

С. С. Прихожий*, А. С. Захаревский*, З. П. Кузнецова,
В. Г. Цыганков, А. М. Бондарук

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФЛАВОНОИДНОГО КОМПЛЕКСА БОЯРЫШНИКА МЯГКОВАТОГО

ВВЕДЕНИЕ

Препараты боярышника издавна используются в официальной и народной медицине как дополнительное средство при лечении коронарной недостаточности, нарушениях ритма сердца и мозгового кровообращения. Интерес к разным видам боярышника как источнику лекарственных препаратов не ослабевает до настоящего времени [1]. Чаще всего используют в качестве лекарственного сырья цветки и плоды боярышника, что нарушает естественный процесс развития растений и воспроизводство его в природе.

Имеется пример использования в качестве лекарственного сырья листьев боярышника. В Болгарии разработан лекарственный препарат из листьев боярышника однопестичного *Crataegus monogyna* Sarg. — кратемон, который по своей фармакологической активности не уступает препаратам из плодов и цветков этого растения [2].

Сравнительное изучение химического состава различных видов рода Боярышник, интродуцированных в Беларуси, показало, что листья боярышника мягковатого *Crataegus submollis* Sarg. наиболее богаты биологически активными соединениями [3] и, следовательно, перспективны для разработки нового препарата боярышника.

Из воздушно-сухих листьев боярышника мягковатого нами выделен суммарный препарат полифенолов (СППЛБМ), представляющий собой аморфный порошок зеленого цвета, хорошо растворимый в этаноле. Основными компонентами СППЛБМ являются гиперин, авикулярин, кверцитрин, витексин, витексин-4-рамнозид, кратенацин, дезацетилкратенацин.

* Минский государственный медицинский институт.

Цель настоящего исследования — экспериментальное изучение кардиотропной и нейротропной активности, а также острой токсичности СППЛБМ.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение фармакологической активности СППЛБМ осуществлялось в сравнении с кратемоном (суммарным препаратом из листьев боярышника однопестичного) и хинидином — широко применяемым в клинике противоритмическим средством.

Опыты поставлены на 187 белых мышах (18—22 г), 62 белых крысах (200—240 г) и 10 морских свинках (300—350 г) обоего пола. Животные получены из питомника АМН РСФСР «Рапполово» (Ленинградская область). Все болезненные процедуры на животных выполнены под общей анестезией.

Влияние препарата на сердечную деятельность оценивали по изменениям электрокардиограммы (ЭКГ) у бодрствующих и наркотизированных крыс (уретан 1 г/кг или гексенал 70 мг/кг внутривенно). ЭКГ во втором отведении регистрировали на одноканальном чернильно-пишущем электрокардиографе с помощью игольчатых электродов или специальных зажимов периодически на протяжении 2 ч. На ЭКГ определяли амплитуду зубца R (мВ), длительность интервалов PQ, RST (с), смещение сегмента S-T (мВ) по отношению к изолинии, частоту сердечных сокращений (ЧСС) в 1 мин. О степени ишемии миокарда судили по уровню смещения сегмента S-T при коронарораспазме у белых крыс, вызванном введением в хвостовую вену питуитрина в дозе 2 ЕД/кг [4]. О противоритмическом действии препарата судили по изменению аритмогенной дозы аконитина гидробромида, раствор которого в концентрации 10^{-5} г/мл вводили крысам в яремную вену со скоростью 0,1 мл/мин до появления аритмии. СППЛБМ вводили в дозах от 0,5 до 10% от ЛД₅₀ за 5—30 минут до регистрации названных показателей.

Хронотропное и инотропное действие препарата изучено на модели изолированно сокращающегося предсердия морских свинок при температуре оксигенированного

питательного раствора Локка 37 °С [5]. Об инотропном действии судили по изменению величины амплитуды, о хронотропной активности — по частоте сокращения изолированного предсердия. Сокращения предсердия регистрировали с помощью фотодатчика на самопишущем потенциометре ЭПП-09.

Влияние препарата на центральную нервную систему оценивали по изменению у белых мышей ориентировочной реакции (заглядывание в отверстия в полу) и эмоциональной реактивности (по грумингу) [6], а также по его действию на продолжительность у них сна, вызванного введенным внутрибрюшинно хлоралгидратом (300 мг/кг), тиопентал-натрием (30 мг/кг) и гексаналом (60 мг/кг).

Острую токсичность препарата изучали в опытах на белых мышцах при внутрибрюшинном введении по методу Литчфилда и Уилкоксона. Определяли дозы, вызывающие гибель 16, 50 и 84% экспериментальных животных [8].

Результаты опытов обработаны статистически с помощью специальных программ [7]. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Влияние СППЛБМ на сердечную деятельность.

При введении СППЛБМ как бодрствующим, так и наркотизированным уретаном белым крысам внутрибрюшинно в дозе 65 мг/кг существенных изменений ЭКГ не наблюдалось. При введении препарата в той же дозе крысам, наркотизированным гексаналом, отмечалось уменьшение величины зубца R примерно в 2 раза. Сегмент S-T смещался вверх от изолинии, а частота сердечных сокращений возрастала на 75—125 мин⁻¹ ($p < 0,05$). Указанные изменения ЭКГ регистрировались на протяжении всего периода наблюдения — около 2 ч. Причем изменения предсердно-желудочковой и внутрижелудочковой проводимости, величины электрической систолы желудочков и в этом случае не наблюдалось.

Введение питуитрина крысам, наркотизированным уретаном, сопровождалось увеличением амплитуды зубца R и снижением частоты сердечных сокращений. Сегмент

S-T у 6 из 7 животных смещался вверх. У отдельных животных регистрировались единичные экстрасистолы. Введение СППЛБМ за 30 мин до питуитрина усиливает влияние последнего на амплитуду зубца R (повышение на 71,4%). Урежение сердечного ритма, вызываемое питуитрином, было менее выраженным, не отмечалось также смещение сегмента S-T, и уменьшилось количество животных, у которых регистрировались экстрасистолы (таблица).

Т а б л и ц а. Влияние СППЛБМ (65 мг/кг) на некоторые электрокардиографические показатели у наркотизированных крыс

Исследуемый показатель	Исходные	Питуитрин	СППЛБМ	СППЛБМ + питуитрин
Зубец R, мВ	0,44 ± 0,06	0,69 ± 0,06*	0,49 ± 0,05	0,84 ± 0,07*
ЧСС, мин	482 ± 28	245 ± 33*	402 ± 24	302 ± 30*
Сегмент S-T, мВ	+0,23 ± 0,03	+0,69 ± 0,05*	+0,30 ± 0,06	+0,37 ± 0,06

П р и м е ч а н и е. * статистически достоверные изменения по отношению к исходным показателям ($p < 0,05$).

Аконитина гидробромид, вводимый в вену белым крысам, вызывал стойкую аритмию, характеризующуюся бигеминией, политопной экстрасистолией, желудочковой тахикардией и фибрилляцией. Аритмогенная доза его равнялась $21,7 \pm 1,1$ мкг/кг. СППЛБМ, введенный внутривенно в дозе 10—20 мг/кг за 5 мин до введения аконитина гидробромидом, увеличил аритмогенную дозу последнего на 38—53%, в дозе 40—60 мг/кг — на 82—118%, а в дозе 90 мг/кг — в 2,7 раза ($58,8 \pm 13,0$ мкг/кг). Приведенные дозы препарата составляют от 2 до 10% от ЛД₅₀ при внутрибрюшинном введении белым мышам.

Известный противоаритмический препарат ксикаин в дозе 2,6 мг/кг внутривенно (2% от ЛД₅₀) был неактивен на этой модели аритмии, а хинидина сульфат в дозе 5,5 мг/кг внутривенно (3% от ЛД₅₀) повысил аритмогенную дозу аконитина гидробромидом лишь на 25%.

Изолированное правое предсердие морских свинок спонтанно сокращается с частотой 174 ± 8 сокращений/мин. Амплитуда сокращений равна $11,5 \pm 0,5$ мм. СППЛБМ (в конечной концентрации 10^{-6} г/мл) в течение 10 мин наблюдения существенно не изменял частоту сокращений

изолированного предсердия, но увеличивал амплитуду сокращения в среднем на 10% ($p < 0,05$). Повторное исследование СППЛБМ на этих же препаратах предсердий через 15—20 мин в концентрации 10^{-5} г/мл также не выявило существенного влияния на частоту сокращений, в то же время амплитуда сокращений возросла еще в большей степени — до $32 \pm 9\%$ по сравнению с исходной. В обоих случаях «отмывание» предсердий сопровождалось возвращением амплитуды сокращений к исходному уровню.

2. Влияние СППЛБМ на центральную нервную систему.

У контрольных животных исследовательский компонент ориентировочной реакции (заглядывание в отверстие в полу) варьировал в разных группах от $20,8 \pm 2,5$ до $23,2 \pm 2,0$, а вертикальный компонент (вставание на задние лапки) от $2,9 \pm 0,8$ до $7,5 \pm 1,1$. Число актов груминга (умываний) составляло в отдельных группах мышей от 1 до 5,5. При внутрибрюшинном введении мышам СППЛБМ в дозе 3,2 мг/кг (0,5% от ЛД₅₀) показатели ориентировочной реакции и эмоциональной реактивности существенно не изменялись по сравнению с контролем. Увеличение дозы изучаемого препарата до 6,5; 13,0; 26,0 мг/кг (1—4% от ЛД₅₀) сопровождалось достоверным угнетением ориентировочного рефлекса: исследовательский компонент снижался на 47% ($13,5 \pm 2,1$), 57% ($10,0 \pm 3,5$) и 66% ($7,3 \pm 3,3$), соответственно. Количество вставаний на задние лапки снизилось с $7,5 \pm 2,1$ до $3,0 \pm 1,0$ лишь при действии препарата в дозе 26 мг/кг, при этом угнеталась и эмоциональная реактивность — количество «умываний» у животных уменьшилось в 5,5 раз.

С целью сравнения по исследованным тестам был использован кратемон (Фармахим, Болгария), содержащий смесь флавоноидов из листьев боярышника однопестичного. Этот препарат при внутрибрюшинном введении в дозах 6,5 и 13 мг/кг не влиял на показатели ориентировочной реакции и эмоциональной реактивности у белых мышей. При увеличении дозы кратемона до 26 мг/кг наблюдалось уменьшение количества обследованных отверстий в полу на 58% (с $20,8 \pm 2,5$ до $8,7 \pm 2,4$), вставаний на задние лапки — в 3,8 раза (с $7,5 \pm 2,1$ до $2,0 \pm 1,1$), а эмо-

циональная реактивность мышей, оцениваемая по количеству актов груминга, полностью подавлялась.

Хлоралгидрат, введенный белым мышам внутрибрюшинно в дозе 300 мг/кг, вызвал у них через $4,5 \pm 0,3$ мин боковое положение, длящееся $93,5 \pm 15,1$ мин. Внутрибрюшинное введение СППЛБМ в дозе 65 мг/кг (10% от ЛД₅₀) существенно не изменило время наступления сна у мышей ($4,1 \pm 0,1$ мин); но удлинит продолжительность сна на 51% (до $141,4 \pm 9,9$ мин, $p < 0,05$).

После внутрибрюшинного введения белым мышам тиопентала натрия в дозе 30 мг/кг сон у животных не наступал. СППЛБМ, введенный внутрибрюшинно в дозе 65 мг/кг через 30 мин после введения тиопентала натрия, у 75% мышей через $5,3 \pm 0,6$ мин вызвал сон продолжительностью $48,2 \pm 8,5$ мин.

После внутрибрюшинного введения гексенала в дозе 60 мг/кг белые мыши засыпали через $3,7 \pm 0,3$ мин и спали $99,3 \pm 15,2$ мин. СППЛБМ, введенный внутрибрюшинно в дозах 13 и 65 мг/кг, существенно не изменил длительность латентного периода засыпания ($3,5 \pm 0,4$ и $4,5 \pm 0,4$ мин, соответственно) и продолжительность бокового положения мышей ($77,5 \pm 1,1$ и $82,1 \pm 1,0$ мин), вызванного гексеналом.

3. Острая токсичность СППЛБМ для белых мышей.

Внутрибрюшинное введение СППЛБМ в дозе 500 мг/кг не вызвало гибели белых мышей, но сопровождалось выраженной картиной отравления. Через 10—15 мин после введения развивались нарушения координации движений, общее угнетение. Спустя 20—25 мин дыхание становилось поверхностным, аритмичным, у некоторых животных отмечены мышечные подергивания. В течение 1—1,5 ч состояние большинства животных нормализовалось, а часть мышей засыпала.

При увеличении дозы препарата до 600—700 мг/кг симптомы отравления развивались быстрее и были более выраженными. Общее угнетение и адинамия отмечались уже через 5—10 мин. На 10—15 мин у большинства мышей наблюдались приступообразные, повторяющиеся через 1—3 мин клонико-тонические судороги, длящиеся

1—4 мин. Дыхание становилось поверхностным, аритмичным, частота дыхания урежалась до 50—70 в мин. У некоторых животных наблюдался паралич задней части туловища. Отдельные животные погибали от остановки дыхания и сердца во время одного из приступов судорог на 40—50-й минуте. У выживших мышей судороги постепенно прекращались, но общее угнетение, снижение реакции на звуковые, световые, тактильные раздражения наблюдалось еще в течение 2—3 ч. После введения СППЛБМ в дозе 600 мг/кг внутривентриально из 7 мышей погибла 1 (14,3%), в дозе 650 мг/кг — 4 (57,2%), в дозе 700 мг/кг погибло 6 (85,7%) животных. Доза, вызывающая гибель 50% животных (ЛД₅₀), равна 656 (610,8—704,5) мг/кг внутривентриально, ЛД₁₆ составила 600 мг/кг, а ЛД₈₄ — 699 мг/кг.

Заключение

Суммарный препарат полифенолов из листьев боярышника мягковатого (СППБМ) обладает выраженным противоритмическим и противоишемическим действием, предупреждает развитие питуитринового коронарораспазма у наркотизированных уретаном белых крыс, оказывает депримирующее центральное действие и характеризуется низкой токсичностью для белых мышей.

Литература

1. Кашникова М. В., Самылина И. А. Изучение растений рода Боярышник как источника лекарственных препаратов сердечного действия // В кн.: Изыскание новых способов изготовления лекарств и методов их исследования. Сб. тр. 1 Моск. мед. ин-та. М., 1983. С. 70—72.
2. Манолов П., Николов Н., Тихолов К. Кратемон: Экспериментально-клинические исследования. София, Фармахим, 1980.
3. Чекалинская И. И., Кузнецова З. П. К хемосистематическому изучению растений рода Боярышник // Изв. АН БССР. Сер. Биол. наук. 1985. № 4.
4. Зверькова Е. Е., Михалкина И. И. Некоторые показатели ЭКГ и метаболических процессов при экспериментальном коронарораспазме у крыс, тренированных гипоксией в сочетании с гиперкапнией // Бюлл. exper. биол. и медицины. 1982. XCIV. № 10.
5. Гацуро В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. М., Медицина, 1974. 142 с.

6. Марцонь Л. В., Шепельская Н. Р. К вопросу изучения поведенческих реакций крыс в гигиенических исследованиях // Гигиена и санитария. 1980. № 7. С. 46—47.

7. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологических эффектов. Л., 1963. 152 с.

8. Тринус Ф. П., Колодяжный В. И., Кондратюк В. И., Чубенко А. В. Автоматизированные методы обработки экспериментальных клинических данных с использованием микрокалькуляторов «Электроника БЗ-34». Киев, 1985. 25 с.

УДК 613:615.582.032

Е. А. Римжа

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ МЕТОДОЛОГИИ ГИГИЕНИЧЕСКОГО РЕГЛАМЕНТИРОВАНИЯ И КОНТРОЛЯ ТАБАЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ

Современное производство табачных изделий (ТИ) характеризуется разнообразием технологических подходов к выращиванию табака, включающих селекцию новых сортов и химическую обработку агрокультуры, оптимизацию методов культивации почвы и обработки табачного сырья. Модифицируются также сами сигаретные изделия путем совершенствования фильтров, специальной обработки бумаги для изменения состава дыма и скорости горения, включения ароматизаторов, соусирования и т. д. [1—5].

В последние десятилетия в качестве менее опасной (в плане отсутствия ингаляционного воздействия) формы табака шире стали применяться разновидности некурительного табака (так называемый «бездымный табак»), который производится главным образом для использования в виде жевательного и нюхательного [6—8].

Натуральный табак содержит более 2500 идентифицированных компонентов (полисахариды, белки, алкалоиды, алканы, терпены, полифенолы, фитостерины, карбоновые кислоты, около 30 соединений металлов, большое количество спиртов, альдегидов, кетонов, аминов, амидов, гетероциклических соединений), однако наиболее