). Противовоспалительная активность комбинации коррелирует с дозой солодки в расчете на глицирризиновую кислоту.

Таблица 2

Влияние фитокомплекса и ацетилсалициловой кислоты (АСК) на выраженность карагенинового воспаления лапы и ляписного перитонита у крыс

Группы n=7	Дозы мг/кг	Индексы ингибирования, %	
		Карагениновое воспаление	Ляписный перитонит
Фитоком- плекс	50+100+10 ¹⁾	15,4	6,5
	25+100+15	21,1*	16,1°
	50+100+30	29,6*	23,5°
АСК	200	32,1*	25,5°

Результаты исследований позволяют заключить, что фитокомбинация на основе женьшеня, эхинацеи и солодки обладает противовоспалительными свойствами, которые могут иметь значение в комплексном действии препарата.

Токсикологическая безопасность фитокомплекса

Острая токсичность. Изучение токсичности и переносимости фитокомплекса на основе женьшеня, эхинацеи и солодки в весовом соотношении 50/200/15, соответственно (солодка в расчете на глицирризиновую кислоту, другие компоненты – в расчете на сухую массу субстанций), показало, что комбинированный препарат не вызывает гибели мышей при однократном введении внутрь в дозах до 30 г/кг, а в дозе 9 г/кг не

оказывает и выраженного общетоксического действия. При однократном введении в дозах до 30 г/кг фитокомплекс не вызывает отдаленных негативных изменений в поведении и общем состоянии животных, не влияет на прирост массы тела, вегетативные функции, неврологический статус, гемопоэз.

Хроническая токсичность. В экспериментах на крысах показано, что 3-х месячное ежедневное введение фитокомплекса на основе женьшеня, эхинацеи и солодки в указанных выше соотношениях в дозах 20 и 60 мг/кг, превышающих ориентировочно в 5 и 15 раз рекомендуемую терапевтическую дозу для человека, не вызывает нарушений нервно-психического статуса, функционального состояния сердечно-сосудистой, пищеварительной, эндокринной, нервно-мышечной и дыхательной систем. Препарат не влияет на рост и развитие животных, определяемый по динамике нарастания массы тела; не нарушает процессы кроветворения; не изменяет биохимические показатели, характеризующие состояние белкового, липидного и углеводного обмена; не оказывает токсического действия на печень и почки. Результаты патоморфологического исследования свидетельствуют, что фитокомплекс при хроническом введении не вызывает видимых гистоморфологических изменений внутренних органов экспериментальных животных.

Проведенные исследования позволяют заключить, что фитокомплекс не представляет токсической опасности при одноразовом и курсовом введении в рекомендуемых дозах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Комбинированный растительный препарат, содержащий корень женьшеня (*Panax ginseng* C.A. Meyer), траву эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea*) и корень солодки голой (*Glycyrrhiza glabra*) в соотношении 50/200/15, соответственно (солодка в расчете на глицирризиновую кислоту, другие компоненты – в расчете на сухую массу субстанций), обладает расширенным спектром биологического действия – иммуностимулирующим, стресспротекторным, антиульцерогенным и противовоспалительным эффектами, обеспечиваемыми сочетанием индивидуальных фармакологических свойств и совместимостью включенных в комбинацию компонент [1-17].

2. На экспериментальной модели Т-зависимого иммунного ответа по тесту генерации АОК при иммунизации эритроцитами барана и в опытах на

нейтрофилах крови человека (*in vitro*) и мышей (*ex vivo*) по тесту поглощения культуры микробов *Staphylococcus aureus* комбинация женьшеня, эхинацеи и солодки обладает выраженной иммуностимулирующей активностью, превышающей эффект насыщения, обеспечиваемый индивидуально применяемыми ингредиентами [1, 4, 7, 11-13].

3. На экспериментальной модели острого иммобилизационного стресса у крыс, экспериментальных моделях язвенных и эрозивно-язвенных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, индуцируемых цистеамином, индометацином и этанолом (у крыс), экспериментальных моделях острого воспаления (карагениновый отек лапы у крыс, ляписный перитонит у мышей) комбинация женьшеня, эхинацеи и солодки обладает стресспротекторной, антиязвочной и противовоспалительной активностью, свойственной профилю индивидуальной активности входящих в рецептуру растительных компонент [3, 5, 6, 8, 9, 11, 14-17].

4. Комбинированный препарат на основе женьшеня, эхинацеи и солодки не токсичен для мышей при введении внутрь в дозах до 30 г/кг, не оказывает токсического действия на организм животных при хроническом введении в дозах 20-60 мг/кг, превышающих терапевтические в 5-15 раз, и удовлетворяет требованиям токсикологической безопасности, предъявляемым к лекарственным средствам для курсового применения [2, 11]. По спектру фармакологической активности препарат относится к группе иммуноадаптогенных, противовоспалительных и антиязвочных средств [1-17].

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ефремова И.Н. Влияние фитопрепаратов женьшеня, солодки и эхинацеи на специфическую иммунореактивность // Тр. молодых ученых: Сб. ст. / Под ред. С.Л. Кабака. — Минск: МГМИ, 2000. — С.64-67.
2. Ефремова И.Н., Дзядзько М.А., Пенкратова Н.Н. Острая и хроническая токсичность фитоконцентрации на основе женьшеня // Тр. молодых ученых: Сб. ст. / Под ред. С.Л. Кабака. — Минск: МГМИ, 2001. — С. 59-61.
3. Наджарян А.В., Ефремова И.Н. Стресспротекторные свойства препаратов женьшеня и эхинацеи // Здоровоохранение. — 2002. — № 6. — С. 15-17.
4. Ефремова И.Н. Влияние фитопрепаратов женьшеня, солодки и эхинацеи на интенсивность фагоцитарных процессов // Здоровоохранение. — 2003. — № 3. — С. 14-17.
5. Дзядзько М.А., Наджарян А.В., Ефремова И.Н. Протективные свойства препаратов женьшеня, солодки и эхинацеи при иммобилизационном стрессе у крыс // Вестн. РГМУ. — 2000. — № 2. — С. 13.
6. Наджарян А.В., Ефремова И.Н. Женьшень повышает устойчивость к анксиогенным стрессам // Рецепт=Recipe. — 2000. — №10. — С. 66.
7. Ефремова И.Н., Наджарян А.В., Дубовик Б.В. Перспективные фитоконцентрации для стимуляции фагоцитоза // Рецепт=Recipe. — 2000. — №10. — С. 67.
8. Дубовик Б.В., Ефремова И.Н., Наджарян А.В. Профилактика комплексными адаптогенами стрессогенных повреждений // Рецепт=Recipe. — 2000. — № 10. — С. 68.
9. Наджарян А.В., Ефремова И.Н. Эффективность эхингина при стрессогенном иммунодефиците // Рецепт=Recipe. — 2000. — № 10. — С. 73.
10. Дубовик Б.В., Курченков А.С., Романовский Д.И., Наджарян А.В., Ефремова И.Н., Бизунок Н.А., Петров П.Т., Дунец Л.Н., Царенков В.М. Фармакология эхингина – комплексного препарата женьшеня и эхинацеи пурпурной // Фармация Беларуси на рубеже веков: Респ. научн.-практ. конф.: Тез. докл. — Минск, 2001. — С. 39-41.
11. Дубовик Б.В., Курченков А.С., Романовский Д.И., Ефремова И.Н., Наджарян А.В., Бизунок Н.А., Петров П.Т., Дунец Л.Н., Царенков В.М. Фармакология тримунала – комплексного препарата женьшеня, эхинацеи и солодки // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: Материалы 5 Междунар. съезда, Санкт-Петербург-Петродворец, 5-7 июл. 2001 г. — СПб., 2001. — С. 217-220.

12. Ефремова И.Н. О сопряженности стимулирующих эффектов адаптогенных фитокомплексов на специфический и неспецифический иммунитет // Медико-социальные аспекты здоровья детского населения, проживающего в условиях экологического риска: Материалы юбил. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию Гомел. дет. клинич. больницы. — Гомель, 2001. — С. 33-35.
13. Ефремова И.Н. Иммуноадаптогенные фитокомплексы и возможность их применения на территориях, пострадавших от атомной аварии // Фундаментальные и прикладные проблемы радиобиологии и радиэкологии: Тез. докл. — Минск, 2002. — С. 63-65.
14. Бокова М.Б., Ефремова И.Н., Шкробнева И.И., Шевчук А.С. Антифлогогенные свойства фитокомбинаций солодки // Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы: Материалы Междунар. конф., Минск, 4-5 апр. 2003 г. — Минск, 2003. — С. 146-147.
15. Ефремова И.Н., Шкробнева И.И., Бокова М.Б. Шевчук А.С., Дубовик Б.В. Антиульцерогенные свойства тримунала др. // Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы: Материалы Междунар. конф., Минск, 4-5 апр. 2003 г. — Минск, 2003. — С. 163-165.
16. Бокова М.Б., Ефремова И.Н., Шевчук А.С., Дубовик Б.В. Противовоспалительные свойства фитокомплекса на основе женьшеня, солодки и эхинацеи // Медицина на рубеже веков: Материалы юбил. науч. конф., посвящ. 40-летию ЦНИЛ БГМУ: в 2 ч. / Под ред. С.Л. Кабака — Минск, 2003. — Ч. 2. — С. 372-375.
17. Ефремова И.Н., Бокова М.Б., Шевчук А.С., Дубовик Б.В. Противоязвенные свойства фитокомплекса на основе женьшеня, солодки и эхинацеи // Медицина на рубеже веков: Материалы юбил. науч. конф., посвящ. 40-летию ЦНИЛ БГМУ: в 2 ч. / Под ред. С.Л. Кабака — Минск, 2003. — Ч. 2.—С. 393-396.

РЭЗІЮМЭ**Ефрэмава Ірына Мікалаеўна****Распрацоўка комплекснага адаптагеннага сродка на аснове жэньшэня, эхінацэі і салодкі**

Ключавыя словы: жэньшэнь, эхінацэя, салодка, фітатэрапія, адаптаген, імунастымулятар, гастропратэктар.

Аб'ект даследвання: карань жэньшэня звычайнага, трава эхінацэі пурпурнай, карань салодкі голай, іх субстанцыі, экстракты і камбінацыі.

Прадмет даследвання: фармакалагічныя і таксікалагічныя ўласцівасці фітапрэпаратаў жэньшэня, эхінацэі, салодкі і іх камбінацый.

Мэта працы: эксперыментальнае фармакалагічнае абгрунтаванне стварэння камбінаванага імунаадаптагеннага сродка на аснове фітапрэпаратаў жэньшэня, эхінацэі і салодкі.

Метады даследавання: фармакалагічныя, фізіялагічныя, імуналагічныя, гематалагічныя, цытахімічныя, біяхімічныя, патамарфалагічныя.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: упершыню эксперыментальна абгрунтавана стварэнне фармакалагічна сбалансаванай камбінацыі субстанцый караню жэньшэня звычайнага, травы эхінацэі пурпурнай, караню салодкі голай. Фітакомплекс праяўляе высокую імунастымулюючую і стрэспратэктарную актыўнасць, валодае анціульцэрагеннымі і процізапаленчымі ўласцівасцямі, што пашырае спектр фармакалагічнага дзеяння дадзеных лекавых раслін. У складзе камбінацыі жэньшэнь, эхінацэя і салодка не праяўляюць ўзаемнага антаганізму, але, наадварот, забяспечваюць эфэкты дапаўнення і патэнцыявання. Паказана, што камбінацыя жэньшэня, эхінацэі, салодкі малатаксічная пры аднаразовым і хранічным ужыванні і з'яўляецца прымальнай для выкарыстання ў якасці лекавага сродка.

Матэрыялы праведзеных даследванняў выкарыстаны пры распрацоўцы камбінаванага лекавага сродка, які змяшчае фармакалагічна сбалансаваныя колькасці сухога парашку караню жэньшэня звычайнага, парашку лістоў і кветак эхінацэі пурпурнай, парашку караню салодкі голай. Лекавы прэпарат пад назвай «трымунал» дазволены для медыцынскага выкарыстання.

Вобласць выкарыстання: фармакалогія, клінічная фармакалогія, тэрапія.

РЕЗЮМЕ

Ефремова Ирина Николаевна

Разработка комплексного адаптогенного средства на основе женьшеня, эхинацеи и солодки

Ключевые слова: женьшень, эхинацея, солодка, фитотерапия, адаптоген, иммуностимулятор, гастропротектор.

Объект исследования: корень женьшеня обыкновенного, трава эхинацеи пурпурной, корень солодки голой, их субстанции, экстракты и комбинации.

Предмет исследования: фармакологические и токсикологические свойства фитопрепаратов женьшеня, эхинацеи, солодки и их комбинаций.

Цель работы: экспериментальное фармакологическое обоснование создания комбинированного иммуноадаптогенного средства на основе фитопрепаратов женьшеня, эхинацеи и солодки.

Методы исследования: фармакологические, физиологические, иммунологические, гематологические, цитохимические, биохимические, патоморфологические.

Полученные результаты и их новизна: впервые экспериментально обосновано создание фармакологически сбалансированной комбинации субстанций корня женьшеня обыкновенного, травы эхинацеи пурпурной, корня солодки голой. Фитокомплекс проявляет высокую иммуностимулирующую и стресспротекторную активность, обладает антиязвенными и противовоспалительными свойствами, что расширяет спектр фармакологического действия данных лекарственных растений. В составе комбинации женьшень, эхинацея и солодка не проявляют взаимного антагонизма, и, напротив, обеспечивают эффекты дополненности и потенцирования. Показано, что комбинация женьшеня, эхинацеи и солодки малотоксична при однократном и хроническом применении и является приемлемой для использования в качестве лекарственного средства.

Материалы проведенных исследований использованы при разработке комбинированного лекарственного средства, содержащего фармакологически сбалансированные количества сухого порошка корня женьшеня обыкновенного, порошка листьев и цветов эхинацеи пурпурной, порошка корня солодки голой. Лекарственный препарат под названием «тримунал» разрешен для медицинского применения.

Область применения: фармакология, клиническая фармакология, терапия.

RESUME**Yefremava Iryna****Elaboration of complex adaptogenic remedy on the basis of ginseng, echinacea and licorice**

Key words: ginseng, echinacea, licorice, phytotherapy, adaptogen, immunostimulator, gastroprotector.

Object of studies: root of *Panax ginseng*, grass of *Echinacea purpurea*, root of *Glycyrrhiza glabra*, their substances, extracts and combinations.

Object of studies: pharmacological and toxicological properties phytopreparations from ginseng, echinacea and licorice and their combinations.

Purpose of study: the experimental pharmacological ground of development combined immunoadaptogenic remedy on the basis of phytopreparations from ginseng, echinacea and licorice.

Study methods: pharmacological, physiological, immunological, hematological, cytochemical, biochemical, pathomorphologic.

Results of study and their novelty: for the first time is experimentally justified of development pharmacologically balanced combination of substances of root *Panax ginseng*, grass of *Echinacea purpurea* and root of *Glycyrrhiza glabra*. Phytocomplex exhibits high immunostimulative and stressprotective activities, has antiulcerogenic and antiinflammatory properties, that extend a spectrum of pharmacological action of present medicinal plants. In a structure of the combination ginseng, echinacea and licorice do not show mutual antagonism, and, on the contrary, promote supplement and potentiation. It is shown, that the combination from ginseng, echinacea and licorice is nontoxic at single-dose and chronic application and it is acceptable for use as a medicine.

The materials of the conducted researches used in the development of the combined medicine containing balanced pharmacologically quantities of a dry powder of root *Panax ginseng*, powder leaves and flowers *Echinacea purpurea*, powder of root of *Glycyrrhiza glabra*. The medicinal preparation under the title «trimunal» is permitted for medical application.

Area of application: pharmacology, clinical pharmacology, therapy.