

УДК 615.322.451.16:582.794.2:613.292

## ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ЖИДКОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ ЭЛЕУТЕРОКОККА

Н.Я. Горовая, Н.В. Плаксен, Л.В. Устинова

Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

**Ключевые слова:** адаптогены, биологически активные добавки к пище, элеутерозиды, стресс.

### PROOF OF THE EFFICACY AND SAFETY OF THE LIQUID EXTRACT FROM THE LEAVES OF ELEUTHEROCOCCUS

N.Y. Gorovaya, N.V. Plaksen, L.V. Ustinova

Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690950 Russian Federation)

**Background.** Only the roots of the plant are used for the production of eleutherococcus liquid extract. Harvesting the roots usually brings plants to the death, and their ground forces, constituting a significant percentage of the total mass of plant tissues, are not used.

**Methods.** To study the biological activity of the leaf extract of Eleutherococcus in experiments on male mice different types of stress were used: physical stress and debilitating hypodynamic model.

**Results.** Samples "Siberian ginseng leaves (Folia Eleutherococci senticosus)" passed sanitary-hygienic examination for compliance with the "Uniform sanitary and epidemiological and hygienic requirements for goods subject to sanitary-and-epidemiologic supervision (control)". It was confirmed that leaf extract of Eleutherococcus ( $LD_{50} = 18,75 \pm 0,95$  ml/kg) is safe; its protective and stimulating effect at different stress responses was displayed.

**Conclusions.** Studies have confirmed the effectiveness and safety of using leaf Siberian ginseng as a dietary food supplements. The certificate RU.77.99.11.003.E.023222.06.11 from 10.06.2011.

**Keywords:** adaptogenes, dietary food supplements, eleutherosides, stress.

Pacific Medical Journal, 2015, No. 2, p. 66–68.

Адаптогены – лекарственные средства в основном природного происхождения, создающие в организме состояние неспецифической повышенной сопротивляемости, при длительном приеме повышающие его адаптационные способности [2, 4, 6]. Известно, что препараты из группы адаптогенов, повышая выносливость организма к широкому кругу неблагоприятных факторов внешней и внутренней среды и обладая антиоксидантными свойствами, способствуют стабилизации процессов перекисного окисления липидов биомембран в условиях длительной холодовой нагрузки, введения четыреххлористого углерода и т.д. [1].

Экстракт элеутерококка, настойки заманихи и аралии были внедрены в медицинскую практику и введены в реестр лекарственных препаратов МЗ СССР. Биологически активные вещества корневищ и корней элеутерококка колючего (свободнаягодника колючего) *Eleutherococcus senticosus*, сем. аралиевых (Araliaceae) можно разделить на несколько групп. В первую группу входят четыре стерина, в числе которых идентифицированы  $\beta$ -ситостерин, его гликозид –

даукостерин, а также тритерпеноиды. Вторая группа представлена веществами фенольной природы. Это ароматические спирты (в частности, моногликозид синапового спирта – элеутерозид В), кумарины (гликозид изофраксидина), лигнаны (арктиин, савинин и производное сирингарезинола – элеутерозид Е). Третью группу составляют смолы, липиды и полисахариды [4].

Для производства экстракта элеутерококка жидкого (рег. удостоверение 74/331/72 от 12.04.1974 г.) в качестве сырья применяются только корни растения. Заготовка корней ведет обычно к гибели растений, причем их наземные части, составляющие значительный процент общей массы растительных тканей, не используется. Между тем, есть основания предполагать, что и в их наземных частях содержатся биологически активные вещества, которые могут быть извлечены и использованы для производства лекарственных средств и биологически активных добавок к пище. В листьях элеутерококка найдены каротиноиды, три-терпеновые соединения, олеиновая кислота, флавоноиды, дубильные вещества, элеутерозиды, различные микроэлементы.

Целью настоящего исследования стала оценка безопасности и эффективности жидкого экстракта, полученного из листьев элеутерококка.

**Материал и методы.** Листья элеутерококка колючего (*Folia Eleutherococci senticosus*) прошли санитарно-гигиеническую экспертизу в соответствии с санитарно-эпидемиологическими и гигиеническими требованиями безопасности (далее – Единые санитарные требования) к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю).

Из образцов листьев был получен жидкий экстракт элеутерококка 1:1 на 40 % этиловом спирте. Для изучения эффективности и безопасности жидкого экстракта из листьев элеутерококка использовали мышей-самцов различных линий. Работа выполнена с соблюдением всех правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных работах. Количество животных в опытной группе определяли с учетом модели и кратности опытов, а также получения статистически достоверных результатов.

Экстракт освобождали от спирта путем выпаривания на водяной бане, затем его первоначальный объем восстанавливали дистиллированной водой и вводили

Устинова Любовь Викторовна – д-р фарм. наук, доцент, зав. кафедрой фармации ТГМУ; e-mail: ustinova.lubov@ustinov.com

животным через зонд в дозе 0,1 мл/20 г однократно за час до эксперимента. Контрольные животные получали равный объем воды.

Токсичность препарата определяли по Креберу. Препарат вводили в желудок специальным шприцем с оливкой на конце иглы. Для расчета средней летальной дозы ( $LD_{50}$ ) использовали 50 беспородных мышей-самцов весом 18–25 г (в каждой группе по 6–8 животных):

$$LD_{50} = LD_{100} - \Sigma(zd) / n,$$

где  $LD_{100}$  – доза изучаемого препарата, которая вызывала учитываемый эффект у всех животных,  $z$  – среднее число мышей, у которых наблюдалась учитываемая реакция под влиянием каждой из двух смежных доз,  $d$  – интервал между дозами (0,1 мл в нашем эксперименте),  $n$  – число животных в каждой группе.

Для изучения адаптогенного действия экстракта использовали модель истощающей физической нагрузки на 18 мышях-самцах линии СВА/СaLacSto в соответствии с разделом «изучение адаптогенного действия парафармацевтиков» МУК 2.3.2.721–98 [5]. Эта же модель дает возможность анализа влияния экстракта на показатели окислительно-антиоксидантной системы.

Первичные продукты перекисидации – диеновые конъюгаты (ДК) – определяли в аликвотах липидных экстрактов, полученных по методу Блей–Дайера, после перерастворения их в метанол-пентановой смеси по поглощению в ультрафиолете ( $\lambda=232$  нм) [7].

Детекцию малонового диальдегида (МДА) – продукта окислительной деградации жирных кислот – проводили в гомогенатах печени по цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой. Уровень флуоресцирующих продуктов типа оснований Шиффа вычисляли спектрофлуориметрически (Hitachi MPF-4,  $\lambda=360$  нм и  $\lambda_f=430$  нм). Относительное содержание этих соединений выражали в условных единицах в расчете на 1 мг липидов (относительно флуоресценции раствора 1 мкмоль/мл хинин-сульфата в 0,1N  $H_2SO_4$ ). Значения МДА и интегральной антирадикальной активности нормировались на 1 мг белка, определяемого в гомогенатах печени [3, 7].

Для анализа защитного действия экстракта элутерококка создавали гиподинамическую модель стрессорного воздействия на 20 беспородных мышях-самцах. Через 18 часов под эфирным наркозом мышей выводили из эксперимента и подсчитывали число кровоизлияний в слизистой оболочке желудка.

Полученные данные подвергали статистической обработке с вычислением средней арифметической и ее средней ошибки с использованием метода вариационных рядов и критерия Стьюдента.

**Результаты исследования.** Единые санитарные требования (табл. 1) распространяются на пищевые продукты согласно классификации товаров по кодам единой таможенной номенклатуры внешней экономической деятельности Таможенного союза, по п.10 «биологически активные добавки к пище» – природные (идентичные природным) биологически активные

Таблица 1

Гигиеническая характеристика биологически активной добавки «Листья элутерококка колючего (*Folia Eleutherococci senticosus*)»

Показатель		Уровень	
		допустимый	полученные данные
Токсичные элементы	Свинец, мг/кг	не более 6,0	<6,0
	Мышьяк, мг/кг	не более 0,5	<0,5
	Кадмий, мг/кг	не более 1,0	не обнаружено
	Ртуть, мг/кг	не более 0,1	<0,1
Пестициды	ГЧЦГ <sup>1</sup> , мг/кг	не более 0,1	не обнаружено
	ДДТ <sup>2</sup> , мг/кг	не более 0,1	не обнаружено
	Гептахлор, мг/кг	не допускается (<0,002)	не обнаружено
	Алдрин, мг/кг	не допускается (<0,002)	не обнаружено
Микробиологические показатели	КМАФАнМЗ, КОЕ/г	не более $5 \times 10^5$	< $5 \times 10^5$
	БГКП4 в 0,01 г, КОЕ/г	не допускается	не обнаружено
	Патогенные <i>E. coli</i> (в 0,1 г) <sup>5</sup> , КОЕ/г	не допускается	не обнаружено
	Дрожжи, КОЕ/г	не более 100	<100
	Плесени, КОЕ/г	не более 1000	<1000

<sup>1</sup>Тексахлорциклопексан ( $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -изомеры).

<sup>2</sup>Дихлордифенилтрихлорэтан и его метаболиты.

<sup>3</sup>Количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов.

<sup>4</sup>Бактерии группы кишечной палочки (колиформы).

<sup>5</sup>в том числе сальмонеллы в 10 г.

Таблица 2

Влияние экстракта элеутерококка на содержание продуктов перекисного окисления липидов в печени мышей ( $M \pm m$ )

Подгруппа	МДА, нмоль /мг белка	ДК, нмоль/мг липидов	Основания Шиффа, ед/мг липидов
1-я, контроль	2,47±0,27	6,70±0,31	1,46±0,13
1-я, опыт	2,12±0,18	5,94±0,14*	1,22±0,11
2-я, контроль	3,01±0,21	7,31±0,20	1,94±0,18
2-я, опыт	2,56±0,19*	6,85±0,24	1,37±0,12*

\* Разница с соответствующим контролем статистически значима.

вещества, а также пробиотические микроорганизмы, предназначенные для употребления одновременно с пищей».

Безопасность экстракта из листьев элеутерококка установлена на уровне  $LD_{50}=18,75 \pm 0,95$  мл/кг. Полученный результат позволяет прийти к заключению о сравнительно низкой токсичности препарата при однократном введении половозрелым мышам. Стимулирующее действие экстракта подтверждено тестом продолжительности плавания: в опытной группе  $33,4 \pm 2,9$  мин, в контроле –  $20,7 \pm 1,2$  мин ( $p < 0,05$ ).

После истощающей физической нагрузки контрольную и опытную группы животных разделили на две подгруппы. Первую выводили из эксперимента сразу же после нагрузки, вторую – спустя 1 час. Резкое усиление окислительных процессов при недостаточности системы антиоксидантной защиты приводит к развитию «оксидантного» стресса, который рассматривается как один из общих механизмов повреждения тканей организма. Экстракт из листьев элеутерококка уменьшал образования прооксидантов, нарушающих функционирование клеточных структур при стрессе (табл. 2). В опытной группе сразу после стресса статистически значимо снизился уровень ДК (на 11 %), через час после плавания наблюдали достоверное снижение уровней МДА (на 15 %) и оснований Шиффа (на 29 %).

В опытной подгруппе через 1 час после плавания наблюдали незначительное повышение индекса антирадикальной активности ( $540,0 \pm 10,0$ ) по сравнению с контролем ( $508,0 \pm 16,0$ ).

Иммобилизация мышей в течение 18 часов вызвала поражение слизистой оболочки желудка у 100 % животных в опытной и контрольной группах. Предварительное введение экстракта элеутерококка уменьшало количество кровоизлияний в слизистой оболочке желудка в 2 раза.

**Обсуждение полученных данных.** В результате проведенных исследований установлено соответствие биологически активной добавки «Листья элеутерококка колючего (*Folia Eleutherococci senticosus*)» Единным санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим требованиям к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (глава II, раздел 1 «Биологически активные добавки к пище – группа 21»). Из образцов

листьев элеутерококка колючего изготовлен жидкий экстракт 1:1. Результат изучения острой токсичности в эксперименте позволяет прийти к заключению о безопасности препарата.

При однократном введении экстракта в эксперименте достоверно увеличилась продолжительность плавания (на 61 % в опытной группе) с преобладающей интегральной антирадикальной активностью по сравнению с контролем, что свидетельствует о защитном действии элеутерококка. Установлена антиперекисная активность: жидкий экстракт из листьев элеутерококка препятствовал накоплению в печени первичных (ДК) и вторичных (основания Шиффа, МДА) продуктов липопероксидации. Однократное введение препарата животным до иммобилизации оказывало стресс-протективное действие, которое проявилось в уменьшении количества кровоизлияний и изъязвлений в слизистой оболочке желудка.

Проведенные исследования подтвердили эффективность и безопасность использования листьев элеутерококка колючего в качестве биологически активной добавки к пище. Получено свидетельство RU.77.99.11.003.E.023222.06.11 от 10.06.2011 г.

#### Литература

- Доровских В.А., Красавина Н.П., Симонова Н.В. [и др.] Адаптогены и холодовой стресс: вчера, сегодня, завтра... Благовещенск: ДальГАУ, 2006. 214 с.
- Дардымов И.В., Хасина Э.И. Элеутерококк: Тайны «панации». СПб.: Наука, 1993. 125 с.
- Кропотов А.В., Челомин В.П., Плаксен Н.В. [и др.] Антиперекисные эффекты из трепанга *Stichopus japonicus* // Тихоокеанский медицинский журнал. 2004. № 3. С. 18–20.
- Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия: уч. пособие / под ред. Г.П. Яковлева, К.Ф. Блиновой. СПб.: СпецЛит, 2004. 864 с.
- МУК 2.3.2.721–98.2.3.2. Пищевые продукты и пищевые добавки. Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище: методические указания (утв. главным государственным санитарным врачом РФ 15.10.1998 г.).
- Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна; Издатель Умеренков, 2007. С. 128–132.
- Buege J.L., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation // Methods in Enzymology. Academic Press. 1978. P. 302–310.

Поступила в редакцию 10.03.2015.

#### Подтверждение эффективности и безопасности жидкого экстракта из листьев элеутерококка

Н.Я. Горвая, Н.В. Плаксен, Л.В. Устинова

Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

**Резюме.** Для производства экстракта элеутерококка жидкого в качестве сырья применяются только корни растения. Заготовка корней ведет обычно к гибели растений, причем их наземные части, составляющие значительный процент общей массы растительных тканей, не используется. Изучали адаптогенное действие экстракта из листьев элеутерококка в эксперименте на мышах-самцах. Выявлены стимулирующее и защитное действия жидкого экстракта из листьев элеутерококка при различных стресс-реакциях при однократном введении. Получено свидетельство RU.77.99.11.003.E.023222.06.11 от 10.06.2011 г.

**Ключевые слова:** адаптогены, биологически активные добавки к пище, элеутерозиды, стресс.