

РЕЗЮМЕ

по результатам доклинических токсикологических исследований лекарственного препарата

Пассифлоры экстракт таблетки, покрытые оболочкой, 120 мг

1. Исследование специфической фармакологической активности пассифлоры экстракта сухого

1.1. Влияние пассифлоры экстракта сухого на снотворные эффекты наркотических средств

1.1. 1. Потенцирование наркотического эффекта подпороговой дозы тиопентал-натрия и гексенала пассифлоры экстрактом сухим

Опыты проведены на 40 белых мышах линии СВА с массой 20-22 г. Контрольной группе внутривенно вводили тиопентал-натрия в подпороговой дозе 12 мг/кг (боковое положение). Опытным группам вводили однократно внутрижелудочно экстракт в дозах 60, 120 и 240 мг/кг в форме водного раствора в объеме 10 мл/кг. Двум группам животных вводили внутрижелудочно препараты сравнения – деалкоголизированный пассифлоры экстракт жидкий, в объеме 10 мл/кг и деалкоголизированный пустырника экстракт жидкий в объеме 10 мл/кг, обладающие седативным эффектом. Контрольной группе вводили воду очищенную в аналогичном объеме.

Из приведенных данных следует, что по силе потенцирующего эффекта пассифлоры экстракт сухой превосходит пассифлоры экстракт жидкий и пустырника экстракт жидкий. По тесту потенцирования пассифлоры экстракт сухой проявляет отчетливый эффект потенцирования наркотического действия тиопентал-натрия в дозе 120 мг/кг ($ЭД_{50}$), свидетельствующий, что в основе данного явления лежит его нейротропное действие.

Исследовали потенцирующее действие пассифлоры экстракта сухого на снотворный эффект гексенала. Эксперименты проведены на белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г с использованием методики потенцирования снотворного действия барбитуратов. В серии экспериментов путем построения кривой зависимости доза-эффект была определена доза гексена-

ла, вызывающая боковое положение у 5 % животных ($ЭД_{50}$), которая составила 55,0 мг/кг. Животным опытных групп внутрижелудочно вводили водный раствор пассифлоры экстракта сухого в дозах 60,0; 100,0; 120,0; 240,0 и 300,0 мг/кг в объеме 10 мл/кг однократно за 1 час до введения гексенала в указанной дозе. Крысам контрольной группы вводили эквивалентное количество дистиллированной воды. В качестве препарата сравнения использовали деалкоголизированный раствор пассифлоры экстракта жидкого в объеме 10 мл/кг.

Полученные данные свидетельствуют, что предварительное введение пассифлоры экстракта сухого в указанных дозах оказывает потенцирующее влияние на снотворное действие гексенала в малых дозах. При этом в диапазоне средних доз (60,0 – 120,0 мг/кг) отмечается линейная зависимость: с увеличением дозы испытуемого средства увеличивается процент заснувших животных. Введение более высоких доз средства (240-300,0 мг/кг) не сопровождалось дальнейшим отчетливым повышением потенцирующего действия. $ЭД_{50}$ потенцирующего снотворного действия пассифлоры экстракта сухого, определенный с помощью пробит-анализа, составил 122,0 мг/кг (120 мг/кг).

1.1.2. Пролонгированное действие пассифлоры сухого экстракта на наркотический эффект тиопентал-натрия

Опыты проведены на 20 мышах-самцах линии СВА с массой 18-20 г. Животные были разделены на 2 группы, в каждой из которых было по 10-12 мышей. 1 группа – мышам внутрижелудочно в форме водного раствора однократно вводили пассифлоры экстракт сухой в дозе 120 мг/кг. Тиопентал-натрия вводили внутрибрюшинно однократно в дозе 30 мг/кг через разные интервалы времени после введения пассифлоры экстракта сухого – через 10, 30, 60 и 90 минут. 2 группа (контрольная) – мышам вводили тиопентал-натрия в той же дозе по аналогичной схеме и очищенную воду в соответствующем объеме.

Установлено, что пассифлоры сухой экстракт обладает депримирующим эффектом, усиливая эффект барбитурата, и обладает седативным эффектом. При его введении в дозе 120 мг/кг продолжительность бокового положения у

мышей к 10 минуте после введения экстракта возрастает почти в 2 раза, к 30 минуте – в 2 раза по сравнению с показателями у животных контрольной группы.

1.1.3. Влияние пассифлоры сухого экстракта на наркотическое действие сомбревина

Опыты проведены на 20 мышах линии СВА обоего пола с массой 20-21 г. Сомбревин вводили мышам внутрибрюшинно в дозе 20 мг/кг однократно. Экстракт вводили внутривентрикулярно однократно, за 30 минут до введения сомбревина в дозе 120 мг/кг в объеме 10 мл/кг.

Установлено, что пассифлоры экстракт сухой увеличивает продолжительность действия наркоза у мышей, обусловленного сомбревином.

1.1.4. Влияние пассифлоры сухого экстракта на наркотическое действие гексенала

Исследовали влияние экстракта на скорость развития и продолжительность наркотического эффекта гексенала. Эксперименты проводили на 50 крысах линии Вистар с массой 160-180 г. В опытах с гексеналом экстракт вводили внутривентрикулярно однократно в дозе 120 мг/кг в форме водного раствора в объеме 10 мл/кг за 15, 30, 60 и 120 минут до введения наркотика, вводимого внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали деалкоголизированный пассифлоры экстракт жидкий в объеме 10 мл/кг.

Экстракт в заметной степени увеличивает продолжительность гексеналового сна, причем, эффект испытуемого фитосредства развивается быстро, максимум его приходится на 30-ю минуту после введения, а продолжительность сна увеличивается почти в 2 раза по сравнению с показателями контрольной группы. При введении животным препарата сравнения потенцирующий эффект проявляется в менее выраженной степени.

Оценка влияния пассифлоры сухого экстракта в дозе ЭД₅₀ (120 мг/кг) на продолжительность наркотического сна, индуцированного гексеналом проводилась на белых крысах-самцах линии Вистар массой 150-170 г с исполь-

зованием методики пролонгирования снотворного действия барбитуратов. В качестве гипнотического средства использовали гексенал в дозе 55,0 мг/кг (ЭД₅) при однократном внутрибрюшинном введении. Животным опытной группы внутривенно вводили водный раствор экстракта в дозе 120,0 мг/кг в объеме 10 мл/кг однократно за 1 час до введения гексенала. Крысам контрольной группы вводили эквивалентное количество очищенной воды. В качестве препарата сравнения использовали деалкоголизированный раствор пассифлоры экстракта жидкий в объеме 10 мл/кг.

Результаты исследования показали, что предварительное введение исследуемого экстракта сопровождается выраженным потенцирующим действием на показатели наркотического сна. При этом отмечается дозозависимый эффект: с увеличением дозы испытуемого средства отмечается повышение его потенцирующей эффективности.

Влияние многократного введения экстракта на снотворный эффект гексенала и продолжительность гексеналового сна исследовали на белых крысах-самцах линии Вистар массой 150-170 г. Наркотический сон вызывали однократным внутрибрюшинным введением гексенала в дозе 55 мг/кг. Животным опытной группы внутривенно профилактически вводили водный раствор экстракта в дозе 120 мг/кг, в объеме 10 мл/кг, в течение 5 дней (1 раз в сутки). Крысам контрольной группы вводили эквивалентное количество очищенной воды.

Установлено, что многократное введение исследуемого экстракта в дозе 120 мг/кг оказывает более выраженный потенцирующий и пролонгирующий эффект на снотворное действие гексенала.

1.1.5. Влияние пассифлоры экстракта сухого на эффект повторного засыпания при введении ГОМК

Опыты проведены на 20 крысах-самцах линии Вистар массой 200-230 г, которым внутрибрюшинно однократно вводили ГОМК в дозе 1000 мг/кг. В данной дозе препарат вызывает у животных сон продолжительностью от 130 до 190 минут. Сразу же после пробуждения крысам внутривенно

лудочно однократно вводили экстракт в дозе 120 мг/кг в форме водного раствора в объеме 10 мл/кг. Контрольной группе животных на фоне введения ГОМК вводили дистиллированную воду в соответствующем объеме.

После введения экстракта все животные снова принимали боковое положение, которое сохранялось 20-24 минуты, тогда как в контрольной группе крысы не принимали бокового положения, то есть эффект повторного засыпания не наблюдался. На основании полученных данных можно предположить, что экстракт относится к, так называемым, истинным потенциаторам, механизм действия которых имеет нейротропную природу.

1.1.6. Влияние пассифлоры сухого экстракта на продолжительность наркотического сна, индуцированного хлоралгидратом и бромизовалом

Эксперименты проведены на белых крысах обоего пола линии Вистар массой 170-190 г. В качестве снотворных средств использовали хлоралгидрат в дозе 100,0 мг/кг при однократном внутрибрюшинном введении и бромизовал при однократном внутрижелудочном введении в дозе 140 мг/кг. Животным опытной группы внутрижелудочно вводили водный раствор экстракта в дозе 120,0 мг/кг в объеме 10 мл/кг однократно за 1 час до введения снотворного средства. Крысам контрольной группы вводили эквивалентное количество очищенной воды. В качестве препаратов сравнения использовали деалкоголизированный раствор пассифлоры экстракта жидкого в объеме 10 мл/кг и деалкоголизированный раствор пустырника экстракта жидкого в объеме 10 мл/кг.

Введение испытуемого экстракта в дозе 120 мг/кг оказывает потенцирующее влияние на продолжительность наркотического сна. Введение животным пассифлоры экстракта жидкого и пустырника экстракта жидкого на фоне введения хлоралгидрата практически не сопровождалось увеличением времени нахождения крыс в боковом положении; такая же тенденция отмечалась при введении препаратов сравнения на фоне введения бромизовала.

1. 2. Противосудорожное действие пассифлоры экстракта сухого

Исследования проведены на 70 мышах-самцах линии СВА массой 18-20 г. В качестве аналептических средств использовали коразол, стрихнин, камфору и тиосемикарбазид. Судороги у животных вызывали однократным подкожным введением водных растворов коразола в дозе 100 мг/кг (DL_{100}), стрихнина нитрата в дозе 2 мг/кг (DL_{100}), масляного раствора камфоры в объеме 0,2 мл/кг и раствора тиосемикарбазида в дозе 20 мг/кг. Мышам опытной группы внутрижелудочно однократно вводили водный раствор экстракта в дозе 120 мг/кг за 1 час до введения аналептиков. Животным контрольной группы вводили очищенную воду. В качестве препарата сравнения использовали dealкоголизированный раствор пассифлоры экстракта жидкого.

На фоне введения испытуемого экстракта отмечалось удлинение латентного периода развития судорожного синдрома на 46 % по сравнению с данными у животных контрольной группы. При подкожном введении мышам стрихнина нитрата у животных контрольной и опытной групп развивались преимущественно тетанические судороги, которые завершались 100 % гибелью животных. При введении препарата сравнения на фоне введения коразола и стрихнина латентный период увеличивался по сравнению с показателями в контроле на 16 и 33 % соответственно.

Введение тиосемикарбазида сопровождалось развитием клонических и тонических судорог, завершавшихся 100 % гибелью животных контрольной группы. Превентивное однократное введение экстракта в дозе 120 мг/кг оказывало увеличение латентного периода развития судорожного приступа на 38 % и средней продолжительности жизни мышей опытной группы соответственно на 22 %. При введении фитоэкстракта с целью предотвращения развития «камфорных» судорог латентный период увеличивался на 68 %, продолжительность судорог сокращалась на 41 %. Противосудорожное действие препарата сравнения проявлялось в менее выраженной степени.

1.3. Влияние пассифлоры экстракта сухого на ориентировочно-исследовательскую активность и эмоциональное поведение у белых крыс

Опыты проведены на 30 мышах обоего пола линии СВА с массой 18-22 г. Влияние пассифлоры сухого экстракта на ориентировочную реакцию и поведенческую активность животных исследовали с использованием метода «открытого поля». Животным опытной группы водный раствор экстракта вводили внутривентрикулярно в дозе 120 мг/кг однократно за 1 час до начала опытов, а также многократно в той же дозе в течение 7 дней до тестирования в объеме 10 мл/кг. Мышам контрольной группы вводили эквивалентное количество очищенной воды по аналогичной схеме.

Введение лабораторным животным экстракта в экспериментально-терапевтической дозе 120 мг/кг снижает у них уровень тревожности, ослабляет пассивно-оборонительную реакцию и повышает ориентировочно-исследовательское поведение.

1.4. Влияние пассифлоры экстракта сухого на спонтанную двигательную активность мышей

Для оценки спонтанной двигательной активности мышей использовали актометр, представляющий собой 20-канальную установку, которая позволяет одновременно отдельно регистрировать двигательную активность 20 мышей по числу пробежек за 1 час.

Опыты проведены на 30 мышах-самцах линии СВА с массой 20-21 г. 1 группа – интактная, которой однократно внутривентрикулярно вводили очищенную воду в объеме 10 мл/кг. 2 группе мышей вводили внутривентрикулярно однократно экстракт в дозе 120 мг/кг в форме водного раствора в объеме 10 мл/кг. 3 группе мышей вводили деалкоголизированный раствор пассифлоры экстракта жидкого в объеме 10 мл/кг.

Полученные данные свидетельствуют, что экстракт обладает психоседативным эффектом.

1.5. Влияние пассифлоры экстракта сухого на двигательную гиперактивность, вызванную фенамином

Опыты проведены на 40 мышах обоего пола линии СВА с массой 18-20 г. 1 группа – контрольная: животным вводили внутривентрикулярно фенамин

в дозе 10 мг/кг и очищенную воду в объеме 10 мл/кг. 2 группе животных внутрижелудочно однократно вводили экстракт в дозе 120 мг/кг в форме водного раствора в объеме 10 мл/кг массы за 30 минут до введения фенамина. 3 группе животных вводили внутрижелудочно однократно деалкоголизованный пассифлоры экстракт жидкий в объеме 10 мл/кг. Интактной группе мышей вводили очищенную воду.

Экстракт пассифлоры сухой проявляет отчетливый антагонизм к возбуждающему эффекту фенамина. При введении его в дозе 120 мг/кг за 30 минут до введения фенамина двигательная активность мышей снижается в 2 раза.

1.6. Влияние пассифлоры экстракта сухого на выработку условной реакции пассивного избегания у белых крыс

Для оценки влияния экстракта на процессы памяти и обучения применяли метод формирования условной реакции пассивного избегания на основе запоминания «опасного» отсека в экспериментальной установке. Выработку условной реакции проводили в камере с электрофицированным полом, разделенную на светлый (освещенный электрической лампой) и темный отсек. В перегородке имелось отверстие диаметром 4 см. В контроле животное помещали в светлую камеру, а затем регистрировали время перехода его в темную половину установки (латентный период) и суммарное время пребывания в темном и светлом отсеках в течение 200 с. Сразу после перехода животное подвергалось электрокожному раздражению в течение 1 с. Условные реакции считали сохранившимся, если время с момента помещения крысы в установку до перехода ее в темный отсек составляло не менее 120 с.

Эксперименты выполнены на 30 крысах-самцах линии Вистар с массой 150-160 г. Экстракт вводили в дозе 120 мг/кг массы животных внутрижелудочно в течение 7 дней в объеме 10 мл/кг. Препарат сравнения – деалкоголизованный пассифлоры экстракт жидкий вводили внутрижелудочно в объеме 10 мл/кг. Контрольной группе крыс вводили очищенную воду.

При назначении экстракта стимулируется выработка условной реакции пассивного избегания и обеспечивается более полное сохранение памятного следа.

1.7. Влияние пассифлоры экстракта сухого на выработку условной реакции активного избегания

Выработку условной реакции активного избегания проводили в челночной камере, состоящей из двух отсеков, разделенных перегородкой. Оба отсека имели отдельно электрифицированный пол. В качестве условного раздражителя использовали звук. Подкрепляющим безусловным раздражителем являлся удар электрического тока, который подавался на 5 секунде действия условного раздражителя. Избегание в другой отсек в ответ на действие безусловного раздражителя считали безусловным рефлексом. Схема выработки условного рефлекса активного избегания состояла в следующем: в течение 10 дней проводили ежедневные сеансы обучения, состоящие из 10 сочетаний условного и безусловного раздражителей. Условной реакцией активного избегания считали безошибочную побегу в безопасный отсек, выполненную до нанесения электрокожного раздражения.

Эксперименты проведены на 30 крысах-самках линии Вистар с массой 180-200 г. Экстракт вводили превентивно в дозе 120 мг/кг массы животных внутрижелудочно в течение 7 дней в объеме 10 мл/кг. Препарат сравнения – dealкоголизированный пассифлоры экстракт жидкий вводили внутрижелудочно в объеме 10 мл/кг. Контрольной группе вводили очищенную воду.

Группе животных, получавшей фитоэкстракт, требовалось значительно меньше проб для выполнения первого избегания в ответ на условный звуковой сигнал. Ускорялась смена хаотического поиска на целенаправленный; значительно уменьшалось время выполнения поиска правильного ответа, достоверно уменьшалось время выполнения реакции активного избегания.

1.8. Влияние пассифлоры экстракта сухого на выработку условной реакции зрительной дифференцировки у белых крыс

Условную реакцию вырабатывали у «старых» крыс (13-14 мес. возраст

та). Животных помещали в один из отсеков U-образного лабиринта и через 5 секунд в случайном порядке включали свет в одном из двух других отсеков на 5 секунд, после чего через электрифицированный пол наносили на лапы животного электрокожное раздражение.

Использовались крысы линии Вистар в возрасте 6-7 месяцев – «молодые» с массой 160-170 г и 13-14 месяцев – «старые», массой 190-200г. Животные получали превентивно в течение 7 дней 1 раз в сутки внутрижелудочно пассифлоры экстракт сухой в форме водного раствора в объеме 10 мл/кг. Препаратом сравнения служил деалкоголизированный пассифлоры экстракт жидкий. Контрольная группа животных получала воду.

Превентивное курсовое введение экстракта предупреждает нарушение реакции различения зрительных сигналов с отрицательным подкреплением. Улучшаются процессы обучения и память у животных в условиях естественного старения, что стимулирует выработку условной реакции зрительной дифференцировки.

1.9. Оценка анальгетической активности пассифлоры экстракта сухого. 1.9.1. Влияние пассифлоры экстракта сухого на анальгетическую активность промедола

Опыты проведены на 30 крысах линии Вистар с массой 170-180 г. Животных разделили на 3 группы: первая группа – интактная; вторая группа – крысам вводили подкожно однократно промедол в дозе 2 мг/кг; третья группа – крысам внутрижелудочно однократно вводили экстракт в дозе 120 мг/кг на фоне подкожного однократного введения промедола в указанной дозе.

Болевое раздражение у крыс вызывали путем наложения зажима на основание хвоста животного.

Экстракт несколько усиливает болеутоляющее действие промедола. Данное обстоятельство дает возможность совместного использования наркотических анальгетиков и исследуемого экстракта при нейрорептанальгезии или премедикации.

1.9.2. Определение анальгетической активности пассифлоры экстракта сухого на модели укусных «корчей» у мышей

Опыты проведены на 30 мышах линии СВА с массой 22-24 г. «Корчи» вызывали внутрибрюшинным введением 0,75 % водного раствора уксусной кислоты в объеме 0,2 мл/мышь. Экстракт вводили однократно внутривентрикулярно за 30 минут до введения водного раствора уксусной кислоты в дозе 120 мг/кг в форме водного раствора в объеме 10 мл/кг. В качестве препарата сравнения использовали пассифлоры экстракт жидкий. Контрольной группе животных вводили воду.

Экстракт уменьшает количество «корчей» у мышей, вызванных уксусной кислотой на 31 %.

1.10. Оценка противорвотного действия пассифлоры экстракта сухого

Опыты проведены на 6 собаках с массой 3,5-5,0 кг обоего пола. Для вызывания рвоты использовали апоморфин, который вводили внутривенно в дозе 0,02 мг/кг. Экстракт вводили однократно внутривентрикулярно в форме водного раствора за 15 минут до инъекции апоморфина. Контролем служили те же собаки, которым за 3 дня до опыта и через 3 дня после него вводили только апоморфин в той же дозе. Экстракт был испытан в экспериментально-терапевтической дозе 120 мг/кг.

В указанной дозе экстракт проявлял противорвотное действие: рвота проявлялась только у одной собаки в виде одного приступа и у одной из собак отмечали слюнотечение.

1.11. Влияние экстракта пассифлоры на гемолиз эритроцитов, вызванный свободнорадикальными реакциями и другими факторами

Изучали влияние экстракта на устойчивость мембран эритроцитов *in vitro*. Гемолиз эритроцитов вызывали реактивом Фентона.

Экстракт в концентрациях 0,05; 0,1 и 0,3 г/л вызывает значительное снижение степени гемолиза эритроцитов на 38, 43 и 56 %. В концентрации 0,3 г/л экстракт проявляет наибольшую активность, ингибируя гемолиз эритроцитов почти в 2 раза.

Исследуемый экстракт обладает мембраностабилизирующим действием, связанным со свободнорадикальными процессами.

1.12. Влияние пассифлоры экстракта сухого на кинетику окисления липидов и антиоксидантную систему

Антиокислительную активность экстракта определяли на модельной системе липосом методом Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции с использованием «Хемилуминометра PXL – 01» (Россия).

Антиокислительная активность экстракта составляет $23,8 (г/л)^{-1}$, что позволяет отнести испытуемый экстракт к группе средств, с антиокислительными свойствами.

Исследовали влияние экстракта на интенсивность H_2O_2 -индуцированной хемилюминесценции. Опыты проведены с использованием суспензии липосом. Степень выраженности антирадикальных свойств экстракта оценивали по интенсивности процессов генерации радикальных интермедиатов.

Рассчитанная по стандартной методике величина антирадикальной активности испытуемого средства составила $40,12 (г/л)^{-1}$, что позволяет отнести его к средствам с умеренными антирадикальными свойствами.

Исследовали влияние экстракта на скорость накопления продуктов перекисного окисления липидов. Эксперименты проведены с использованием суспензии липосом, полученной путем гомогенизирования желтка куриного яйца в фосфатном буфере. Индекс антиокислительной активности испытуемого препарата составил $6,93(г/л)^{-1}$. Данные свидетельствуют о наличии достаточно выраженного ингибирующего действия средства по отношению к скорости накопления продуктов перекисного окисления липидов.

Определяли железосвязывающую активность экстракта с использованием метода, основанного на способности о-фенотролина связывать ионы железа. Экстракт в концентрации 0,1 мг/мл способствует понижению уровня железа на 24 %, а в концентрации 0,2 мг/мл – на 20 %. При увеличении содержания железа в реакционной среде (до 40 и 60 мкМ) железосвязывающая ак-

тивность средства уменьшается и приближается к показателям контроля.

Испытуемое средство проявляет умеренную железо-связывающую активность при исходно низком содержании ионов двухвалентного железа.

1.13. Противовоспалительная активность пассифлоры экстракта сухого. 1.13.1. Влияние на экссудативную фазу процесса воспаления

Исследование проведено на 24 крысах линии Wistar массой 160-180 г. За 3 часа до субплантарного введения белым крысам в правую заднюю лапку 0,1 мл 3 % раствора формалина, а затем через 5 и 18 часов после этого животным интрагастрально вводили раствор экстракт в дозе 120 мг/кг в объеме 10 мл/кг массы. Контрольной группы вводили очищенную воду. В качестве препаратов сравнения использовали деалкоголизированный пассифлоры экстракт жидкий в объеме 10 мл/кг и калефлон в дозе 100 мг/кг.

Введение экстракта снижает степень отека лапки крыс на 22 %.

1.13.2. Изучение влияния пассифлоры экстракта сухого на фазу альтерации воспалительного процесса

Опыты проведены на 24 крысах линии Вистар с массой 170-180 г. Альтерацию в области спинки крыс вызывали подкожным введением 0,5 мл 9% раствора уксусной кислоты с одновременным введением 0,4 мл 10% раствора декстрана в дозе 300 мг/кг массы животных. Испытуемый экстракт в форме водного раствора дозе 120 мг/кг массы животных вводили внутривентрикулярно за 1 час до инъекции уксусной кислоты, далее ежедневно на протяжении 21 дня в объеме 10 мл/кг; препарат сравнения калефлон вводили в дозе 100 мг/кг; другой препарат сравнения вводили в объеме 10 мл/кг. Контрольная группа получала очищенную воду.

Экстракт обладает антиальтеративным действием, уменьшая площадь некроза на 7,14 и 21 сутки на 21, 28 и 36 %.

1.13.3. Изучение влияния пассифлоры экстракта сухого на фазу пролиферации воспалительной реакции у крыс

Опыты проведены на 24 крысах – самцах линии Вистар с массой 170-180 г. Воспалительный процесс вызывали путем подкожной имплантации

стерильных ватных тампонов массой 15 мг в асептических условиях. Экстракт в форме водного раствора дозе 120 мг/кг массы животных вводили внутривентриально один раз в сутки на протяжении 7 дней в объеме 10 мл/кг. Контрольной группе вводили очищенную воду. На 8-сутки у животных извлекали гранулемы и взвешивали их сразу после извлечения и после высушивания.

При определении влияния экстракта на фазу пролиферации воспалительного процесса у крыс установлено умеренное стимулирующее влияние на образование фиброзно-грануляционной ткани в сравнении с контролем.

1.14. Изучение спазмолитической активности пассифлоры экстракта сухого

Эксперименты проведены на белых беспородных крысах с массой 200-210 г. Определение действия симпатического медиатора адреналина и парасимпатического карбахолина и серотонина проводили на отрезке тонкой кишки. Сокращения тонкой кишки вызывали введением адреналина в дозе 1×10^{-4} М и карбахолина в дозе 1×10^{-6} М. Затем препарат кишки отмывали и вводили исследуемое средство в дозе 120 мг/кг. После 5-минутной в среду добавлялись агонисты.

Экстракт обладает выраженной спазмолитической активностью, уменьшая величину спастического сокращения отрезка тонкого кишечника в ответ на введение карбахолина. В то же время, испытуемое средство оказывает умеренное влияние на величину реакции отрезка тонкой кишки при действии адреналина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Экспериментальное изучение препаратов с транквилизирующим (анксиолитическим) действием //Ведомости Фармакологического комитета. –1998. -№ 2. –С.19-24.
2. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического скрининга биологически активных веществ. –М., 1974. –144 с.

3. Клебанов Г.И., Теселкин Ю.О., Владимиров Ю.А. Ингибирование антиокислительной активности плазмы крови азидом натрия //Биофизика. –1988. –Т.33, №3. –С.512-516.
4. Ковалев И.Е., Данилова Н.П., Андронати С.А. и др. Влияние эномеланина на гемолиз эритроцитов, вызываемый свободнорадикальными реакциями и другими факторами //Фармакол. и токсикол. –1986. -№4. –С.89-91.
5. Машковский М,Д. Лекарственные средства. – 2000. – Т. 1, 2.
6. Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP). –М. –1992. –78 с.
7. Раевский К.С. О зависимости между структурой фенотиазиновых соединений и их нейротропной активностью // Успехи в создании новых лекарственных средств. – М., 1973. – С. 25-33.
8. Раевский К.С., Тимофеев В.А. Многоканальная установка для регистрации двигательной активности мелких лабораторных животных //Бюлл. экспер. биологии и мед. – 1965. - № 6. – С. 114-116.
9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. МЗ РФ. Департамент контроля качества, эффективности и безопасности лекарственных средств. Фармакологический комитет МЗ РФ. –М., 2000.
- 10.Сергеев П.В., Белых А.Г., Чукаев С.А. и др. Влияние антиоксидантов на быструю вспышку Fe^{2+} - индуцированной хемилюминесценции //Экспер. и клин. фармакол. –1992. -№2. –С.60-62
- 11.Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. –М. –2000. –263 с.
- 12.Стрельников Ю.Е. Сравнительная характеристика противовоспалительного действия некоторых пиримидиновых производных // Фармакология и токсикология. – 1069. - № 6. – С. 526-531.
- 13.Фруентов Н.К., Серегин Ю.М., Козлов С.А. Влияние препаратов из растений семейства аралиевых на длительность действия седуксена

//Актуальные проблемы фармакологии и поиска новых лекарственных препаратов. – Томск, 1987. - Т.3. –С.27-29.

2. Исследование общей фармакологической активности пассифлоры экстракта сухого. 2.1. Влияние пассифлоры экстракта сухого на функциональное состояние центральной нервной системы

Эксперименты проведены на крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г и мышях самцах линии СВА массой 18-20 г. Водный раствор экстракта в дозе 150 мг/кг вводили внутривенно однократно в объеме 1 мл/100 г за 1 час до тестирования. Однократное введение испытуемого средства в экспериментально-терапевтической дозе, составляющей 150 мг/кг, сопровождается потенцированием и пролонгированием наркотического сна, индуцированного гексеналом, хлоралгидратом, тиопентал-натрием, сомбревином. Установлено наличие антисудорожной активности, при судорогах, вызванных коразолом, стрихнином и тиосемикарбазидом.

2.2. Влияние пассифлоры экстракта сухого на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы

Эксперименты проведены на крысах-самцах линии Вистар массой 200-220 г. Водный раствор экстракта вводили внутривенно однократно в дозе 150 мг/кг за 1 час до тестирования.

Однократное введение испытуемого фитосредства в указанной дозе практически не оказывает влияния на уровень систолического артериального давления и биоэлектрические показатели миокарда белых крыс. Ритм сердечных сокращений в опытной и контрольной группах синусовый, сократительная способность миокарда на фоне введения экстракта практически не изменяется. Признаков нарушения в проводящей системе миокарда не наблюдается.

2.3. Влияние пассифлоры экстракта сухого на функциональное состояние мочевыделительной системы

Эксперименты проведены на крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г. Водный раствор экстракта в дозе 150 мг/кг вводили внутривенно

однократно в объеме 1 мл/100 г за 1 час до тестирования. Животные контрольной группы получали дистиллированную воду. Однократное введение сопровождается повышением диуретической и салуретической функции почек белых крыс. Повышение диуреза обусловлено усилением выведения ионов натрия, тогда как на экскрецию ионов калия испытуемое средство не оказывает влияния.

Экстракт не оказывает существенного влияния на депурационную функцию почек: концентрации креатинина и мочевины в моче и сыворотке крови крыс опытной группы были в пределах физиологической нормы. Содержание белка в моче, а также рН мочи животных, получавших данное средство, также не превышали физиологических пределов; глюкоза и желчные пигменты в моче животных опытной группы обнаружены не были.

2.4. Влияние пассифлоры экстракта сухого на функциональное состояние органов желудочно-кишечного тракта. 2.4.1. Влияние пассифлоры экстракта сухого на функциональное состояние печени

Опыты проведены на крысах-самцах линии Вистар массой 160-180 г. Животным опытной группы внутрижелудочно однократно вводили водный раствор экстракта в дозе 150 мг/кг за 1 час до тестирования. Крысы контрольной группы получали воду очищенную. Однократное введение экстракта не оказывает заметного влияния на функциональное состояние печени животных; основные биохимические показатели, характеризующие функциональную активность печени крыс опытной группы, были в пределах физиологической нормы. У крыс, получавших испытуемое средство не отмечалось признаков развития синдромов цитолиза и холестаза, не изменялись показатели, характеризующие состояние белкового и липидного обмена.

Экстракт в дозе 150 мг/кг проявляет умеренную желчегонную активность, повышая скорость секреции желчи в среднем на 16 % по сравнению с аналогичным показателем у крыс контрольной группы. При этом холеретическая реакция сохранялась в течение 4 часов после введения исследуемого фитоэкстракта. Под влиянием испытуемого препарата в сецернируемой жел-

чи отмечалось также повышение суммарного содержания желчных кислот – на 23 % по сравнению с контролем. Экстракт существенно стимулировал выведение холестерина, содержание которого в желчи в два раза превышало значения животных контрольной группы. На концентрацию билирубина в желчи испытуемые препарат существенного влияния не оказывал.

Экстракт при однократном введении в дозе 150 мг/кг оказывает умеренное стимулирующее действие на желчеобразовательную и желчевыделительную функцию печени белых крыс.

2.4.2. Влияние пассифлоры экстракта сухого на функциональное состояние желудка

Эксперименты проведены на белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г. Животным опытной группы внутрижелудочно однократно вводили водный раствор экстракта в дозе 150 мг/кг за 1 час до тестирования. Крысы контрольной группы получали воду дистиллированную.

Однократное введение экстракта оказывает умеренное стимулирующее влияние на секреторную активность слизистой оболочки желудка, повышая общий объем секреции желудочного сока. При этом экстракт стимулирует как кислото-, так и ферментообразующую функции желудка белых крыс.

2.4.3. Влияние пассифлоры экстракта сухого на экзокринную функцию поджелудочной железы

Эксперименты проведены на белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г. Животным опытной группы внутрижелудочно однократно вводили водный раствор экстракта в дозе 150 мг/кг за 1 час до тестирования. Крысы контрольной группы получали воду очищенную.

Испытуемый препарат в указанной дозе не оказывает влияния на активность ферментов панкреатического сока.

2.5. Влияние пассифлоры экстракта сухого на картину периферической крови и показатели системы гемостаза

Исследование проведено на крысах-самцах массой 160-180 г. Животным внутрижелудочно однократно вводили водный раствор экстракта в дозе

150 мг/кг за 1 час до тестирования. Крысы контрольной группы получали воду очищенную.

Однократное введение экстракта не оказывает влияния на морфологический состав и содержание гемоглобина в крови белых крыс.

На фоне однократного введения экстракта в дозе 150 мг/кг отмечается увеличение времени образования протромбина и тромбина, что свидетельствует о задержке перехода фибриногена в фибрин. При этом на толерантность к гепарину и концентрация фибриногена испытуемое средство в указанной дозе влияния не оказывает. Испытуемое средство в экспериментально-терапевтической дозе повышает активность противосвертывающей системы крови белых крыс.

2.6. Антибактериальная активность пассифлоры экстракта сухого

Оценку антимикробной активности экстракта проводили методом двукратных серийных разведений в жидкой среде. В качестве тест-объектов использовали музейные штаммы следующих видов микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* 209 p, *Proteus vulgaris* H50, *Escherichia coli* – 408, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*. Микробная нагрузка составляла 250 тыс. клеток в 1 мл. Экстракт исследовали в концентрациях от 25 до 0,78 мг/мл.

Установлено, что наиболее выраженное бактериостатическое действие экстракт оказывает по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* и *Pseudomonas aeruginosa* существенное угнетение роста которых наблюдается при разведении испытуемого фитосредства до концентрации 6,25 и даже 3,12 мг/мл.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования водно-солевого обмена. --Барнаул, 1972. – 431 с.
2. Вайтмахер У.А., Толстопятова И.А., Пьянкова Г.И. Коагулограф – новый портативный прибор для исследования системы свертывания крови //Лаб. дело. – 1969. - № 8. – С. 496-499.

3. Дроговоз С.М. Нарушение интенсивности желчеотделения и химического состава желчи при дистрофии печени, вызванной четыреххлористым углеродом //Вопр. мед. химии. – 1971. – Вып. 4. – С. 397-400.
4. Карбач Я.И. Количественное определение желчных кислот в желчи и крови с применением хроматографического метода //Биохимия. – 1961. - № 2. – С. 305-309.
5. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск, 1982. –366 с.
6. Кост Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. – М., 1975. – 382 с.
7. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. Лабораторные методы исследования в клинике. – М., 1987. – С. 363.
8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. МЗ РФ. Департамент контроля качества, эффективности и безопасности лекарственных средств. Фармакологический комитет МЗ РФ. –М., 2000. -
9. Скакун Н.П. Нейрогуморальный механизм желчегонного действия инсулина //Пробл. Эндокринологии. – 1956. - № 6. – С. 75-78.
10. Скакун Н.П., Олейник А.Н. Сравнительное действие атропина и метацина на внешнесекреторную функцию печени //Фармакол. и токсикол. – 1967. - № 3. – С. 334.

3. Исследование фармакотерапевтической эффективности сухого экстракта пассифлоры 3.1. Нейропротекторное действие пассифлоры экстракта сухого при экспериментальной гемической гипоксии у крыс

Опыты проведены на 30 крысах линии Вистар с массой 160-170 г. Модель гемической гипоксии воспроизводили путем однократного подкожного введения нитрита натрия в дозе 200 мг/кг массы животных. Водный раствор экстракта вводили внутривенно в дозе 150 мг/кг в объеме 10 мл/кг 1 раз в сутки в течение 4-х дней и на 5-й день за 1 час до введения нитрита натрия. В качестве препарата сравнения использовали dealкоголизированный пас-

сифлоры экстракт жидкий. Контрольной группе животных вводили очищенную.

В условиях гемической гипоксии предварительное введение указанного средства экспериментальным животным способствовало увеличению резервного времени на 23 %.

3.2. Нейропротекторное действие пассифлоры экстракта сухого при экспериментальной гипобарической гипоксии у крыс. 3.2.1. Оценка влияния пассифлоры экстракта сухого на структуры головного мозга при гипобарической гипоксии у белых крыс

Опыты проведены на белых крысах линии Вистар с массой 170-180 г. Противогипоксическую активность экстракта изучали на модели острой гипобарической гипоксии, которую создавали в проточно-вытяжной барокамере. Животных «поднимали на высоту» 11,5 тыс.м. со скоростью 50 м/с. Экстракт вводили внутрижелудочно в дозе 150 мг/кг массы животных за час до тестирования и далее на протяжении 5 дней 1 раз в сутки. Контрольной группе животных вводили дистиллированную воду.

При превентивном курсовом введении экстракта отмечалось более интенсивное, по сравнению с контролем, восстановление структур мозга, что выражалось в ускоренной нормализации кровообращения, снижении выраженности отека ткани мозга крыс и хроматолиза в нейронах, нормализации содержания вещества Ниссля. После гипоксического воздействия в коре головного мозга крыс, получавших экстракт, расположение сосудов, нервных клеток и структура проводящих путей приближалась к физиологическим нормам.

Морфометрический анализ нейронов головного мозга крыс позволил выявить, что у животных, получавших экстракт на фоне гипобарической гипоксии, отмечали меньшее число нейронов с различными типами повреждений. Нейропротекторное действие экстракта в большей степени проявлялось в отношении крупных пирамидных клеток коры головного мозга. Чаще всего выявлялись нервные клетки с, так называемым, «первичным раздражением»,

проявляющийся центральным хромотолизом.

Пассифлоры экстракт сухой проявляет отчетливое нейропротекторное действие в условиях гипобарической гипоксии.

3.3. Влияние экстракта пассифлоры на нарушение когнитивных функций у белых крыс, вызываемые различными факторами. 3.3.1. Влияние пассифлоры экстракта сухого на выработку и сохранение условной реакции пассивного избегания на фоне амнезии, вызванной электрошоком

Эксперименты выполнены на 40 крысах линии Вистар массой 150-170 г. Амнезию у животных вызывали электросудорожным шоком ($I=70$ мА, экспозиция – 0,2 с) путем наложения электродов на роговицу глаза непосредственно после выработки условной реакции после 10-дневной тренировки. Экстракт в форме водного раствора вводили внутривентрикулярно в дозе 150 мг/кг массы животных 1 раз в сутки в течение 5 дней, 1 раз в сутки превентивно в объеме 10 мл/кг и далее в течение 7 дней после электрической стимуляции роговицы глаза у крыс. В качестве препарата сравнения использовали пассифлоры экстракт жидкий. Контрольной группе животных вводили очищенную воду.

У животных, получавших экстракт через 1 час наблюдалось значительное увеличение латентного периода захода крыс в «опасный» отсек. При оценке сохранности рефлекса через 24 часа и через 7 суток у животных, получавших экстракт, латентный период захода в «опасный» отсек также возрастал по сравнению с контролем.

Пассифлоры экстракт сухой, как и препарат сравнения, оказывают выраженное антиамнестическое действие при нарушении памяти, вызванном электрическими стимулами. При морфометрическом изучении коры головного мозга крыс, которых подвергали действию электрического шока, выявлено, что экстракт оказывает выраженное нейропротекторное действие.

3.3.2. Влияние пассифлоры экстракта сухого на нарушения когнитивных функций и состояние ПОЛ и антиоксидантной защиты у крыс с длительной алкогольной интоксикацией

Опыты проведены на 40 крысах линии Вистар с массой 170-180 г. Алкогольную интоксикацию у животных вызывали внутрижелудочным введением 40 % этилового спирта в объеме 9 мл/кг массы животного в течение 45 дней 1 раз в сутки. На 15-20 день наблюдения у крыс развивалась толерантность, к концу эксперимента вырабатывалась физическая зависимость. За 7 суток до окончания введения алкоголя крысам в форме водного раствора в дозе 150 мг/кг внутрижелудочно через 6-8 часов после введения этанола вводили экстракт в объеме 10 мл/кг. Препарат сравнения – пассифлоры экстракт жидкий. Контрольная группа животных получала воду.

Длительное введение 40 % этанола вызывает у животных развитие амнестического эффекта. Введение животным экстракта вызывает сохранность памятного следа: латентный период у крыс, получавших экстракт, повышался через 24 часа на 56 %, через 7 суток – на 63 и 70 %.

Исследования по оценке влияния экстракта на процессы памяти у животных при кратковременной алкогольной интоксикации проведены через 24 часа после однократного внутрижелудочного введения этанола в указанной дозе (9 мл/кг). Водный раствор экстракта вводили превентивно в дозе 150 мг/кг в объеме 10 мл/кг в течение 5 дней 1 раз в сутки. Препарат сравнения вводили в объеме 10 мл/кг. Контрольная группа получала воду.

Сухой экстракт пассифлоры значительно ослаблял неблагоприятное влияние алкоголя на когнитивные функции у крыс. Время достижения кормушки при введении исследуемого фитоэкстракта сокращалось 65 %. Кроме того, почти в 2 раза уменьшалось число ошибочных побегов.

Пассифлоры экстракт сухой оказывает антиамнестическое действие, благоприятно влияет на процессы обучения и памяти на фоне алкогольной интоксикации.

Исследовали влияние экстракта на уровень содержания малонового диальдегида (МДА) и активность каталазы в гомогенатах ткани головного мозга у крыс при алкогольной интоксикации.

Длительное введение животным 40 % этанола сопровождалось увеличе-

нием содержания МДА в гомогенатах головного мозга на 67 %. При курсовом введении экстракта отмечалось снижение содержания ТБК-активных продуктов на 47 %.

При длительном введении этанола активность антиоксидантного фермента каталазы снижалась на 71 %. Курсовое введение экстракта и препарата сравнения достоверно повышало активность указанного фермента на 38 и 52 % по сравнению с показателями у крыс, получавших только этанол.

Полученные данные о снижении содержания МДА и повышении активности каталазы под действием экстракта, свидетельствуют об ингибирующем его влиянии на процессы перекисного окисления липидов при алкогольной интоксикации лабораторных животных.

3.4. Влияние пассифлоры экстракта сухого на выработанное патологическое влечение к алкоголю у крыс

Опыты проведены на 40 крысах-самцах линии Вистар с массой 200-210 г. 1-ой группе животных вводили внутривентрикулярно водный раствор экстракта в дозе 150 мг/кг в форме водного раствора в объеме 10 мл/кг в течение 21 дня 1 раз в сутки; 2-ой группе – препарат сравнения – деалкоголизированный пассифлоры экстракт жидкий в объеме 10 мл/к по аналогичной схеме; 3-ей группе – средство «Петрович» в изоэффективной дозе (10 мл/кг); 4-ая группа крыс на фоне введения этилового спирта получала воду очищенную. Для формирования предпочтения к алкоголю всем группам животных в течение 21 суток, назначали 20 % водный раствор этилового спирта вместо воды. По окончании введения этилового спирта всем группам животных свободным доступом ставили поилки с 20 % водным раствором этанола и водой.

80 % крыс контрольной группы предпочитали алкоголь и лишь 20 % животных – воду. В группе крыс, получавших «Петрович», 40 % животных предпочитали алкоголь, 60 % – воду. Крысы, которые получали водный раствор пассифлоры экстракта сухого, 20 % крыс предпочитали алкоголь, а 80 % белых крыс – воду.

3.5. Изучение антистрессорного действия пассифлоры экстракта сухого

В качестве стрессорного фактора применяли иммобилизацию белых крыс линии Вистар обоего пола массой 150-170 г в положении лежа на спине в течение 24 часов. Экстракт в дозе 150 мг/кг вводили внутривенно однократно за 30 минут до и после иммобилизации. Животные контрольной группы получали воду. В качестве препарата сравнения использовали деалкоголизированный экстракт пассифлоры жидкий.

Пассифлоры экстракт сухой оказывает антистрессорное действие, препятствует развитию катаболических изменений на фоне иммобилизационного стресса, о чем свидетельствует менее выраженная инволюция тимуса и гипертрофия надпочечников у крыс опытной группы. Наиболее четко это свойство проявляется в его способности задерживать развитие деструктивных поражений в слизистой оболочке желудка на стадии возникновения крупных деструкций в виде эрозий и полосовидных язв.

3.6. Влияние пассифлоры экстракта сухого на эмоционально-поведенческие реакции у крыс с депрессивно-подобным состоянием

Исследования выполнены на 145 крысах линии Вистар с массой 180-190 г. Депрессивно-подобное состояние у животных вызывали путем полной 21-дневной изоляции крыс с одновременным нанесением с 15-го дня эксперимента болевых неизбежных электрокожных раздражений. Пассифлоры экстракт сухой вводили животным в форме водного раствора в дозе 150 мг/кг и в объеме 10 мл/кг. Препарата сравнения – деалкоголизированный пассифлоры экстракт жидкий. Контрольная группа получала воду.

Изучение исследовательской активности крыс с депрессивно-подобным состоянием в «открытом поле» свидетельствуют о резком угнетении различных проявлений ориентировочно-исследовательского поведения у крыс-«изолянтов».

Экстракт в положительную сторону изменяет исследовательскую активность у крыс-«изолянтов». При назначении экстракта у животных с депрессивно-подобным состоянием пассивно-оборонительные ответы были выражены в меньшей степени.

Сухой экстракт пассифлоры при его курсовом введении положительно влияет на эмоциональные и поведенческие реакции животных, снижает проявления страха и тревоги, в результате чего повышается ориентировочно-исследовательская активность крыс, нормализуются оборонительно-мотивационные стимулы и возрастает степень побуждения их к познавательной деятельности.

4. Исследование общетоксического действия пассифлоры экстракта сухого.

4.1. Изучение острой токсичности

Эксперименты проведены на крысах Вистар массой 180-200 г при внутрибрюшинном и внутрижелудочном однократном введении экстракта.

При однократном внутрибрюшинном введении экстракта DL_{50} составляла 2405 мг/кг. Животные погибали через 1-2 суток с момента введения испытуемого экстракта. В первые часы после введения экстракта наблюдались признаки интоксикации в виде тахикардии, учащения дыхания, снижения двигательной активности, потери аппетита; через 1-2 часа после введения экстракта крысы опытных групп засыпали, сон продолжался до 3 часов. В последующем у животных дыхание становилось поверхностным, появлялась цианотичность видимых слизистых оболочек, подергивания отдельных групп мышц, а также развивались судороги клонико-тонического характера. Гибель животных наступала при остановке дыхания. При макроскопическом осмотре внутренних органов погибших крыс отмечались гемодинамические нарушения во внутренних органах в виде полнокровия сосудов с явлениями стаза, мелкоточечных кровоизлияний под плевру легких и эпикард, в легких встречались крупные и мелкие геморрагические участки, по краям легких наблюдались явления очаговой эмфиземы, а также регистрировали разрывы межальвеолярных перегородок; правый желудочек сердца у подавляющего большинства животных переполнялся кровью, а левый желудочек находился в состоянии систолы; сосуды мозговой оболочки также были расширенными и переполненными кровью. При патоморфологическом исследовании внутрен-

них органов погибших животных отмечали резкое полнокровие и отек всех исследованных органов, особенно выраженное в легких, селезенке и печени.

При однократном внутрижелудочном введении экстракта в дозах от 2000 мг/кг до 8000 мг/кг гибели животных в течение всего периода наблюдения не отмечали. Максимальная доза экстракта составила 8500 мг/кг. При введении 7000 мг/кг – 8500 мг/кг экстракта в течение первых 2-х суток у животных наблюдались признаки общей интоксикации в виде гиподинамии, потери аппетита, учащения дыхания. На 14 сутки эксперимента животных под легким эфирным наркозом выводили из эксперимента и осуществляли визуальный осмотр внутренних органов. Внутренние органы животных опытных групп не отличались от таковых у крыс контрольной группы, которым вводили воду очищенную; при патоморфологическом исследовании у животных, получавших экстракт в высоких дозах, выявлялись отдельные нарушения в виде полнокровия сосудов, а также единичные мелкоточечные кровоизлияния в слизистой оболочке желудка.

Полученные данные позволяют отнести сухой экстракт пассифлоры к группе малотоксичных веществ.

4.2. Изучение хронической токсичности пассифлоры экстракта сухого

Эксперименты проведены на половозрелых крысах линии Вистар с массой 150-160 г. Животным опытных групп внутрижелудочно 7 раз в неделю на протяжении 3-х месяцев вводили водный раствор экстракта в дозах 120 мг/кг (1 ЭД₅₀) и 240 мг/кг (2 ЭД₅₀), а также готовую лекарственную форму (таблетки), содержащие экстракт в дозе 120 мг/кг. Объем вводимых растворов составлял 10 мл/кг. Крысам контрольной группы внутрижелудочно вводили дистиллированную воду. В качестве контроля животным вводили водный раствор вспомогательных веществ, входящих в состав таблеток.

Длительное введение экстракта в дозах 1 и 2 ЭД₅₀, а также таблеток экстракта через 1 месяц от начала их введения сопровождалось повышением ориентировочно-исследовательской активности лабораторных животных, а также вертикального компонента двигательной активности. При назначении

готовой лекарственной формы ориентировочно-исследовательская активность у крыс после 1 месяца введения повышалась на 50 %. Наряду с этим, отмечалось достоверное уменьшение числа уринаций и дефекаций. Через 3 месяца от начала введения экстракта у крыс наряду с достоверным увеличением количества обследованных отверстий и подъемов на задние лапки крыс, снижалось число уринаций и дефекаций; подобные изменения в ориентировочно-познавательной деятельности крыс отмечались также у животных, получавших готовую лекарственную форму. Тестирование, проведенное через 1 месяц после отмены экстракта, показало, что все исследованные показатели ориентировочно-исследовательской реакции животных опытных групп практически не отличались от показателей у крыс контрольной группы.

Экстракт в дозах 1 и 2 ЭД₅₀, а также его готовая лекарственная форма при длительном введении снижают уровень тревожности, страха и эмоциональной напряженности у животных, помещенных в незнакомые условия, и, тем самым, стимулируют ориентировочно-исследовательскую реакцию.

Длительное введение экстракта в испытуемых дозах, а также таблеток практически не оказывало существенного влияния на этот интегральный показатель общего состояния животных.

Длительное 3-х месячное введение экстракта в указанных дозах, а также таблеток не приводило к заметному учащению дыхательных движений и не оказывало отрицательного влияния на дыхательную функцию белых крыс.

Экстракт при длительном введении в указанных дозах (120 и 240 мг/кг), а также его готовая лекарственная форма не оказывали ни гипотермическое, ни гипертермическое действие.

Исследование влияния испытуемого средства на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы показало, что длительное введение экстракта в дозах 1 и 2 ЭД₅₀, а также готовой лекарственной формы не оказывало отрицательного влияния на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы лабораторных животных. Показатели биоэлектрической

активности миокарда, а также частота сердечных сокращений во все сроки исследования находились в пределах физиологических норм. В то же время, на фоне введения экстракта в испытуемых дозах отмечался его умеренный гипотензивный эффект. При введении экстракта в дозе 120 мг/кг уровень САД снижался через 1 месяц после введения на 19 %, через 3 месяца – на 21 % по сравнению с показателями у животных контрольной группы. При длительном введении экстракта в дозе 240 мг/кг (2 ЭД₅₀) систолическое артериальное давление у крыс снижалось через 1 месяц введения на 26 %, через 3 месяца – на 25 % по сравнению с показателями у крыс, получавших воду. Исследование через 1 месяц после отмены экстракта показало, что снижение артериального давления носило обратимый характер, о чем свидетельствовала нормализация уровня САД к указанному сроку наблюдения.

Длительное введение экстракта в дозе 1 ЭД₅₀, а также готовой лекарственной формы не оказывало отрицательного влияния на содержание гемоглобина и картину периферической крови во все сроки исследования. Введение экстракта в дозе 2 ЭД₅₀ в течение 3 месяцев также не вызывало патологических сдвигов в морфологическом составе периферической крови. Через 1 месяц после отмены испытуемого фитосредства показатели периферической крови крыс, получавших экстракт в дозах 120 и 240 мг/кг, соответствовали данным у животных контрольной группы.

Длительное введение экстракта в дозах 1 ЭД₅₀ и 2 ЭД₅₀ практически не оказывало неблагоприятного воздействия на функциональное состояние жизненно важных органов, а также показатели, характеризующие состояние обменных процессов в организме лабораторных животных. При введении животным наполнителей таблеток, а также готовой лекарственной формы (таблетки) не отмечались каких-либо неблагоприятных явлений и изменения показателей. Результаты исследований, полученные через 1 месяц после отмены испытуемого растительного средства, свидетельствовали об отсутствии последствий пассифлоры экстракта сухого и его лек. формы.

Длительное введение экстракта в дозах 120 и 240 мг/кг и его готовой лекарственной формы не оказывало отрицательного влияния на функциональное состояние почек белых крыс во все сроки исследования. Показатели депурационной функции, кислотно-основного равновесия и концентрация белка в моче животных находились в пределах физиологических норм. Глюкоза и желчные пигменты в моче не выявлялись. На фоне введения экстракта и его лек. формы через 1 и 3 месяца введения повышалась диуретическая функция почек без изменения содержания в моче ионов натрия и калия. После отмены испытуемого фитосредства интенсивность диуреза у крыс снижалась и не отличалась от данных у животных интактной группы.

При введении экстракта во всех исследованных дозах, таблеток экстракта время перехода фибриногена в фибрин и образования протромбина и тромбина практически не изменялось. Экстракт не оказывал неблагоприятного влияния на толерантность к гепарину и концентрация фибриногена в нативной крови.

Длительное введение экстракта не сопровождается повышением активности противосвертывающей системы крови белых крыс. При отмене испытуемого средства эффект последствия не отмечается.

Длительное введение СЭПИ белым крысам в дозах 1 ЭД₅₀ (120 мг/кг) и 2 ЭД₅₀ (240 мг/кг) сопровождалось стимуляцией синтеза гликогена в печени. В более поздние сроки наблюдения (через 3 месяца) экстракт стимулировал синтез гликогена. В группе крыс, получавших готовую лек. форму, содержание гликогена в печени также увеличивалось. У крыс, получавших наполнители стимуляции синтеза гликогена не отмечалось. Исследования, проведенные через 1 месяц после отмены экстракта, показали, что содержание гликогена в печени приближалось к показателям у крыс контрольной группы.

Длительное введение экстракта и его лек. формы сопровождалось стимуляцией экскреторно-поглотительной функции печени. При отмене экстракта содержание гликогена снижалось и соответствовало показателям у животных, не получавших испытуемое фитосредство.

Экстракт и его лек. форма оказывают стимулирующее влияние на экскреторно-поглодательную функцию печени и тем самым положительное влияние на скорость детоксикации ксенобиотиков.

Длительное введение экстракта во всех исследованных дозах, готовой лек. формы сопровождалось умеренной стимуляцией холеретической функции печени. Экстракт и его лек. форма не оказывали существенного влияния на синтез и выведение с желчью холестерина, билирубина и желчных кислот. Длительное введение экстракта не оказывает отрицательного влияния на желчеобразовательную и желчевыделительную функцию печени, не вызывает явлений холестаза. Более того, экстракт и его лекарственная форма проявляют умеренную желчегонную активность.

При макроскопическом изучении органов животных, получавших испытуемое средство и таблетки экстракта в течение 3 месяцев, видимых морфологических изменений по сравнению с данными у животных интактной группы обнаружено не было. У животных при визуальном осмотре печень и почки практически не отличались от указанных органов интактных животных. Только в фундальном отделе желудка в единичных случаях у животных, получавших экстракт в дозе 240 мг/кг (2 ЭД₅₀), обнаруживались участки с незначительно расширенными сосудами.

Результаты морфологических исследований показали, что при длительном 3-х месячном введении экстракта и готовая лекарственная форма не оказывали отрицательного влияния на весовые показатели внутренних органов белых крыс.

При микроскопическом изучении срезов головного мозга животных, получавших экстракт в дозах 1 и 2 ЭД₅₀ и лекарственную форму отклонений от нормы не обнаруживалось.

При патоморфологическом исследовании легких у животных, получавших экстракт и лекарственную форму каких-либо существенных отклонений от нормы не обнаруживалось.

Гистологическая картина миокарда белых крыс, длительно получавших экстракт и готовую лекарственную форму, соответствовала таковой у интактных животных. При введении исследуемого средства в дозе 2 ЭД₅₀ в единичных случаях отмечались незначительное полнокровие сосудов и слабо выраженная очаговая инфильтрация в эндокарде и эпикарде.

Морфологическая картина печени белых крыс, получавших длительно экстракт и лекарственную форму во всех исследуемых дозах, соответствовала нормальному структурному строению этого органа. В единичных случаях в группах животных, получавших экстракт в дозе 2 ЭД₅₀, выявлялась слабо выраженная клеточная инфильтрация по ходу отдельных сосудов.

В почках крыс, длительно получавших экстракт и готовую лекарственную форму клубочки капилляров, расположенные в корковом слое, были умеренно заполнены кровью, изредка отмечались слабо выраженное полнокровие сосудов и незначительная клеточная инфильтрация мозгового слоя. Других каких-либо отличий в гистологической структуре паренхимы почек опытных и контрольных групп не обнаружено не было.

В селезенке у животных как опытных, так и контрольных групп, признаки гемодинамического расстройства и полнокровия синусов красной пульпы не выявлялись.

В поджелудочной железе у животных, получавших экстракт, а также лекарственную форму какие-либо органические изменения не обнаруживались.

В пилорическом отделе желудка опытных крыс, получавших экстракт и лекарственную форму четко выявлялись структуры желудочной стенки. Имело место незначительное сдувание клеток поверхностного эпителия; у части животных отмечалась полиморфноклеточная, не резко выраженная инфильтрация собственного слизистого слоя. Указанные явления были характерны и для крыс контрольной группы.

В кишечнике белых крыс, получавших длительно экстракт и лекарственную форму, в большинстве случаев хорошо выявлялась его постоянная структура. В отдельных случаях в кишечнике крыс, получавших исследуемое

средство в дозе 2 ЭД₅₀, отмечалась незначительная инфильтрация слизистой ворсинок.

В надпочечниках белых крыс, получавших экстракт, гистологически не выявлялись отклонения от нормы.

При исследовании половых желез животных, получавших экстракт и его лекарственную форму в течение 3-х месяцев в указанных дозах, установлено, что ткани семенников оставались без изменений. В яичниках крыс определялись яйцевые фолликулы различной степени зрелости, а также умеренное число вторичных фолликулов.

Испытуемое средство не вызывает патоморфологических изменений со стороны внутренних органов и тканей. Наблюдаемые в отдельных случаях незначительные изменения у животных, которые получали экстракт в максимальной дозе, носят неспецифический характер, которые обнаруживаются и у животных интактной группы. При оценке патоморфологических изменений органов и тканей животных через 1 месяц после отмены экстракта и таблеток, все указанные явления и изменения внутренних органов и тканей не выявляются, морфологические и гистохимические показатели не отличаются от данных у животных интактной группы.

В результате проведенных исследований возможной хронической токсичности пассифлоры экстракта сухого в дозах 1 и 2 ЭД₅₀, а также лекарственной формы установлено, что 3-х месячное введение не оказывает отрицательного влияния на морфофункциональное состояние центральной нервной системы, сердечно-сосудистой системы и мочевыделительной системы, не выявлено нежелательного действия на органы желудочно-кишечного тракта, состояние обмена веществ, показатели периферической крови и системы гемостаза лабораторных животных. Наряду с этим, показано, что длительное введение экстракта и его лекарственной формы оказывает седативное действие, снижает уровень тревоги и отрицательный эмоциональный фон животных. Экстракт и лекарственная форма стимулируют ориентировочно-исследовательскую реакцию, оказывает умеренное гипотензивное, желче-

гонное и диуретическое действие, повышают интенсивность синтеза гликогена в печени и оказывают благоприятное воздействие на дезинтоксикационную функцию печени.

На основании вышесказанного можно заключить, что пассифлоры сухой экстракт и его лекарственная форма при длительном введении не оказывают токсического действия на морфофункциональное состояние жизненно важных органов и систем организма и не приводят к нарушению обменных процессов в организме животных.

4.3. Изучение кумулятивных свойств пассифлоры сухого экстракта

Эксперименты проведены на мышах-самцах линии СВА массой 21-22 г. Животным внутрижелудочно, 15 раз с интервалами введения 24 часа, вводили водный раствор экстракта в дозе 360 мг/кг (3 ЭД₅₀).

На протяжении 30 суток смертельных исходов зарегистрировано не было. Животные хорошо переносили введение экстракта, внешний вид и поведенческие реакции мышей опытной группы не отличались от таковых у интактных животных. Испытуемое средство относится к группе малокумулярующих веществ.

4.4. Изучение местнораздражающего действия сухого экстракта пассифлоры

4.4.1. Оценка раздражающего действия пассифлоры экстракта сухого с помощью ХЕТ-КАМ теста

Исследования проведены на белых мышах линии СВА, белых крысах линии Вистар и кроликах породы Шиншилла. Оценку раздражающего действия экстракта проводили с помощью теста хорионаллантоисной оболочке куриного эмбриона (ХЕТ-КАМ тест). Экстракт вводили животным в различных дозах как интрагастрально, так и внутрибрюшинно, при проведении ХЕТ-КАМ теста экстракт в форме водного раствора наносили на хорионаллантоисную оболочку куриного эмбриона в объеме 0,3 мл.

Нанесение экстракта в указанном объеме на оболочку куриного эмбриона не сопровождалось сужением сосудов и не отмечалось явлений остановки

кровообращения в капиллярах, что позволяет отнести экстракт к 1 классу веществ по степени раздражения.

4.4.2. Изучение местно-раздражающего действия пассифлоры экстракта сухого при внутрибрюшинном введении

Эксперименты проведены на белых мышах линии СВА с массой 20-22 г. Первой группе внутрибрюшинно вводили экстракт в дозе 120 мг/кг. Второй группе вводили внутрибрюшинно воду очищенную.

При вскрытии животных, получавших экстракт, слизистая оболочка кишечника выглядела блестящей, без каких-либо налетов. Спайки органов и выпот в брюшной полости не выявлялись. Брыжейка представлялась блестящей, прозрачной, без налетов; сосудистая сеть была хорошо выражена и не отличалась от таковой у интактных животных. Брюшина также выглядела блестящей, без признаков ее гиперимии. В месте введения испытуемого фитосредства отмечалась незначительная инъеция сосудов.

4.4.2. Изучение возможного местно-раздражающего действия пассифлоры экстракта сухого при интрагастральном введении

Белым крысам линии Вистар с массой 160-180 г через желудочный зонд вводили экстракт в дозе 120 мг/кг, а контрольной группе крыс вводили воду.

Макроскопическое исследование слизистой оболочки желудка у животных показало, что она бледно-розового цвета, рельеф слизистой сохранялся. Складки имели обычную конфигурацию и расположение, тонус желудка и кишечника не изменялся, признаки отека слизистой оболочки желудка и кишечника отсутствовали.

4.4.3. Изучение местно-раздражающего действия пассифлоры экстракта сухого на кроликах и крысах

Исследования проведены на 4 кроликах породы Шиншилла с массой $3,1 \pm 0,3$ кг. Кроликам водный раствор экстракта вводили в прямую кишку в дозе 120 мг/кг.

Состояние слизистой прямой кишки у животных практически не изменялось, хотя отмечалась легкая гиперимия.

Экстракт не оказывает раздражающего действие на слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта и брюшину животных при внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении, в результате чего его можно отнести к первому классу фармакологических веществ.

Эксперименты проводились на крысах-самцах линии Вистар массой 160-170 г. Животным первой опытной группы однократно внутрижелудочно вводили водный раствор экстракта в дозе 120 мг/кг (1 ЭД₅₀); через 24 часа животных забивали мгновенной декапитацией и проводили осмотр слизистой оболочки желудка и кишечника. Второй группе животных водный раствор экстракта вводили в такой же дозе, но исследование проводили через 6 часов после введения указанного средства. Третьей группе животных раствор экстракта вводили в такой же дозе, исследование проводили через 3 часа после его введения. Четвертой группе водный раствор экстракта вводили в дозе 360 мг/кг (3 ЭД₅₀), а исследование проводили через 24 часа от начала эксперимента. Пятой группе животных (контрольная) в соответствующем объеме внутрижелудочно вводили очищенную воду.

Макроскопическое исследование желудка животных, получавших экстракт в дозах, соответствующих 1 ЭД₅₀ и 3 ЭД₅₀, при осмотре через 3, 6 и 24 часа после введения средства показало, что макроскопическая картина слизистой оболочки желудка и кишечника животных опытных групп соответствовала таковой у животных контрольной группы.

Экстракт при интрагастральном введении животным в дозах 1 ЭД₅₀ и 3 ЭД₅₀ не оказывает местнораздражающего действия.

4.5. Изучение экспериментальных отравлений, связанных передозировкой пассифлоры экстракта сухого

Изучение проводили на мышах линии СВА массой 18-20 г. Водный раствор экстракта вводили интрагастрально в дозе 8500 мг/кг. Активированный уголь в виде 20 % раствора на крахмальном клейстере вводили внутрижелудочно в объеме 0,2 мл на 1 животное. Первой группе мышей вводили экстракт без введения активированного угля. Второй группе мышей экстракт

вводили одновременно с активированным углем. Третьей, четвертой и пятой группам животных активированный уголь вводили соответственно через 0,5; 1,0 и 2,0 часа после введения испытуемого средства. Шестой группе мышей активированный уголь вводили за 30 минут до введения экстракта. Седьмой группе животных, служившей контролем, вводили активированный уголь и дистиллированную воду. Наблюдение за животными осуществляли в течение 14 дней. Эффективность лечения животных активированным углем на фоне отравления испытуемым средством оценивали по общему состоянию животных.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что при передозировке экстракта целесообразно более раннее назначение активированного угля с целью лечения и профилактики возможных отравлений.

При оценке возможного общетоксического действия сухого экстракта пассифлоры и его лекарственной формы в дозе 120 мг/кг ($ЭД_{50}$), установлено, что испытуемое средство относится к группе мало токсичных веществ; длительное введение животным сухого экстракта пассифлоры и его лекарственной формы в дозах 1 $ЭД_{50}$ и 2 $ЭД_{50}$ не оказывает отрицательного влияния на морфофункциональное состояние жизненно важных органов и систем организма, не приводит к нарушению обменных процессов у лабораторных животных; является малокумулятивным средством; не оказывает местнораздражающего действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования водно-солевого обмена. --Барнаул, 1972. – 431 с.
2. Вайтмахер У.А., Толстопятова И.А., Пьянкова Г.И. Коагулограф – новый портативный прибор для исследования свертывания крови //Лаб. Дело. -1969. -№8. –С.496-499.
3. Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Методические указания по изучению гепатозащитной активности фармакологических

- веществ //Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. -М. -2000. -С.228-231.
4. Воронина. Т.А., Середенин С.Б. Экспериментальное изучение препаратов с транквилизирующим (анксиолитическим) действием //Ведомости Фармакологического комитета. –1998. -№2. –С.19-24.
 5. Дроговоз С.М. Нарушение интенсивности желчеотделения и химического состава желчи при дистрофии в печени, вызванной четыреххлористым углеродом // Вопросы медицинской химии. – 1971. – Вып. 4. – С. 397-400.
 6. Жаботинский Ю.М. Нормальная и патологическая морфология нейрона. – Л., 1965. – 321 с.
 7. Карбач Я.И. Количественное определение желчных кислот в желчи и крови с применением хроматографического метода // Биохимия. – 1961. – Т. 26. - № 2. – С. 305-309.
 8. Киселева А.Ф., Житников А.Н., Кейсевич Л.В. Морфофункциональные методы исследования в норме и патологии -Киев. -1982. -161 с.
 9. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск, 1982. – 366 с.
 - 10.Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. – М., 1987. – 320 с.
 - 11.Методические рекомендации по изучению общетоксического действия фармакологических средств. – М. -1997. – 57 с.
 - 12.Наточин Ю.В. (ред.) Физиология почки и водно-солевого обмена. - СПб. -1993. -416 с.
 - 13.Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. – М., 1962. – 962 с.
 - 14.Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.- МЗ РФ. Департамент контроля качества, эффективности и безопасности лекарственных средств. На-

учный центр экспертизы и государственного контроля лекарственных средств. Фармакологический Комитет МЗ РФ. – 2000.

15. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях –М. -2000. -235 с.
16. Скакун И.П. Нейрогуморальный механизм желчегонного действия инсулина // Проблемы эндокринологии. – 1956. - № 6. – С. 75-78.
17. Скакун И.П., Олейник А.Н. Сравнительное действие атропина и метацина на внешнесекреторную функцию печени // Фармакология и токсикология. – 1967. – Т. 30. - № 3. – С. 334.
18. Темирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лабораторное дело. – 1981. - №4. – С.209-211
19. Seifter S., Dayton S., Novoi B. et al. The estimation of Glycogen with the Antron reagent // Arch. Of biochem. – 1953. –Vol.25. - N1. – P.191-200.

5. Исследование специфических видов токсичности пассифлоры экстракта сухого. 5.1. Исследование аллергизирующих свойств пассифлоры экстракта сухого. 5.1.1. Влияние пассифлоры экстракта сухого на реакцию гиперчувствительности замедленного типа

Опыты проведены на белых мышах-самцах линии СВА массой 19 –20 г. Аллергизирующее действие экстракта определяли по методу Kitamura. В качестве сенсibilизирующего антигена использовали яичный альбумин (ЯА) в дозе 2,5 г/кг, разведенный физиологическим раствором. Животным контрольной группы (контроль 1) ЯА вводили однократно в объеме 0,2 мл под кожу задней лапки мыши. Животных опытных группы распределяли на 3 подгруппы: 1-й подгруппе внутрижелудочно вводили испытуемое средство в дозе 150 мг/кг за 3 часа до введения ЯА; 2-й подгруппе – одновременно с ЯА; 3-й подгруппе – после 3 часов с момента введения ЯА. После этого животным всех опытных подгрупп испытуемое средство в указанной дозе вводили 1 раз в сутки в течение 3 дней. Животные контрольной группы получа-

ли дистиллированную воду. На 5 сутки после сенсibilизации животным контрольной и опытной групп вводили разрешающую дозу яичного альбумина в дозе 25 мкг/20 г в объеме 0,2 мл. На 6 день эксперимента животных забивали под легким эфирным наркозом, ампутировали стопы задних лапок и по разнице масс (правая лапка – опыт, левая – контроль) определяли индекс реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ).

У мышей контрольной группы, сенсibilизированных ЯА, реакция гиперчувствительности замедленного типа была достоверно выше, чем таковая у мышей без предварительной сенсibilизации. Животных всех опытных групп, сенсibilизированных ЯА, которым вводили экстракт до введения ЯА, одновременно и после ЯА реакция гиперчувствительности замедленного типа статистически не отличалась от данных животных 1 контрольной группы.

5.1.2. Влияние пассифлоры экстракта сухого на реакцию гиперчувствительности немедленного типа

Опыты проведены на морских свинках массой 300-320 г. О степени общей анафилактической реакции судили по реакции, развивающейся у животных после сенсibilизации нормальной лошадиной сывороткой. Сенсibilизацию животных вызывали введением 0,3 мл нормальной лошадиной сыворотки по общепринятой схеме. Животным опытных групп водный раствор экстракта вводили в дозе 150 мг/кг (1 ЭД₅₀) и 450 мг/кг (3 ЭД₅₀) один раз подкожно и затем двукратно (через день) – внутримышечно в область бедра животного. На 14 сутки эксперимента животным внутривенно вводили разрешающую дозу испытуемого средства (150 мг/кг). Контрольной группе морских свинок вводили однократно только лошадиную сыворотку с предварительной сенсibilизацией.

У животных контрольной группы после введения лошадиной сыворотки, развивалась анафилактическая реакция, признаками которой являлись: сильное беспокойство, кашель, чихание, почесывание. Испытуемое средство в

указанных дозах не оказывал заметного влияния на развитие анафилактического шока у морских свинок.

Исследуемый экстракт не оказывает влияния на течение реакции гиперчувствительности замедленного и немедленного типа, что свидетельствует об отсутствии у него аллергизирующих свойств.

5.2. Определение иммунотоксических свойств пассифлоры экстракта сухого.

6.2.1. Влияние пассифлоры экстракта сухого на состояние иммунокомпетентных органов

Опыты проведены на мышах линии СВА массой 20-22 г. Животным опытной группы внутрижелудочно вводили водный раствор экстракта в дозе 150 мг/кг в течение 21 дня 1 раз в день в утренние часы за 30 минут до кормления. Мыши контрольной группы получали воду.

Масса тимуса и селезенки, а также клеточность этих органов у животных, получавших раствор экстракта статистически не отличались от таковых у мышей контрольной группы. Экстракт в дозе 150 мг/кг не оказывает отрицательного влияния на состояние иммунокомпетентных органов животных.

5.2.2. Влияние пассифлоры экстракта сухого на состояние клеточно-опосредованных иммунных реакции

Опыты проведены на мышах линии СВА массой 20-22 г. Животным опытной группы внутрижелудочно вводили водный раствор экстракта в дозе 150 мг/кг в течение 21 дня 1 раз в день в утренние часы за 30 минут до кормления. Мыши контрольной группы получали дистиллированную воду.

Курсовое введение экстракта в дозе 150 мг/кг не оказывает влияния на индекс увеличения лимфатических узлов у мышей, что свидетельствует об отсутствии у испытуемого средства влияния на клеточно-опосредованные иммунные реакции животных.

5.2.3. Влияние пассифлоры экстракта сухого на состояние гуморального иммунитета

Опыты проведены на мышах линии СВА массой 20-22 г. Животным опытной группы внутрижелудочно вводили водный раствор экстракта в дозе 150 мг/кг в течение 21 дня 1 раз в день в утренние часы за 30 минут до кормления. Мыши контрольной группы получали дистиллированную воду.

Экстракт в дозе 150 мг/кг не оказывает влияния на количество антителообразующих клеток как в абсолютных значениях, так и при расчете на 10^6 спленоцитов. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии у пассифлоры экстракта сухого токсического влияния на состояние гуморального иммунитета.

5.2.4. Влияние пассифлоры экстракта сухого на фагоцитарную активность макрофагов

Опыты проведены на мышах линии СВА массой 20-22 г. Животным опытной группы внутрижелудочно вводили водный раствор экстракта в дозе 150 мг/кг в течение 21 дня 1 раз в день в утренние часы за 30 минут до кормления. Мыши контрольной группы получали дистиллированную воду.

Испытуемое средство не оказывает негативного влияния на количество фагоцитирующих макрофагов (активность фагоцитоза), а также количество *St. aureus*, поглощенного одной клеткой (интенсивность фагоцитоза).

Экстракт в дозе 150 мг/кг (1 ЭД₅₀) не оказывает отрицательного влияния на все звенья иммунной реакции, что свидетельствует об отсутствии у испытуемого средства иммунотоксических свойств.

5.3. Определение возможных мутагенных свойств пассифлоры экстракта сухого

Эксперименты проведены с использованием бактериальных штаммов *Salmonella typhimurium* TA 100, TA98, TA102. Всего было испытано 5 доз экстракта, максимальная доза составляла 1 мг на чашку. В качестве негативного контроля использовали растворители: H₂O₂ и диметилсульфоксид (ДМСО). Позитивными контролями служили: в экспериментах без метаболической активации – 4-нитрохинолин-1-оксид (НХО) на штаммах TA98 и TA100 и перекись водорода – на штамме TA102; в присутствии микросо-

мальной активирующей смеси (S9)-бенз(α)пирен (Б(α)П) на штаммах TA98 и TA100 и митомицин С – на штамме TA). Все соединения, кроме H₂O₂, используемые в качестве положительных контролей, растворяли в ДМСО. Тест выполняли отдельно в присутствии и отсутствии микросомальной активирующей смеси. Фракция S9 приготовлена из печени крыс с предварительной индукцией в ней микросомальных ферментов. Для индукции использовали смесь полихлорированных бифенилов (Sigma, США). Индукцию ферментов и получение фракции S9 проводили по стандартной методике (Maron, Ames, 1983).

Количество His ревертантов, возникающих в опытах со всеми испытанными дозами экстракта, не превышает число ревертантов в контрольных экспериментах на всех индикаторных штаммах, как в условиях метаболической активации, так и без нее. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии мутагенного действия у испытуемого препарата. При этом следует отметить, что при использовании высоких доз препарата (10-1000 мкг на чашку) наблюдалось некоторое снижение числа ревертантов на штамме TA102. В этом штамме хорошо тестируются различные оксиданты, а повышенный фон спонтанных мутаций может быть связан с окислительным стрессом, поэтому антимуtagenный эффект препарата может быть обусловлен наличием у него антиоксидантной активности.

Полученные данные свидетельствуют, что экстракт в исследованных дозах не обладает мутагенными свойствами.

5.4. Определение возможной репродуктивной токсичности пассифлоры экстракта сухого. 5.4.1. Изучение возможного эмбриотоксического и тератогенного действия пассифлоры экстракта сухого

Эксперименты проведены на крысах линии Вистар самках массой 180-200 г и самцах массой 220-260 г. Предварительно у самок перед началом опыта был определен эстральный цикл. Самок подсаживали к самцам на период, включающий 2 эстральных цикла. Животным опытных групп внутрижелудочно вводили водный раствор СЭПИ в дозах 150 мг/кг (1 ЭД₅₀) и

450 мг/кг (3 ЭД₅₀) 1 раз в сутки. Каждую дозу средства вводили двум группам самок с 1 по 7 сутки беременности и с 7 по 16 сутки. Контрольной группой служили беременные интактные самки.

Для оценки эмбриотоксических свойств подсчитывали количество желтых тел в яичниках, количество мест имплантаций в матке, а также количество живых и погибших плодов и число резорбций. Для оценки предимплантационной смертности плодов вычисляли разность между количеством желтых тел беременности и количеством мест имплантации, затем определяли, какую долю (в %) составляла эта цифра от числа желтых тел. Для оценки показателя постимплантационной смертности вычисляли разность между количеством мест имплантаций и количеством живых плодов и определяли долю (в %) от числа мест имплантации и количеством живых плодов. Показателем тератогенного действия данного средства служило число плодов с аномалиями развития.

Длительное введение экстракта не оказывает отрицательного влияния на исследованные показатели эмбриотоксичности и тератогенности. Так, показатели предимплантационной, постимплантационной и общей эмбриональной смертности, а также общая масса плодов, их кранио-каудальные размеры, состояние костной системы и внутренних органов плодов опытных групп существенно не отличались от данных в контроле.

5.4.2. Изучение влияния пассифлоры экстракта сухого на постнатальное развитие потомства белых крыс

Эксперименты проведены на беременных крысах-самках линии Вистар. Животным опытной группы внутривенно вводили водный раствор экстракта в дозе 150 мг/кг в объеме 10 мл/кг с 1 по 19 день беременности. Животные контрольной группы получали дистиллированную воду. Для оценки влияния экстракта на постнатальное развитие потомства регистрировали выживаемость крысят.

Введение изучаемого экстракта в дозе 150 мг/кг беременным самкам не оказывает отрицательного влияния на выживаемость потомства: гибели кры-

сят как в опытной, так и контрольной группе не отмечалось. На 4 сутки эксперимента в опытной группе животных погибло 2 из 136 рожденных крысят, что составляет 1,4 %. На 7 и 14 сутки исследования гибели потомства белых крыс не было отмечено. На 21 сутки в опытной группе также не отмечалось гибели животных.

Длительное введение экстракта в дозе 150 мг/кг не оказывает отрицательного влияния на массу крысят в постнатальном периоде. Не наблюдалось также различий в краниокаудальных размерах у крысят опытной и контрольной групп.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дыбан А.Я. Техника тератологического эксперимента млекопитающих /Методы биологии развития. – М., 1974. – С. 299-313.
2. Оценка мутагенности новых лекарственных препаратов. Методические рекомендации. –М. -1991. -31 с.
3. Никитин В.М. Справочник методов иммунологии. – Кишинев, 1982. – 302 с.
4. Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP). -М. -1992. -78 с.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.- МЗ РФ. Департамент контроля качества, эффективности и безопасности лекарственных средств. Научный центр экспертизы и государственного контроля лекарственных средств. Фармакологический Комитет МЗ РФ. – 2000.
6. Тессенев В. Реакция «трансплантант против хозяина» на мышцах под влиянием дозированных физических нагрузок в возрастном аспекте: Автореф. дисс.... канд. биол. наук. – 1985. – 16 с.
7. Торчинский А.М., Чиркова Е.М., Чеботарь Н.А., Бериляк И.Р., Смольникова Н.М. Оценка выраженности эмбриотоксического действия в эксперименте // Хим. Фарм. журн. – 1984. -№3. –С.962-966.

8. Фрейдлин И.С. Использование культуры мышинных перитонеальных макрофагов в качестве модели для изучения клеток мононуклеарной фагоцитарной системы организма и их изменений под влиянием биологически активных веществ / Метод. рекомендации. – Л., 1976. – С.8-10.
9. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibody-forming cells / Nature. – 1965. – Vol. 207. – P. 1106 – 110.
10. Kitamura K.A. Footpad weight assay method to evaluate delayed – type hypersensitivity in the mouse // J. Immunol. Methods. – 1980. – Vol.39. – P.277-283.
11. Maron D.M., Ames B.N. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test // Mutat. Res. -1983. – Vol.113. – P.173-215.

**Генеральный директор
ЗАО «ВИФИТЕХ»**

С.А. Постельников