

## АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НАСТОЙКИ *CIMICIFUGA DAHURICA*

### Я.Г. Разуваева

д.б.н., ст. науч. сотрудник, лаборатория безопасности биологически активных веществ, Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (г. Улан-Удэ);  
Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования - филиал ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (г. Иркутск)  
E-mail: tatur75@mail.ru

### А.А. Торопова

к.б.н., науч. сотрудник, лаборатория безопасности биологически активных веществ, Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (г. Улан-Удэ)

### Д.Э. Гармаев

аспирант, лаборатория безопасности биологически активных веществ, Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (г. Улан-Удэ)

Исследована антигипоксическая активность настойки *Cimicifuga dahurica*. Установлено, что настойка *C. dahurica* в диапазоне доз 0,5–2,0 мл/кг обладает антигипоксическим действием, увеличивая продолжительность жизни животных при гипоксической, гемической и гистотоксической гипоксиях. Показано, что настойка *C. dahurica* в дозе 1,0 мл/кг снижает выраженность процессов свободнорадикального окисления, повышает активность эндогенной антиоксидантной системы, а также увеличивает эффективность сопряжения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в мозге белых крыс при гипоксии/реоксигенации.

**Ключевые слова:** настойка *Cimicifuga dahurica*, гипоксия, антигипоксическая активность, свободнорадикальное окисление, эндогенная антиоксидантная система, окислительное фосфорилирование.

*Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim. (цимицифуга даурская) – многолетнее травянистое растение семейства лютиковых (Ranunculaceae). В народной медицине *C. dahurica* используется в виде порошка, настойки и жидкого экстракта при головных болях, начальных стадиях гипертонической болезни, при повышенной нервной возбудимости, истерии, бессоннице и др. [1]. В тибетской медицине *C. dahurica* входит в состав сборов, применяющихся при болезнях «гза» («болезни, насылаемые духами»): инсультах, параличах и других нарушениях функций нервной системы [2]. В клинике в середине XX века настойку *C. dahurica* использовали для лечения гипертонической болезни. Известно, что настойка *C. dahurica* оказывает седативное действие, ограничивая двигательную, ориентировочно-исследовательскую активность и рефлекторную возбудимость животных, а также увеличивая продолжительность наркотического сна [3]. В опытах на белых крысах линии Wistar установлено, что настойка *C. dahurica* оказывает выраженное анксиолитическое, антидепрессивное и антиагрессивное действие [4, 5].

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – оценка антигипоксической активности настойки *C. dahurica*.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования выполнены на 152 крысах обоего пола линии Wistar с исходной массой 180–200 г. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP) и Приказу МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Перед началом экспериментов животных, отвечающих критериям включения в эксперимент, распределяли на группы с учетом принципа рандомизации.

Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР №755 от 12.08.77 г.), «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986). Протокол исследования согласован этическим комитетом ИОЭБ СО РАН (протокол № 3 от 03.09.2012).

В первой серии экспериментов исследовали антигипоксическую активность настойки *C. dahurica* на трех моделях: гиперкапнической, гемической и гистотоксической гипоксии. Модель гипоксии с гиперкапнией воспроизводили путем

помещения животных в герметичную емкость вместимостью 1 л; гемическую и гистотоксическую гипоксии вызывали однократным внутрибрюшинным введением животным соответственно натрия нитрита (200 мг/кг) и натрия нитропруссид (20 мг/кг) [6]. Антигипоксическое действие оценивали по времени жизни животных. Животным опытных групп внутрижелудочно вводили деалкоголизованный раствор *C. dahurica* в дозах 0,5; 1,0 и 2,0 мл/кг 1 раз в сутки в течение семи дней, последний раз за 30 мин до моделирования гипоксии. В качестве препарата сравнения использовали деалкоголизованную валерианы настойку в дозе 1,0 мл/кг. Крысы контрольной группы получали воду очищенную по аналогичной схеме. В каждую группу входило по восемь животных.

Во второй серии экспериментов исследовали влияние настойки *C. dahurica* на энергетические процессы в головном мозге белых крыс при гипобарической гипоксии. Животные были разделены на три группы: интактная, контрольная и опытная. Животные опытной группы до моделирования гипоксического состояния получали настойку *C. dahurica* в дозе 1,0 мл/кг в сутки в течение семи дней, последний раз за 30 мин до моделирования гипоксии, животные интактной и контрольной групп – воду очищенную по аналогичной схеме. На седьмые сутки эксперимента животных контрольной и опытной групп подвергали острой гипобарической гипоксии, с последующей 3-часовой реоксигенацией (Р). Острую гипобарическую гипоксию (ГГ) моделировали путем подъема лабораторных животных в барокамерной установке на «высоту» 9000 м со средней скоростью 50 м/с и нахождения их в этих условиях в течение 30 мин [6]. Спустя 3 ч после восстановления исходного режима кислородного обеспечения крыс декапитировали под эфирным наркозом. Об энергетическом состоянии головного мозга судили по содержанию аденозинтрифосфата (АТФ) [7], молочной (МК) и пировиноградной (ПВК) кислот [8]. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по скорости образования малонового диальдегида (МДА) [8], состояние эндогенной антиоксидантной системы – по уровню активности каталазы [9] и содержанию восстановленного глутатиона (GSH) в гомогенате головного мозга белых крыс [10]. Количественное содержание белка определяли методом Брэдфорда.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ

«Biostat-2006» с использованием *t*-критерия Стьюдента. Различия между сравниваемыми группами считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показали, что настойка *C. dahurica* в дозах 0,5; 1,0 и 2,0 мл/кг оказывает выраженное антигипоксическое действие в условиях гипоксии с гиперкапнией (табл. 1), увеличивая продолжительность жизни крыс на 24, 32 и 29% соответственно по сравнению с продолжительностью жизни контрольных животных. При этом антигипоксическая активность испытуемого препарата превосходила таковую у препарата сравнения – валерианы настойки.

Установлено, что на фоне введения настойки *C. dahurica* в дозах 0,5 и 1,0 мл/кг резервное время жизни животных при острой гемической гипоксии увеличилось в среднем на 16% по сравнению с контролем. При этом испытуемая настойка в дозе 2,0 мл/кг, а также препарат сравнения на данной модели гипоксии не проявляли антигипоксических свойств.

Показано, что курсовое введение животным настойки *C. dahurica* в дозах 0,5; 1,0 и 2,0 мл/кг сопровождается увеличением продолжительности жизни белых крыс при гистотоксической гипоксии соответственно на 27, 36 и 18% по сравнению с таковым у животных контрольной группы. Препарат сравнения проявлял аналогичное антигипоксическое действие.

Таким образом, настойка *C. dahurica* в диапазоне исследуемых доз проявляет антигипоксическую активность, что можно объяснить входящими в ее состав оксикоричными кислотами [11]. Так, по данным К.Т. Сампилова и соавт. [12], кофейная и феруловая кислоты обладают антигипоксическим эффектом при гипоксической гипоксии.

Наиболее выраженное антигипоксическое действие, превосходящее таковое препарата сравнения, настойка *C. dahurica* проявляет в дозе 1 мл/кг. Для дальнейших исследований была взята данная дозировка.

Известно, что одним из главных патогенетических звеньев при гипоксических нарушениях является дефицит энергии в клетках. Повреждающее действие гипоксии усугубляется накоплением недоокисленных продуктов с появлением высокотоксичных свободных радикалов, что вызывает дальнейшую дезорганизацию дыхательной цепи с усугубляющимся энергодефицитом в клетках [13].

**Таблица 1. Влияние настойки *C. dahurica* на продолжительность жизни белых крыс при нормобарической гипоксии с гиперкапнией**

Группа животных	Продолжительность жизни, мин		
	Нормобарическая	Гемическая	Гистотоксическая
Контрольная	48,3±1,62	26,3±0,94	16,5±1,19
<i>C. dahurica</i> , 0,5 мл/кг ( <i>n</i> = 8)	60,0±1,93*	30,4±1,02*	20,9±1,03*
<i>C. dahurica</i> , 1,0 мл/кг ( <i>n</i> = 8)	63,8±3,22*	30,9±1,14*	22,4±1,53*
<i>C. dahurica</i> , 2,0 мл/кг ( <i>n</i> = 8)	62,3±4,03*	28,0±0,93	19,5±0,48
Валерианы настойка, 1,0 мл/кг ( <i>n</i> = 8)	53,9±3,71	28,3±1,29	21,4±0,76*

Примечание: \* – различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$  между данными контрольной и опытной групп; *n* – число животных в группе.

**Таблица 2. Влияние настойки *C. dahurica* на содержание АТФ, молочной и пировиноградной кислот в ткани мозга при острой гипобарической гипоксии/реоксигенации**

Показатель	Группа животных		
	Интактная (H <sub>2</sub> O), <i>n</i> = 8	Контрольная (ГГ/Р+H <sub>2</sub> O), <i>n</i> = 8	Опытная (ГГ/Р + <i>C. dahurica</i> ), <i>n</i> = 8
АТФ, мкмоль/г ткани	1,41±0,01	0,46±0,07	0,98±0,11*
МК, ммоль/г ткани	2,1±0,34	3,7±0,26	2,5±0,03*
ПВК, ммоль/г ткани	0,15±0,042	0,09±0,004	0,11±0,02
Соотношение МК/ПК	14	41	23

Примечание: см. табл. 1.

**Таблица 3. Влияние настойки *C. dahurica* на состояние про-и антиоксидантного статуса головного мозга белых крыс при острой гипобарической гипоксии/реоксигенации**

Показатель	Группа животных		
	Интактная (H <sub>2</sub> O), <i>n</i> = 8	Контрольная (ГГ/Р+H <sub>2</sub> O), <i>n</i> = 8	Опытная (ГГ/Р + <i>C. dahurica</i> ), <i>n</i> = 8
МДА, мкмоль/г ткани	4,28 ± 0,34	11,21 ± 0,41	6,47 ± 0,25*
Каталаза, мкат/мг белка	7,52 ± 0,60	3,80 ± 0,22	4,91 ± 0,45*
GSH, ммоль/мг белка	1,52 ± 0,12	0,74 ± 0,04	0,97 ± 0,12*

Примечание: см. табл. 1.

Данные, представленные в табл. 2, показывают, что гипобарическая гипоксия с последующей реоксигенацией способствует снижению в головном мозге концентрации АТФ в 3,0 раза и ПВК на 40%, а также повышению содержания МК в 1,8 раза по сравнению с показателями животных интактной группы. В результате этого индекс лактат/пируват в контрольной группе составил 41/1, что в 2,9 раза выше, чем в интактной.

Курсовое введение животным настойки *C. dahurica* нивелировало отрицательное воздействие на организм гипоксии/реоксигенации. Так, в

гомогенате головного мозга концентрация АТФ повышалась в 2,1 раза, содержание МК снижалось на 32% по сравнению с данными контрольных животных. Отношение лактат/пируват в опытной группе составило 23/1, что на 44% ниже показателя контрольной группы животных. Таким образом, исследуемое фитосредство способствует повышению интенсивности гликолиза с сопутствующим усилением утилизации лактата в глюконеогенезе и снижением выраженности ацидоза.

Установлено, что острая гипобарическая гипоксия сопровождается активацией свободноради-

кальных процессов и ингибированием эндогенной антиоксидантной системы, что согласуется с данными литературы [14, 15]. В контрольной группе животных наблюдается повышение содержания МДА в 2,6 раза, а также снижение активности каталазы и содержания восстановленного глутатиона в среднем в 2,0 раза, что свидетельствует о напряженности компенсаторных реакций в организме (табл. 3).

Показано, что в условиях гипоксии/реоксигенации испытуемая настойка проявляет антиоксидантное действие, восстанавливая баланс между про- и антиоксидантными системами. У животных опытной группы отмечается снижение содержания МДА в 1,7 раза, повышение активности каталазы и содержания GSH – на 29 и 31% соответственно, по сравнению с данными животных контрольной группы.

Выявленная антиоксидантная активность настойки *C. dahurica* вносит существенный вклад в проявление ее антигипоксической активности, препятствуя генерации и повреждающему действию АФК и повышая тем самым эффективность сопряжения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Указанный эффект исследуемого фитосредства обусловлен содержанием в его составе фенольных соединений и сапонинов, проявляющих выраженную антиоксидантную активность [16, 17].

## Выводы

1. Настойка *Cimicifuga dahurica* в диапазоне доз 0,5–2 мл/кг обладает антигипоксической активностью, снижает выраженность процессов свободнорадикального окисления, повышает активность эндогенной антиоксидантной системы, а также увеличивает эффективность сопряжения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в мозге при гипоксии/реоксигенации. Вероятно, что данный эффект обусловлен наличием в его составе полифенольных соединений  $\gamma$ -пироновых соединений, оказывающих выраженное антиоксидантное действие [16, 17].
2. Результаты исследования позволяют рассматривать настойку *C. dahurica* в качестве перспективного растительного средства, корригирующего свободнорадикальные и энергетические процессы в головном мозге при гипоксических состояниях.

## ЛИТЕРАТУРА

1. И.П., Верлан Н.В., Разуваева Я.Г. Фитокоррекция заболеваний нервной системы (клинические и экспериментальные данные). Иркутск. 2014. 132 с.
2. Асеева Т.А., Дашиев Д.Б., Дашиев А.Д. и др. Тибетская медицина у бурят. Новосибирск. 2008. 324 с.
3. Обольский Д.М., Сокольская Т.А., Денисов А.А. Цимицифуга кистевидная: химический состав, фармакологические свойства и применение в медицине // Фармация. 2007. № 1. С. 52–56.
4. Гармаев Д.Э., Разуваева Я.Г., Шантанова Л.Н. Психотропное действие настойки *Cimicifuga dahurica* // Вестник Бурятского государственного университета. Сер. Медицина и фармация. 2013. С. 49–52.
5. Гармаев Д.Э., Шантанова Л.Н., Разуваева Я.Г., Николаев С.М. Анксиолитическое действие *Cimicifuga dahurica* // Сибирский медицинский журнал. 2013. Т. 121. № 6. С. 154–155.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. М., 2012. 832 с.
7. Petergnani S., Baldassari F., Marchi E. et al. Methods to Monitor and Compare Mitochondrial and Glycolytic ATP Production // Methods in Enzymology. 2014. V. 542. P. 313–332.
8. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М. 2009. 890 с.
9. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–19.
10. Shaik I.H., Mehvar R. Rapid determination of reduced and oxidized glutathione levels using a new thiol-masking reagent and the enzymatic recycling method: Application to the rat liver and bile samples // Anal Bioanal Chem. 2006. V. 385. № 1. P. 105–113.
11. Liu I.M., Chi T.C., Hsu F.L., Chen C.F., Cheng J.T. Isoferulic acid as active principle from the rhizoma of *Cimicifuga dahurica* to lower plasma glucose in diabetic rats // Planta medica. 1999. V. 65. № 8. P. 712–714.
12. Самтеева К.Т., Оганова Г.М., Ивашеев М.Н., Чулкин Р.Е. Гусейнов А.К. Изучение эффектов некоторых аминокислот при гипоксической гипоксии // Биомедицина. 2010. № 4. С. 122–123.
13. Оковитый С.В., Суханов Д.С., Запутанов В.А. и др. Антигипоксанты в современной клинической практике // Клиническая медицина. 2012. № 9. С. 63–68.
14. Greer D.M. Mechanisms of injury in hypoxic-ischemic encephalopathy: implications to therapy // Semin. Neurol. 2006. V. 26. № 4. P. 373–379.
15. Busl K., Greer D. Hypoxic-ischemic brain injury: pathophysiology, neuropathology and mechanisms // Neuro. Rehab. 2010. V. 26. № 1. P. 5–13.
16. Caia Y.-Z., Sunb M., Xingc J., Luod Q., Corke H. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants // Life Sciences. 2006. V. 78. № 25. P. 2872–2888.
17. Qin R., Zhao Y., Zhao Y., Zhou W., et al. Polyphenolic compounds with antioxidant potential and neuro-protective effect from *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim // Fitoterapia. 2016. V. 115. P. 52–56.

Поступила 8 июня 2017 г.

# ANTIHYPoxic ACTIVITY OF *CIMICIFUGA DAHURICA* TINCTURE

© Authors, 2017

## Ya.G. Razuvaeva

Dr.Sc. (Biol.), Senior Research Scientist, Institute of General and Experimental Biology SB RAS (Ulan-Ude);  
Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education - Branch Campus of the Russian Medical Academy  
of Continuing Professional Education (Irkutsk)

E-mail: tatur75@mail.ru

## A.A. Toropova

Ph.D. (Biol.), Research Scientist, Institute of General and Experimental Biology SB RAS (Ulan-Ude)

## D.E. Garmaev

Post-graduate Student, Institute of General and Experimental Biology SB RAS (Ulan-Ude)

The aim of the study is to estimate antihypoxic activity of the tincture from *Cimicifuga dahurica*. The experiments were carried out on white Wistar rats. The results have shown that the tincture from *C. dahurica* extends life span in animals with hypoxic hypoxia (by 24-32%), hemic hypoxia (by 16%) and histotoxic hypoxia (by 18-36%). In hypoxia/reoxygenation conditions the tincture at a dose of 1.0 ml/kg decreases the MDA content (by 1.7 times), increases the catalase activity (by 29%) and the GSH content (by 31%) in the brain homogenate of white rats. The tincture from *C. dahurica* increases the ATP concentration (by 2.1 times), decreases the lactate content (by 32%) in the brain homogenate of white rats with hypoxia/reoxygenation. Thus, the *C. dahurica* tincture has the antihypoxic activity, decreases the manifestation of free radical oxidation processes, increases the activity of the endogen antioxidant system; as well it improves the efficiency of the coupling of tissue breathing and oxidative phosphorylation in the brain under hypoxia/reoxygenation conditions.

**Key words:** tincture of *Cimicifuga dahurica*, hypoxia, antihypoxic activity, free radical oxidation, endogen antioxidant system, oxidative phosphorylation.

## REFERENCES

1. Ubееva I.P., Verlan N.V., Razuvaeva YA.G. Fitokorrekcija zabolёvanij nervnoj sistemy (klinicheskie i ehksperimental'nye dannye). Irkutsk. 2014. 132 s.
2. Aseeva T.A., Dashiev D.B., Dashiev A.D. i dr. Tibetskaya medicina u buryat. Novosibirsk. 2008. 324 s.
3. Obol'skij D.M., Sokol'skaya T.A., Denisov A.A. Cimicifuga kistevidnaya: himicheskij sostav, farmakologicheskie svojstva i primenenie v medicine // Farmaciya. 2007. № 1. S. 52-56.
4. Garmaev D.Je., Razuvaeva Ja.G., Shantanova L.N. Psihotropnoe dejstvie nastojki Simicifuga dahurica // Vestnik Burjatskogo gosudarstvennogo universiteta. Ser. Medicina i farmacija. 2013. S. 49-52.
5. Garmaev D.Je., Shantanova L.N., Razuvaeva Ja.G., Nikola-ev S.M. Anksioliticheskoe dejstvie Cimicifuga dahurica // Sibirskij medicinskij zhurnal. 2013. T. 121. № 6. S. 154-155.
6. Rukovodstvo po ehksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novyh farmakologicheskikh veshchestv / Pod red. R.U. Habrieva. M., 2012. 832 s.
7. Petergnani S., Baldassari F., Marchi E. et al. Methods to Monitor and Compare Mitochondrial and Glycolytic ATP Production // Methods in Enzymology. 2014. V. 542. P. 313-332.
8. Kamyshnikov V.S. Spravochnik po kliniko-biohimicheskim issledovaniyam i laboratornoj diagnostike. M. 2009. 890 s.
9. Koroljuk M.A., Ivanova L.I., Majorova I.G., Tokarev V.E. Metod opredelenija aktivnosti katalazy // Laboratornoe delo. 1988. № 1. S. 16-19.
10. Shaik I.H., Mehvar R. Rapid determination of reduced and oxidized glutathione levels using a new thiol-masking reagent and the enzymatic recycling method: Application to the rat liver and bile samples // Anal Bioanal Chem. 2006. V. 385. № 1. P.105-113.
11. Liu I.M., Chi T.C., Hsu F.L., Chen C.F., Cheng J.T. Isoferulic acid as active principle from the rhizoma of Cimicifuga dahurica to lower plasma glucose in diabetic rats // Planta medica. 1999. V. 65. № 8. P. 712-714.
12. Sampieva K.T., Oganova G.M., Ivashov M.N., Chuklin R.E. Gusejnov A.K. Izuchenie jeffektov nekotoryh aminokislot pri gipoksicheskoj gipoksii // Biomedicina. 2010. № 4. S. 122-123.
13. Okovityj S.V., Suhanov D.S., Zaplutanov V.A. i dr. Antigipoksanty v sovremennoj klinicheskoj praktike // Klinicheskaja medicina. 2012. № 9. S. 63-68.
14. Greer D.M. Mechanisms of injury in hypoxic-ischemic encephalopathy: implications to therapy // Semin. Neurol. 2006. V. 26. № 4. P. 373-379.
15. Busl K., Greer D. Hypoxic-ischemic brain injury: pathophysiology, neuropathology and mechanisms // Neuro. Rehab. 2010. V. 26. № 1. P. 5-13.
16. Caia Y.-Z., Sunb M., Xingc J., Luod Q., Corke H. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants // Life Sciences. 2006. V. 78. № 25. P. 2872-2888.
17. Qin R., Zhao Y., Zhao Y., Zhou W., et al. Polyphenolic compounds with antioxidant potential and neuro-protective effect from *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim // Fitoterapia. 2016. V. 115. P. 52-56.