

О.В. Сермухамедова, Ю.Г. Басаргина, Н.А. Ибрагимова, З.Б. Сакипова, Э.М. Сатбаева  
Казахский Национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова

## ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ВАЛЕРЬЯНЫ ТУРКЕСТАНСКОЙ И ПУСТЫРНИКА ТУРКЕСТАНСКОГО IN VIVO

В представленной публикации рассмотрены результаты исследования острой и подострой токсичности экстрактов из лекарственного растительного сырья - валерьяны туркестанской и пустырника туркестанского in vivo на беспородных белых мышах. Показано, что данные экстракты не имеют токсического действия при однократном (острая токсичность) и многократном (подострая токсичность, 30 дней) пероральном введении и могут быть рекомендованы для разработки лекарственных форм на их основе.

**Ключевые слова:** токсичность, растительные экстракты, пустырник туркестанский, валерьяна туркестанская.

Природа Казахстана славится очень богатой дикорастущей флорой, на территории Республики насчитывается свыше шести тысяч видов растений, из них 515 — эндемики. Использование растений в качестве лекарств уходит своими корнями в глубокую древность, растительные препараты до сих пор играют огромную роль в выборе средств современной медицины [1,2]. В мировой медицинской практике препараты на основе лекарственного растительного сырья благодаря своим положительным характеристикам с каждым годом применяются все чаще. В настоящее время растительные лекарственные средства занимают значительное место в профилактике и терапии различных заболеваний, способствуя укреплению и сохранению здоровья населения. Выраженная терапевтическая эффективность и их профилактическое действие обусловлены гармоничным сочетанием биологически активных веществ, содержащихся в лекарственном растительном сырье [3]. В связи с чем, можно утверждать, что разработка и создание фитопрепаратов из отечественного лекарственного сырья является перспективным направлением фармацевтической промышленности Республики Казахстан.

Повышенный интерес в настоящее время привлекает вопрос профилактики и лечения заболеваний нервной системы, так как имеется огромное количество провоцирующих факторов для развития такого рода заболеваний. Специфика современной жизни, бурное развитие информационных технологий, зачастую неблагоприятная социальная ситуация оказывают сильное воздействие на нервную систему человека, его психическое здоровье. По данным ВОЗ стрессу подвергаются не менее 10–35% жителей различных стран мира. Стресс неизбежно приводит к снижению работоспособности, трудовой активности, ухудшению качества жизни, к социальной дезадаптации. Одним из характерных проявлений воздействия стресса на человека является беспричинное беспокойство, волнение, тревожное состояние [4].

Большое количество синтетических седативных препаратов, присутствующих на фармацевтическом рынке, безусловно, эффективны, но имеют длинный перечень побочных эффектов. Применение седативных фитопрепаратов привлекает мягким действием, возможностью их длительного применения при сохранении высокой эффективности, высоким уровнем безопасности и практически полным отсутствием побочных эффектов.

Пустырник и валерьяна – одни из наиболее широко используемых лекарственных растений седативного действия, применяются как успокаивающие средства при повышенной нервной возбудимости, в виде настоев, настоек, чаев и экстрактов.

В народной медицине применение пустырника в качестве лекарственного средства известно еще с XV века. Пустырник (лат. Leonurus L.) – род многолетних или двулетних травянистых растений семейства Яснотковые (Lamiaceae), или Губоцветные (Labiatae), включает около 25 видов, произрастающих по всему миру: в Европе, Азии, Африке и Америке; 13 видов встречаются на территории России. На юге Казахстана пустырник представлен замещающим видом, эндемиком, - пустырником туркестанским - Leonurus turkestanicus Krecz. et Kupr [5].

Валериана (лат. Valeriana) — род многолетних травянистых растений подсемейства Валериановые (Valerianoideae), семейства Жимолостные (Caprifoliaceae), включающий более двухсот видов. Произрастает в Европе, в центральной и северной частях Азии, в Северной и Южной Америке. Для Казахстана эндемичным видом является - валериана туркестанская - Valeriana turkestanica Sumn. Встречается в Джунгарском, Заилийском Алатау, хр. Кетмень, Чу-Илийских горах, Каратау [6].

Пустырник туркестанский и валерьяна туркестанская – это перспективные, эндемичные лекарственные растительные объекты, имеющие широкое распространение на территории Республики Казахстан. Запасы этих лекарственных растений достаточны для промышленного использования, но на сегодняшний день они не полностью изучены, что останавливает их применение в отечественной фарминдустрии.

Исходя из вышесказанного, является актуальным и представляет интерес для практической фармации изучение безопасности применения экстрактов из пустырника туркестанского и валерьяны туркестанской.

**Целью исследования** явилось изучение острой и подострой токсичности экстрактов из лекарственного растительного сырья – пустырника туркестанского и валерьяны туркестанской при пероральном введении in vivo, в различных разведениях.

**Материалы и методы.** Изучение острой и подострой токсичности исследуемых экстрактов основывалось на правилах проведения медико-биологических экспериментов, доклинических (неклинических) и клинических исследований, Приказ Министра здравоохранения РК от 12 ноября 2009 года № 697, на базе НИИ ФПМ им. Б.Атчабарова.

В опытах в качестве экспериментальных животных использовались беспородные белые мыши (масса 18-25 г.), одного пола и возраста, в количестве – 36 особей. Животные были разделены на 6 групп по 6 особей, при этом 4 опытных группы и 2 контрольные: Контрольные группы животных, в отличие от подопытных, получали индифферентное вещество. Перед началом экспериментов животные прошли двухнедельный карантин и содержались на стандартном рационе вивария.

При определении острой токсичности исследуемые экстракты вводились однократно, перорально, с помощью металлического зонда, в виде суспензии в воде очищенной, приготовленной непосредственно перед введением в трех концентрациях: 1:10; 1:15; 1:20. При изучении подострой токсичности вещества вводили вышеописанным способом ежедневно в течение тридцати дней.

В первый день эксперимента животные находились под непрерывным контролем. Далее, наблюдение за поведением и фиксирование изменений состояния животных проводили в конце рабочего дня, ежедневно.

В ходе эксперимента с помощью метода «вертикальной двигательной активности в ограниченном пространстве» и метода «открытой площадки», регулярно отмечалась интенсивность и характер двигательной активности, наличие заторможенности реакций, координация движений. Одновременно с двигательным компонентом ориентировочно-исследовательской реакции отмечалась и вегетативная деятельность (дефекация, мочеиспускание, почесывание, умывание и др.), для которой велся количественный учет.

Реакции на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители оценивались как выраженные/невыраженные. Реакции на звуковой раздражитель: реакция на внезапный звук (постукивание по клетке) в виде мигания, вздрагивания или другой двигательной активности. Реакции на световой раздражитель: реакция в ответ на освещение глаз карманным фонариком, возникает смыкание век, сокращение круговой мышцы глаз (зажмуривание). Реакции на тактильные, болевые раздражители: сжатие прикорневой части хвоста и раздражение острым стилетом.

В конце эксперимента после эвтаназии (методом передозировки эфира для наркоза) экспериментальных животных делали патоморфологическое заключение о проявлении токсичности экстрактов путем оценки макро- и микроскопических исследований.

**Результаты и обсуждение.** В первые сутки при пероральном введении мышам экстрактов пустырника туркестанского и валерьяны туркестанской в различных концентрациях (1:10, 1:15, 1:20) симптомы острого отравления отсутствовали. В последующем не было выявлено изменений общих показателей, все животные были активны, подвижны, с нормальной координацией движений, стандартной реакцией на внешние раздражители, нормальной консистенцией и количеством фекальных масс, частотой мочеиспускания и окраской мочи, не наблюдалось изменений в объемах потребляемой пищи и воды, а также любых других отклонений. Отличий от контрольных групп животных по вышеуказанным характеристикам установлено не было. К концу эксперимента не было зафиксировано ни одного летального случая во всех группах животных, в связи с чем, не представилось возможным определение LD50.

При макроскопическом исследовании печени мышей, получавших перорально экстракт *валерианы туркестанской* (*Valeriana Turkestanica*) в разведениях 1:10, 1:15 и 1:20 выявлены ткани темно-вишневого цвета с заостренными краями. При разрезе каждой лопасти не оставляет следов на лезвии скальпеля. При микроскопическом исследовании паренхима печени всех групп животных (*Valeriana Turkestanica*) 1:10, 1:15 и 1:20) выглядит компактной, дольковое строение печени сохранено. Элементы печеночной триады, центральной вены и радиальная направленность печеночных балок не нарушены. При большем увеличении микроскопа отмечается очаговое расширение просвета Диссе, преимущественно в перипортальной зоне. Ядра округлые, отдельные клетки с двумя ядрами. Очаговая активация клеток Купфера (рисунки 1-3).

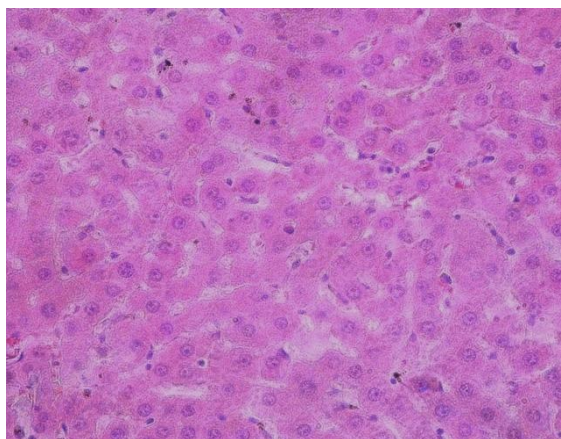


Рисунок 1 - Гистоструктура печени мышей, получавших экстракт *валерианы туркестанской* (*Valeriana Turkestanica*) в разведении 1:10. Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

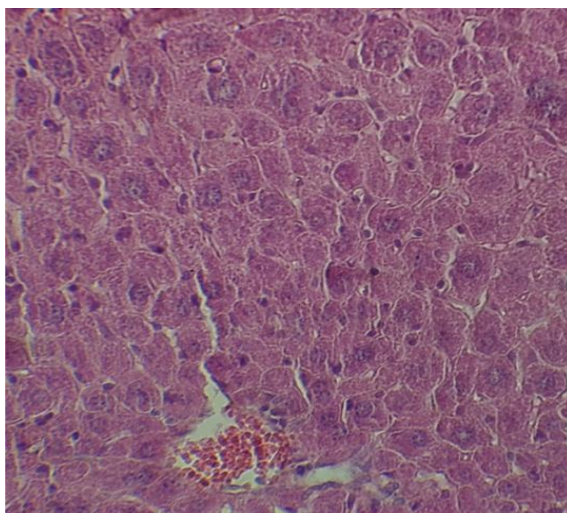


Рисунок 2 - Гистоструктура печени мышей, получавших экстракт *валерианы туркестанской* (*Valeriana Turkestanica*) в разведении 1:15. Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

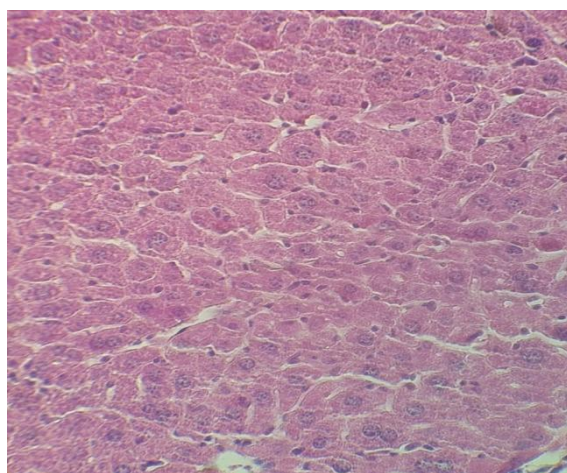


Рисунок 3 - Гистоструктура печени мышей, получавших экстракт *валерианы туркестанской* (*Valeriana Turkestanica*) в разведении 1:20. Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

У выведенных из эксперимента животных, получавших экстракт *пустырника туркестанского* (*Leonurus Turkestanicus*), в виде суспензии в воде очищенной, в разведениях 1:10, 1:15 и 1:20, выявлены ткани печени с заостренными краями темно-вишневого цвета, при разрезе не оставляют следов на лезвии скальпеля. У большинства гепатоцитов цитоплазма зернистая, без признаков вакуолизации. Клетки Купфера с признаками очаговой активизации. Пространство Дриссе расширено преимущественно в перипортальной зоне. Гепатоциты с гомогенным хроматином (рисунок 4-6).

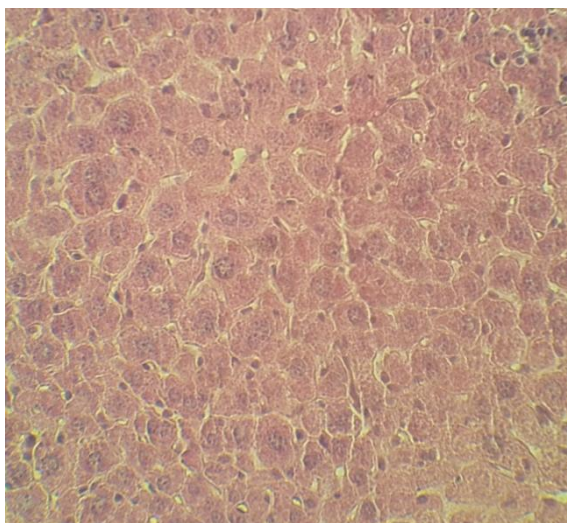


Рисунок 4 - Гистоструктура печени мышей, получавших экстракт *пустырника туркестанского* (*Leonurus Turkestanicus*), в виде суспензии в воде очищенной в разведении 1:10. Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

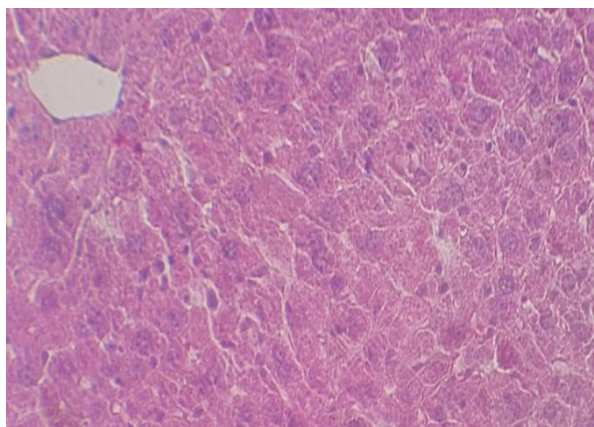


Рисунок 5 - Гистоструктура печени мышей, получавших экстракт *пустырника туркестанского* (*Leonurus Turkestanicus*), в виде суспензии в воде очищенной в разведении 1:15  
Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

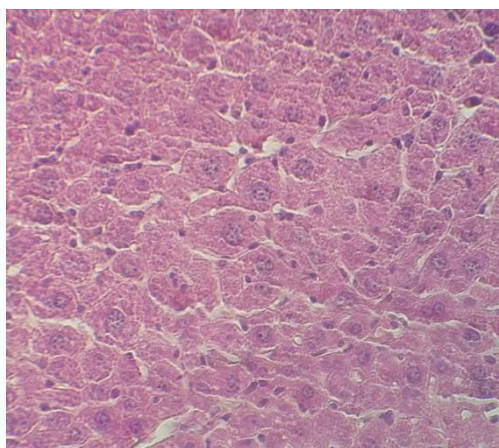


Рисунок 6 - Гистоструктура печени мышей, получавших экстракт *пустырника туркестанского* (*Leonurus Turkestanicus*), в виде суспензии в воде очищенной в разведении 1:20  
Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

При макроскопическом исследовании почек всех групп мышей, получавших углекислотный экстракт *валерианы туркестанской* (*Valeriana Turkestanica*) в разведениях 1:10, 1:15 и 1:20 выявлены ткани светло – коричневого цвета, капсула почки тяжело снималась. При разрезе граница между мозговым и корковым слоем четко дифференцировалась.

Корковое вещество представлено почечными тельцами, четко прослеживается мочевое пространство. Основную долю коркового вещества составляют темноокрашенные проксимальные канальца с эпителиоцитами с несколько мутной цитоплазмой. У отдельных канальцев ядро вытолкнуто в просвет. Также отмечаются более светло окрашенные дистальные канальца с более широким просветом. В мозговое вещество преимущественно различаются толстые отделы нефрона и собирательные трубочки (рисунки 7-9).

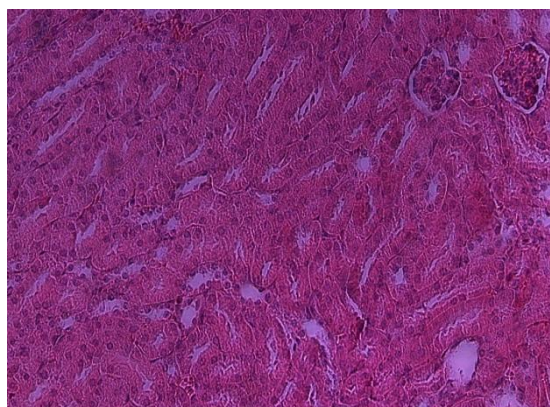


Рисунок 7 - Гистоструктура почек мышей, получавших экстракт *валерианы туркестанской* (*Valeriana Turkestanica*) в разведении 1:10. Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

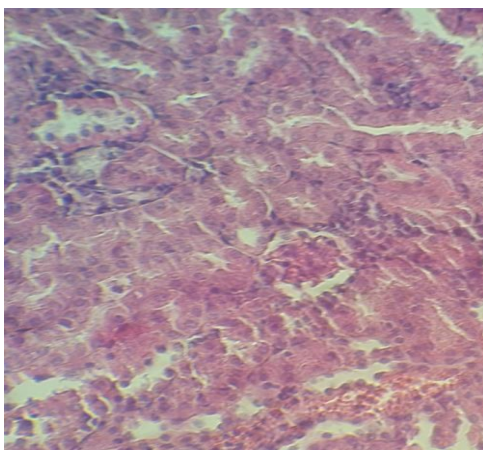


Рисунок 8 - Гистоструктура почек мышей, получавших экстракт *валерианы туркестанской* (*Valeriana Turkestanica*) в разведении 1:15. Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

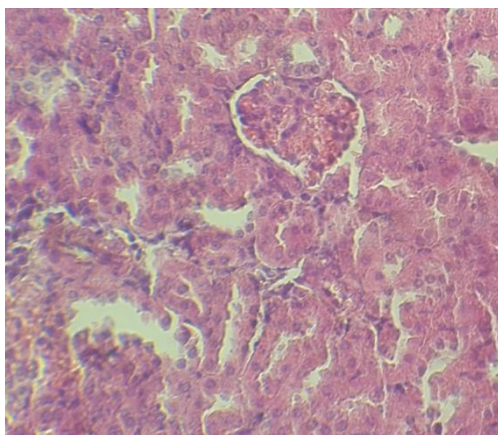


Рисунок 9 - Гистоструктура почек мышей, получавших экстракт *валерианы туркестанской* (*Valeriana Turkestanica*) в разведении 1:20. Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

У мышей, получавших экстракт *пустырника туркестанского* (*Leonurus Turkestanicus*), в виде суспензии в воде очищенной, в разведении 1:10, 1:15 и 1:20 основную долю коркового вещества составляют проксимальные канальца с призматическими эпителиоцитами. Дистальные канальца более светло окрашенные и с более широким просветом. В просвете отдельных канальцев отмечается содержимое. У почечных телец прослеживается мочевое пространство. В мозговое вещество различаются толстые отделы нефрона и собирательные трубочки (рисунки 10-12).

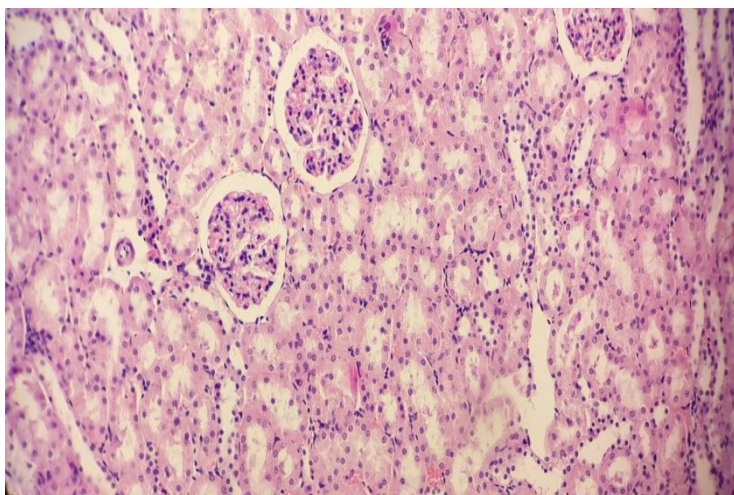


Рисунок 10 - Гистоструктура почек мышей, получавших экстракт *пустырника туркестанского* (*Leonurus Turkestanicus*), в виде суспензии в воде очищенной, в разведении 1:10. Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

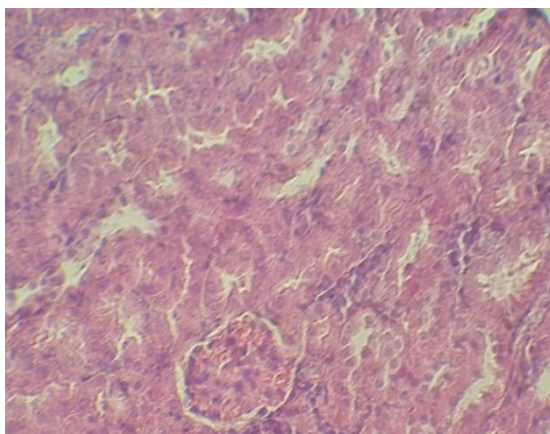


Рисунок 11 - Гистоструктура почек мышей, получавших экстракт *пустырника туркестанского* (*Leonurus Turkestanicus*), в виде суспензии в воде очищенной, в разведении 1:15  
Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

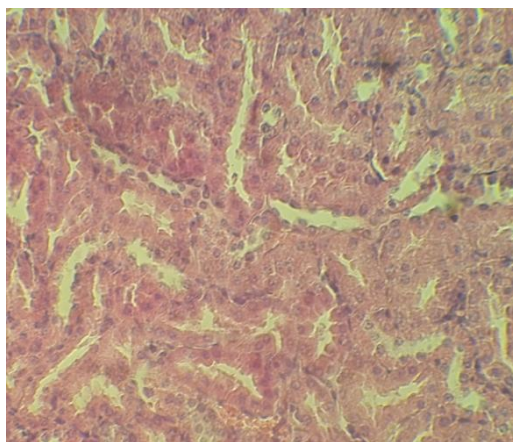


Рисунок 11 - Гистоструктура почек мышей, получавших экстракт *пустырника туркестанского* (*Leonurus Turkestanicus*), в виде суспензии в воде очищенной, в разведении 1:20  
Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

На рисунках 12-17 представлены микрофотографии тонкого кишечника мышей, получавших экстракт *валерианы туркестанской* (*Valeriana Turkestanica*) и *пустырника туркестанского* (*Leonurus Turkestanicus*) разведениях 1:10, 1:15 и 1:20.

При малом увеличении прослеживаются три оболочки: серозная (соединительно тканная), мышечная и слизистая. Собственно слизистая с характерными пальцевидными (листовидными) ворсинками. У каждой ворсинки прослеживается строма, представленная рыхлой волокнистой тканью. Однослойный призматический (столбчатый) каемчатый эпителий диффузно слущен. Среди призматического эпителия прослеживаются крупные, со смещенным ядром на периферию бокаловидные экзокриноциты.

В криптах прослеживаются многочисленные либеркюновы железы, отдельные клетки которых имеют ядра, смещенные на базальную мембрану, и просвет заполненный секретом. Четко прослеживаются клетки Панета с крупными гранулами в апикальной части клетки. Бруннеровы железы, располагаемые в подслизистой основе, и их протоки типичны (рисунки 12-17).

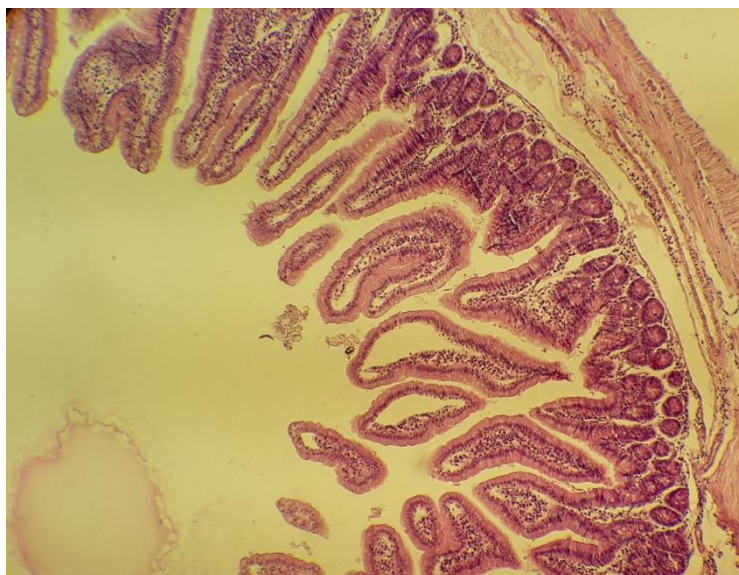


Рисунок 12 - Гистоструктура тонкого кишечника мышей, получавших экстракт валерианы туркестанской (*Valeriana Turkestanica*) в разведении 1:10. Увеличение: x 100; окраска: гематоксилин-эозин

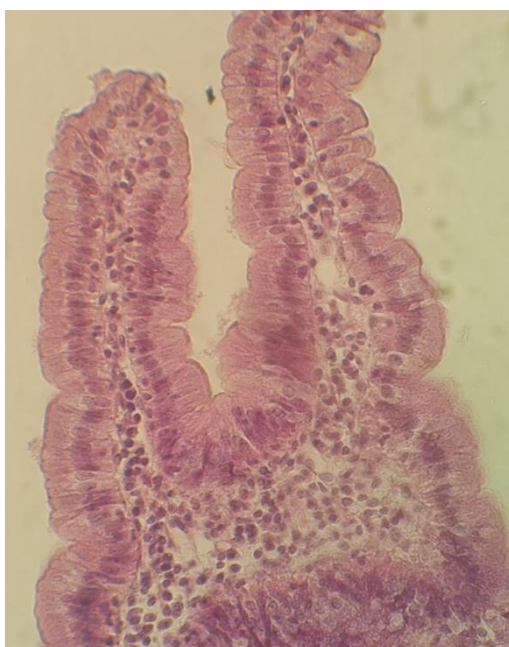


Рисунок 13 - Гистоструктура тонкого кишечника мышей, получавших экстракт валерианы туркестанской (*Valeriana Turkestanica*) в разведении 1:15. Увеличение: x 400; окраска: гематоксилин-эозин

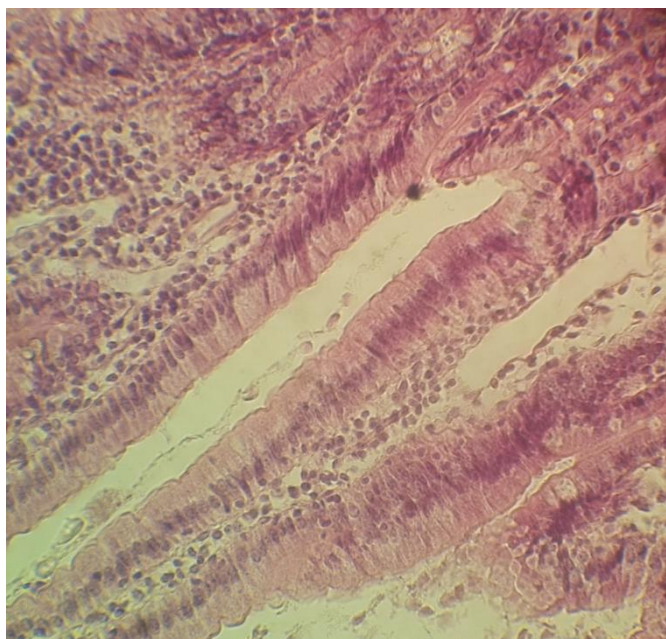


Рисунок 14 - Гистоструктура тонкого кишечника мышей, получавших экстракт валерианы туркестанской (*Valeriana Turkestanica*) в разведении 1:20  
Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

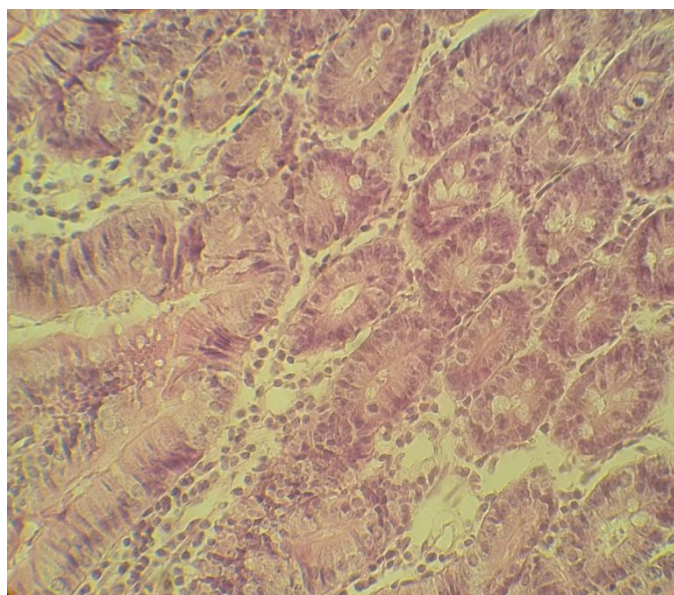


Рисунок 15 - Гистоструктура тонкого кишечника мышей, получавших экстракт пустырника туркестанского (*Leonurus Turkestanicus*), в виде суспензии в воде очищенной, в разведении 1:10  
Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин



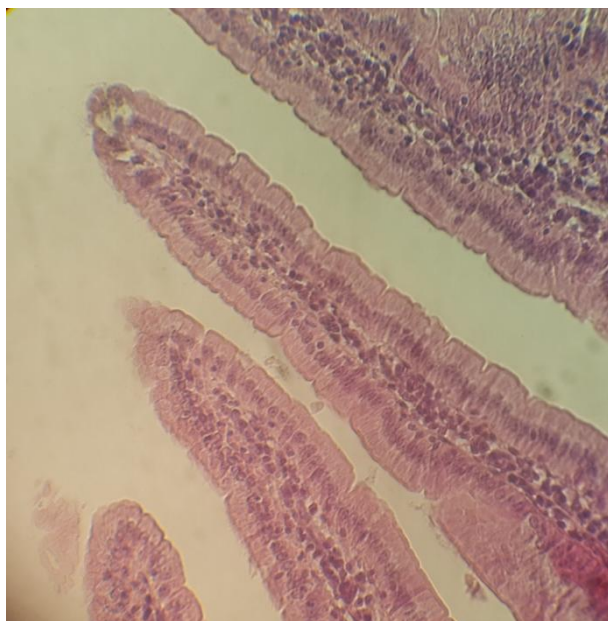


Рисунок 16 - Гистоструктура тонкого кишечника мышей, получавших экстракт *пустырника туркестанского* (*Leonurus Turkestanicus*), в виде суспензии в воде очищенной, в разведении 1:15  
Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

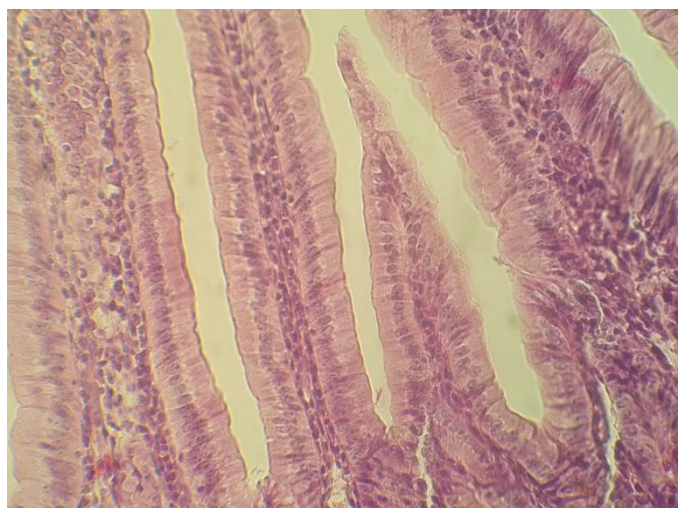


Рисунок 17 - Гистоструктура тонкого кишечника мышей, получавших экстракт *пустырника туркестанского* (*Leonurus Turkestanicus*), в виде суспензии в воде очищенной, в разведении 1:20  
Увеличение: x 200; окраска: гематоксилин-эозин

**Заключение.** При анализе результатов изучения острой и подострой токсичности исследуемых экстрактов при пероральном введении экспериментальным животным (белые беспородные мыши) не было выявлено признаков токсичности, летальность отсутствовала, что не позволило установить LD50. Таким образом, можно утверждать, экстракт *пустырника туркестанского* (*Leonurus Turkestanicus*) и экстракт *валерианы туркестанской* (*Valeriana Turkestanica*) при многократном пероральном введении *in vivo* относятся к малотоксичным веществам (V класс токсичности).

Полученные данные подтверждают перспективность проведения дальнейших исследований по изучению фармакологической активности данных экстрактов и последующей разработки на их основе безопасных и эффективных седативных средств.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Егорова К.А., Камашева К.А., Жирохов В.И. Российский рынок лекарственного растительного сырья // ГБОУ ВПО Пермская государственная фармацевтическая академия. – Пермь: 2014. - №1. - С. 17-18.
- 2 Убеева И.П., Цыбикова Е.Н., Разуваева Я.Г. и др. Фитокоррекция заболеваний нервной системы (обзор литературы) // Вестник бурятского государственного университета. – 2013. - №2. - С. 6-7.
- 3 Крепкова Л.В., Бортникова В.В., Сокольская Т.А. Некоторые аспекты токсикологического изучения лекарственных препаратов, созданных на основе лекарственного растительного сырья // Фундаментальные исследования. – 2013. – №9. – Ч.2. – С. 256-258.
- 4 Зупанец И. А., Бездетко Н. В. Фармацевтическая опека: симптоматическое лечение тревожных состояний // Провизор. – 2002. - №24. - С. 35-37.
- 5 Вермейлен Н. Пустырник обыкновенный. Полезные травы. Иллюстрированная энциклопедия. - М.: Лабиринт Пресс, 2002. - С. 168-173.
- 6 Горбунов Ю. Н. Валерианы флоры России и сопредельных государств: Морфология, систематика, перспективы использования. — М.: Наука, 2002. — 207 с.

**О.В. Сермухамедова, Ю.Г. Басаргина, Н.А. Ибрагимова, З.Б. Сакипова, Э.М. Сатбаева**

*С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық медицина университеті*

#### **IN VIVO ТҮРКІСТАНДЫҚ САСЫҚШӨП ПЕН ТҮРКІСТАНДЫҚ ШҮЙГІНШӨП СЫҒЫНДЫСЫНЫҢ УЫТТЫЛЫҒЫН ЗЕРТТЕУ**

**Түйін:** Ұсынылған жарияланымдар зерттеу нәтижелерін қарады жіті және подострой уыттылық сірінділері бар дәрілік өсімдік шикізатынан - валерьяны түркістан және пустырника түркістан in vivo тексіз ақ мышах. Көрсетілгендей, бұл сірінділері бар уытты әсерінің бірреттік (жіті уыттылық) және многократном (жітілеу улылық, 30 күн) пероральді енгізу және ұсынылуы мүмкін әзірлеу үшін дәрілік түрлерді және олардың негізінде.

**Түйінді сөздер:** сығынды, уыттылық, түркістандық шүйгіні, түркістан сасықшөп.

**E.M. Satbayeva, O.V. Sermukhamedova, Z.B. Sakipova, Yu.G. Basargina, N.A. Ibragimova**

*Asfendiyarov Kazakh National medical university*

#### **STUDYING THE TOXICITY OF THE EXTRACTS LEONURUS TURKESTANICUS AND VALERIANA TURKESTANICA IN VIVO**

**Resume:** In the submitted publication results of a research of acute and subacute toxicity of extracts from medicinal plant raw materials - Valeriana Turkestanica and Leonurus Turkestanicus in vivo on not purebred white mice are considered. It is shown that these extracts have no toxic action at single-pass (acute toxicity) and multiple (subacute toxicity, 30 days) peroral introduction and can be recommended for development of dosage forms on their basis.

**Keywords:** toxicity, plant extract, Leonurus Turkestanicus, Valeriana Turkestanica.