Содержание

Введение

Исследование фармакологических свойств гастродии высокой

1. Материалы и методики

2. Результаты и их обсуждение

3. Выводы

Заключение

Список использованных источников литературы

## Введение

Ритм современной жизни требует от человека высокой физической и умственной активности. Проблема переутомления особенно актуальна для лиц, занимающихся тяжелым физическим трудом, особенно в тяжелых климатических условиях, а также для профессиональных спортсменов. Поэтому обоснованным является поиск лекарственных средств, повышающих работоспособность организма.

Одним из перспективных растений в этом плане является Гастродия высокая (Gastrodia elata Blume, пузатка) - редкий охраняемый вид, занесенный в Красную книгу. Произрастает Гастродия высокая в Приморском крае, на юге Хабаровского края и Сахалинской области. Растет по сыроватым широколиственным, березовым лесам, среди зарослей бамбука и в приречных ивняках.

Это бесхлорофилльное сапрофитное растение семейства Орхидных, с коротким гладким кольчатым клубневидным горизонтальным корневищем. Стебель прямой, толстый, голый, буроватый, с чешуйчатыми влагалищами. Цветки вздутые, спайнолепестные, коричневые с 5 короткими туповатыми лопастями и свободной продолговато - овальной трехлопастной, по краю бахромчатой, беловатой губой. Соцветие - редкая многоцветковая кисть. Плоды - прямые, продолговато-обратнояйцевидные коробочки с многочисленными мелкими семенами. Корневища содержат ванилиновый спирт, 4 - гидроксибензальдегид, 4 - гидроксибензиловый спирт, 4 - (β - О глюкопиранозилокси) бензиловый спирт, 4 - (метоксиметил) фенол, 4 - (4 - (метоксиметил) феноксиметил) фенол, бис (4 - гидроксибензиловый) эфир. По последним данным, в корневищах также обнаружены гастродин, паришин, лимонная, янтарная и пальмитиновая кислоты, метилцитрат, β-ситостерин, даукостерин, сахароза, белки (шитиназа, β-1,3-О-глюканаза), микроэлементы.

В научной медицине гастродия не изучалась, однако имеет широкое применение у народов Китая. Отвар клубней пузатки используют в китайской медицине как тонизирующее средство, полезное при неврозах и неврастении. Клубни и стебли используют как общеукрепляющее при расстройствах нервной системы. Они обладают также мочегонным действием и используются при нефрите и диабете. Настойку клубней, а иногда и стеблей нанайцы принимают при нарушениях половой функции (импотенции), как тонизирующее, восстанавливающее силы средство, возвращающее бодрость после длительных физических нагрузок. Способствует гастродия и выздоровлению после большой потери крови.

Корейцы используют надземную часть растения при нервных расстройствах, а корневища - как тонизирующее средство при простуде. Кроме этого, в народной медицине народов Дальнего Востока гастродия используется также при лечении при головной боли, головокружении, потере чувствительности конечностей, детских судорогах, неврастении, эпилепсии, столбняке, мионевралгии, ревматизме.

Учитывая выше изложенное, можно предположить наличие у Гастродии высокой адаптогенных свойств.

Адаптогены - это лекарственные средства, облегчающие адаптацию организма к различным неблагоприятным воздействиям. Такие средства способны предупредить развитие заболевания (как инфекционного, так и неинфекционного) или способствовать более легкому его течению. Не являясь лекарствами от какой бы то ни было отдельной болезни, они могут оказаться эффективными при многих заболеваниях.

Широкое применение адаптогенов началось после Второй мировой войны. В нем приняли участие многие исследователи, работавшие во Владивостоке, Хабаровске, Томске, Уфе, Москве, Санкт-Петербурге и других городах страны.

Одним из наиболее известных и популярных лекарственных растений - адаптогенов Восточной и Юго-Восточной Азии является женьшень, который интенсивно заготовлялся на протяжении многих веков. Уже давно были серьезно подорваны его природные ресурсы, а к моменту широких исследований растение вообще оказалось перед угрозой исчезновения. Женьшень в настоящее время включен в красную книгу.

Кроме женьшеня, ученые нашли много других растений, препараты которых тоже обладают адаптогенными свойствами. Это - аралия маньчжурская, заманиха высокая, элеутерококк колючий, родиола розовая, лимонник китайский. Адаптогенное действие аралии, заманихи и элеутерококка было сразу воспринято как должное, поскольку эти растения ботанически родственны женьшеню: все они относятся к семейству аралиевых.

Родиола относится к семейству толстянковых и сродни известной для многих из нас с детских лет так называемой "заячьей капусте ". Пример радиолы показывает, что адаптогенное действие не является исключительной принадлежностью растений семейства аралиевых. Это позволяет предположить возможность обнаружения адаптогенов и среди растений, относящихся к другим семействам.

Лекарственный препарат, относящийся к адаптогенам, должен соответствовать четырем требованиям, сформулированным более 30 лет тому назад И.И. Брехманом. Первое требование - о безвредности: препараты должны оказывать минимальные сдвиги физиологических и биохимических показателей здоровых людей. Второе требование гласит, что адаптогены должны повышать сопротивляемость организма к вредному действию факторов различной природы: химической, физической, биологической природы и т.д. Третье требование - действие адаптогена тем более выражено, чем более глубоки неблагоприятные сдвиги в организме. Однако необходимо учитывать, что нарушение функций органов должно быть обратимо. При необратимости процесса вследствие грубых структурных нарушений тканей (например, развитие инфаркта миокарда), лечебное действие адаптогенов невелико. В соответствии с четвертым требованием адаптоген должен обладать нормализующим действием независимо от направленности предшествующих сдвигов.

Следует отметить, что в ХХI век медицина вступила с мощным арсеналом лекарственных средств. Мировая фармацевтическая промышленность производит в настоящее время десятки тысяч лекарственных препаратов. Свыше 15000 из них включены в Государственный реестр лекарственных средств, разрешенных для медицинского применения в Российской Федерации. В основном эти препараты созданы в ХХ веке. Интенсивная разработка новых лекарств началась в 1930 - 40 годах. Этот период называют началом "фармакологической революции". Стимулом для этого послужил научно-технический прогресс, и, в частности, крупные достижения в биологии и медицине. Адаптогены стали также объектом научных исследований, и из средств народной медицины и четверо из них (женьшень, пантокрин, элеутерококк и дибазол) превратились в лекарственные препараты с доказанной эффективностью и безопасностью. Небольшой арсенал адаптогенов стимулирует поиск и изучение новых лекарственных средств, обладающих адаптогенными свойствами.

Целью нашего исследования является установление спектра фармакологической активности 70% настойки из Гастродии высокой.

Задачи исследования:

В эксперименте на белых мышах определить острую токсичность 70% настойки из Гастродии высокой.

В эксперименте на белых крысах на модели гипоксии определить антигипоксическую активность 70% настойки из Гастродии высокой.

В эксперименте на белых крысах на модели предельных мышечных нагрузок определить актопротекторную активность 70% настойки из Гастродии высокой.

В эксперименте на белых крысах на модели иммобилизационного стресса определить стресспротекторную активность 70% настойки из Гастродии высокой.

В эксперименте на белых крысах на модели "открытое поле" исследовать наличие нейротропной активности у 70% настойки из Гастродии высокой.

У белых мышей определить влияние 70% настойки из Гастродии высокой на активность лизоцима крови и фагоцитарную активность нейтрофилов.

## Исследование фармакологических свойств гастродии высокой

## 1. Материалы и методики

В экспериментальной части работы использовались беспородные животные - белые крысы массой тела 160-180 г и мыши массой тела 18-20 г, колебания веса которых в одной группе были в пределах 10 - 20 г у крыс и 1-2 г у мышей. Опыты проводились в соответствии с действующими "Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных" и "Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных".

Исследования выполнены в осенне-зимний период на кафедре фармакологии ЯГМА. Объект обследования: 60 белых крысах-самцов и 72 белые мыши. Все животные были распределены на 3 группы. Интактным животным (контрольная группа) внутрибрюшинно вводилась дистиллированная вода, а в экспериментальных группах 70% настойка гастродии в дозе 1мл/кг веса за 30-40 мин. до начала эксперимента.

Острая токсичность определялась на белых мышах по методика Тейтнера-Миллера при внутрижелудочном введении исследуемой 70% настойки гастродии путем оценки смертности животных в течение последующих 2 недель. Контрольным животным вводился 70% раствор этанола в том же объеме. Оценивалась также способность гастродии снижать токсичность этанола, вводимого внутрибрюшинно.

Антигипоксические свойства препарата исследовали на модели нормобарической нормокапнической гипоксической гипоксии, которая моделировалась помещением крыс в гермокамеру объемом 1,5 литра. Углекислый газ удалялся натронной известью. Показателем сопротивляемости животных к воздействию гипоксии являлась продолжительность их жизни.

Сопротивляемость организма к действию предельных мышечных нагрузок исследовали на модели принудительного плавания крыс с грузом 10% от массы тела до полного утомления.

Стресс - синдром моделировали иммобилизацией крыс на спине в течение 24 часов. Изучали следующие показатели: весовые коэффициенты (вес органа в мг делится на вес животного в г) надпочечников и тимуса, изъязвление слизистой оболочки (% животных с язвами и количество язв у одной крысы), индекс Паурса, который рассчитывается по следующей формуле:

Степень изъязвления \*% крыс с язвами

100

Для исследования поведенческих реакций использовался метод "открытого поля". Данный метод заключается в исследовании двигательного компонента ориентировочной реакции и эмоциональной реактивности животных. Метод основан на исследовании в манеже, в затемненном помещении. Наблюдение за животными проводится строго в одно и то же время суток в течение 2 минут при постоянной местной освещенности манежа во время опыта лампой 500 Вт с зеркальным отражателем. Высота лампы над центром манежа 60 см, диаметр манежа 80 см, высота бортика из зеркальной жести 35см. Основание манежа изготавливают из дерева, покрывают белой водоотталкивающей краской и расчерчивают черными линиями на 16 квадратов.

Животных предварительно размещаются по 1 в коробке и спустя 5 минут поступают на опыт в манеж. Визуально подсчитывается количество пересеченных (4 лапами) квадратов при спонтанном перемещении животного. Длина пробега характеризует уровень двигательной активности животных. Одновременно учитывается реакция дефекации по количеству фекальных шариков, которая расценивается как эмоциональная реактивность животных.

Иммуномодулирующая активность гастродии исследовалась в отношении гуморальных и клеточных параметров неспецифического иммунитета: это влияние на активность нейтрофилов и лизоцима крови. В данной группе экспериментов настойка гастродии мышам вводилась внутрижелудочно ежедневно в течение 2 недель.

При определении лизоцимной активности in vivo изучалась его способность вызывать разрушение клеток тест-культуры m. Lyteus. Количество лизоцима оценивали в г/л по степени изменения мутности взвеси тест-культур. Мутность определялась на фотоэлектроколориметре ФЭК-М (Россия). Расчет осуществлялся с помощью калибровочной кривой, построение которой проводилось с помощью чистого препарата лизоцима.

Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали по показателю процент фагоцитоза (ПФ), изучая относительное количество нейтрофилов, проявивших фагоцитарную активность. Кровь мышей смешивали с двухмиллиардной взвесью Staphylococcus epidermidis в соотношении 1: 10 и инкубировали при 37° по Цельсию в течение 30 минут. После инкубации готовили кровяной мазок на предметном стекле. Мазок окрашивают по Романовскому-Гимзе. Учет результатов осуществлялся микроскопически. В мазке при увеличении 90 с иммерсионной системой подсчитывали процент фагоцитирующих нейтрофилов (показатель фагоцитоза - ПФ). Интенсивность фагоцитоза определяли на основании фагоцитарного индекса (ФИ) - количества объектов фагоцитоза, захваченных одним фагоцитом из ста фагоцитов пробы.

*Анализ полученных результатов* выполнен с использованием статистической программы "BIOSTATISTICA" Version 4.03 by Stanton A. Glantz (перевод на русский язык©1998 "Практика"). Различия между группами исследованы с помощью t-критерия Стьюдента, с расчетом 95% доверительного интервала для разности средних величин. Уровень статистической значимости был принят p<0,05. Данные представлены в виде M±m.

## 2. Результаты и их обсуждение

На начальном этапе исследования было проведено изучение острой токсичности настойки гастродии при внутрижелудочном введении. Проведенные первоначально исследования на токсичность настойки гастродии 70%, показали, что препарат не только относится к малоопасными веществам, но и снижает токсичность этанола не менее чем на 27% (таблица 1).

Таблица 1

Острая токсичность 70% настойки гастродии при внутрижелудочном введении

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Продукт | Доза исследуемого продукта в мл | | | | |
| ДМТ | DL16 | DL50 | DL84 | DL100 |
| Контроль (раствор 70% этанола) | 10,0 | 16,3 | 22,5±4,1 | 27,1 | 30 |
| 70% настойка гастродии | 15,0 | 21,8 | 28,6±3,9 | 34,3 | 40 |

ДМТ - доза минимальной токсичности (гибели животных не наблюдается)

DL16, DL50, DL84, DL100 - дозы, при которых наблюдается гибель 16, 50, 84 и 100% животных

Показателем сопротивляемости животных к воздействию гипоксии являлась продолжительность их жизни. Продолжительность жизни крыс в контрольной группе составила 71.2±4.2 минуты, а при использовании настойки гастродии в концентрации 70% - 91.0±4.6минут. Таким образом, при применении 70% настойки гастродии отмечалось достоверное повышение устойчивости к гипоксии подопытных животных в 1.31 раза по сравнению с контролем (таблица 2).

Актопротекторная активность оценивалась по времени плавания крыс с грузом в 10% от веса животного в воде при температуре 320С до полного утомления. Время плавания крыс в контрольной группе (таблица 2) составило 15,2±3,9 минут, а при использовании настойки гастродии - 38,0±4,26 минут, то есть она достоверно повышалась в 2,5 раза. .

Таблица 2

Антигипоксическая и актропротективная активность настойки гастродии

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Группы | Гипоксия: продолжительность жизни в мин | Плавание: продолжительность в мин |
| Контроль | 71,2±4,2 | 15,2±3,9 |
| 70% настойка гастродии | 91,0±4,6\* | 38,0±4,3\* |

\* - достоверная разница с контролем (р<0.05)

Изучение действия настойки гастродии на модели иммобилизационного стресса у крыс показало, что ее введение препятствует стрессорной инволюции тимуса, достоверно увеличивая его весовой коэффициент по сравнению с контролем на 32% (таблица 3).

Таблица 3

Стресспротективная активность настойки гастродии

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Группы | Исследуемые показатели | | | | |
| весовой  коэффициент | | Поражение слизистой  желудка | | |
|  | тимус | надпочечники | Степень  изъязвления | % крыс с язвами | коэффициент  Паурса |
| Интактные | 0,60±0,04 | 0,083±0,006 | - | - | - |
| Контроль | 0,45±0,01\* | 0,096±0,008 | 5,5±1,1\* | 100 | 5,5 |
| Гастродия | 0,58±0,02\*\* | 0,089±0,005 | 2,0±0,6\*\* | 50 | 1,0 |

\* - достоверная разница с интактными (р<0.05)

\*\* - достоверная разница с контролем (р<0.05)

Также исследуемый препарат активно препятствовал и гипертрофии надпочечников. Особое внимание на себя обращает гастропротективное (защита слизистой желудка от неблагоприятных воздействий) действие настойки гастродии при стрессе. Она не только снижало количество стрессорных язв у подопытных животных, но и в половине случаев препятствовала их образовании. Это свидетельствует о высокой гастропротективной активности гастродии при стрессе и позволяет предположить наличие у препарата противоязвенной активности.

При изучении поведенческих реакций по методике "открытое поле" обнаружено, что настойка гастродии повышала вертикальную компоненту двигательной активности в 1.75 раза, величина же горизонтальной компоненты оставалась практически неизменной. Это свидетельствует о том, что гастродия повышает, прежде всего, активность познавательной компоненты двигательной реакции. Одновременно с этим нарастает в 2,2 раза и эмоциональную активность крыс (рисунок 1).



Рисунок 1. Нейрогенная активность настойки гастродии по методике "открытое поле"

ДА - двигательная активность.

Эмоц. акт. - эмоциональная активность.

\* - достоверная разница с интактными (р<0.05)

Иммуномодулирующая активность гастродии исследовалась в отношении гуморальных и клеточных параметров неспецифического иммунитета. который обуславливает первичную резистентность к инфекционным заболеваниям. В качестве параметра, оценивающего клеточный иммунитет, исследовалась фагоцитарная активность нейтрофилов, а параметра, оценивающего гуморальный иммунитет - активность лизоцима. Как показало исследование, настойка гастродии 70% вызывала повышение фагоцитарной активности, как увеличивая число нейтрофилов (в 1,5 раза), принимающих участие в процессе фагоцитоза, так и несколько повышая (на 23%) интенсивность фагоцитоза. Еще более выражено гастродия влияла не гуморальное звено неспецифического иммунитета - уровень лизоцима крови возрастал в 1,9 раза. (таблица 5).

Таблица 5

Влияние настойки гастродии на показатели неспецифического иммунитета у белых мышей

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Группа | Показатель фагоцитоза (ПФ)% | Фагоцитарный индекс (ФИ) | Лизоцимная активность, г/л. |
| Контроль | 40 | 3,0 | 2,80 |
| Гастродия | 60\* | 3,7 | 5,25\* |

\* - достоверная разница с интактными (р<0.05)

## 3. Выводы

1. Настойка Гастродии высокой относится к нетоксичным малоопасным веществам.

2. Гастродия высокая значительно повышает устойчивость к экспериментальной гипоксии и обладает актопротекторным действием.

3. Отмечено антистрессорное и особенно значительное противоязвенное действие Гастродии высокой.

4. Гастродия высокая обладает нейротропной активностью, повышая, прежде всего, познавательную и эмоциональную активность крыс.

5. Настойка Гастродии высокой характеризуется иммуномодулирующим действием, что проявляется повышением фагоцитарной активности, усилением гуморального звена неспецифического иммунитета.

## Заключение

Проведенный анализ спектра биологической активности настойки Гастродии высокой, продемонстрировал ее разноплановый характер действия при различных моделях патологии, воспроизведенных на белых беспородных крысах и белых мышах. Подобное множественное или плеотропное нормализующее действие характерно для лекарственных препаратов из группы алдаптогенов: женьшеня, аралии маньчжурской, заманихи высокой, элеутерококка колючего, радиола розовой, лимонника китайского и др.

Таким образом, благодаря уникальному химическому составу Гастродии высокой, данное растение может быть отнесено к группе адаптогенов, что делает ее перспективной для дальнейшего исследования с целью создания нового лекарственного препарата, обладающего адаптогенными свойствами.

## Список использованных источников литературы

1. Абдурахманов Т.М., Омаров Ш.М., Агаева Э.Н., Гаджиева Р. М Сочетанное использование адаптогенов для повышения работоспособности. // Фундаментальные исследования как основа создания лекарственных средств: Тезисы докл. I Съезда Российского научного общества фармакологов. - Волгоград, 1995. - С.4.
2. Агаева Э.Н. Влияние комбинированного применения растительных адаптогенов и продуктов пчеловодства на физическую работоспособность спортсменов: Автореф. Дисс. … канд. - М., 1995. - 25 с.
3. Алексеева С.Н. Влияние адаптогенов на иммунную и кроветворную системы в условиях радиационного и цитостатического воздействия: Автореф. Дисс. … канд. - Новосибирск, 1996. - 16 с.
4. Альберт А. Избирательная токсичность. - М., 1989. - Т.1. - 400 с.
5. Бажанов Н.О. Избранные лекции по фармакотерапии. - Ярославль, 2005. - 300 с.
6. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. - Л., 1963. - 153 с.
7. Самойлов Н.Н., Третьякова Е.Н., Кузьмин В.И. и др. Влияние новых производных 3 - оксипиридина на физическую работоспособность в экстремальных условиях // Фундаментальные исследования как основа создания лекарственных средств: Тезисы докл. I Съезда Российского научного общества фармакологов. - Волгоград, 1995. - С.369.
8. Сефулла Р.Д., Азизов А.П., Анкудинова И.П., Кондратьева И.И. Взаимосвязь антиоксидантной активности и физической работоспособности у спортсменов под влиянием комплексных адаптогенов растительного происхождения // Казанский мед. журн. - 1997. - N3. - С.183-185.
9. Сейфулла Р.Д., Бочарова Л.Г., Кондратьева И.И. и др. Действие адаптогенов растительного происхождения при экстремальных нагрузках // III Российский национальный конгресс "Человек и лекарство": Тез. докл. - М., 1996. - С.285.
10. Сейфула Р.Д., Борисова И.Г. Проблемы фармакологии антиоксидантов // Фармакол. и токсикол. - 1990. - N6. - C.3-10.
11. Семейкин А.В., СтаневскаяТ.Ю., Чермных Н.С., Сергеев П.В. Механизм тимолитического действия анаболических стероидов // Фармакол. и токсикол. - 1991. - N4. - C.37-38.
12. Waegeneer N., Chleide E., Mercier M. Study of the troubles indyced by hypoxia on memory, and of the piracetam potential protection against them // Belg. J. Zool. - 1990. - Vol.120. - P.67.
13. Wacker A. Uber die Interferon induzierende und immunstimulierende Wirkung von Eleutherococcus // Acta medica empifica. - 1983. - N6. - P.340-343.
14. Wacker A., Eilmes H. - G. Virushemmung mit eleuterokokk Fluid-Extract // Erfahrungsheilkunde. - 1978. - Vol.27. - P.346-351.
15. Wagner G., Carelli M.,Jarvis F. Pretreatment with ascorbic acid attenuated the neurotoxic effects of metamphetamine in rat // Res.commun. chem. Pathol. and Pharmacol. - 1985. - Vol.47. - P.221-228.