

# ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ СИБИРИ

С.В. Дутова<sup>1\*</sup>, канд. фарм. наук,  
М.А. Мяделец<sup>2</sup>, канд. биол. наук, М.Р. Карпова<sup>3</sup>, докт. мед. наук

<sup>1</sup>Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова; 655017, Абакан, ул. Ленина, д. 90

<sup>2</sup>Центральный сибирский ботанический сад СО РАН; 630090, Новосибирск, ул. Золотогорная, д. 101

<sup>3</sup>Сибирский государственный медицинский университет; 634050, Томск, Московский тракт, д. 2

Е-mail: coluria@mail.ru

В эксперименте *in vivo* изучено влияние на фагоцитоз и пролиферацию иммунокомпетентных органов водно-спиртовых извлечений из сырья 6 видов малоизученных лекарственных растений семейств *Lamiaceae* и *Rosaceae*, обладающих антимикробным действием. Перспективными для дальнейшего изучения являются колюрия гравилатовидная и котовник сибирский.

**Ключевые слова:** колюрия гравилатовидная, *Coluria geoides* (Pall.) Ledeb., котовник сибирский, *Nepeta sibirica* L., иммуностимуляция, фагоцитоз, лимфолиферативные процессы.

Самобытная флора юга Сибири представляет большой интерес для изучения фармакологической активности и химического состава лекарственных растений. Ранее была установлена антимикробная активность эфирных масел и водных извлечений некоторых растений семейств *Lamiaceae* (яснотковые) и *Rosaceae* (розоцветные) [1]. Практически любое инфекционное заболевание сопровождается формированием у пациентов вторичного иммунодефицита, поэтому важно наличие у антимикробных фитопрепаратов иммуностимулирующей активности. Эфиромасличные растения семейств яснотковых и розоцветных широко применяются в народной медицине коренных жителей Южной Сибири для лечения различных инфекционных заболеваний.

Цель настоящего исследования – выявление иммуностимулирующей активности водно-спиртовых извлечений из сырья 6 видов малоизученных лекарственных растений семейств яснотковых и розоцветных по влиянию на фагоцитоз и лимфолиферативные процессы.

## Экспериментальная часть

Объектами исследования явились водно-спиртовые извлечения из сырья 6 видов малоизученных лекарственных растений, произрастающих на юге Сибири: колюрия гравилатовидная – *Coluria geoides* (Pall.) Ledeb. (сем. розоцветных), тимьян скальный – *Thymus petraeus* Serg., котовник сибирский – *Nepeta sibirica* L., зизифора пахучковидная – *Ziziphora clinopodioides* Lam., черноголовка обыкновенная – *Prunella vulgaris* L., схизонепета многонадрезанная – *Schizonepeta multifida* (L.) Briq. (*Lamiaceae*).

Извлечения получали из корневищ с корнями и травы колюрии, травы остальных растений методом перколяции [2] с помощью 40% этилового спирта. Полученные суммарные извлечения высушивали в сушильном шкафу при температуре не выше 35°C до постоянной массы, стандартизовали по выходу экстрактивных веществ. В качестве препарата сравнения использовали настойку эхинацеи пурпурной, разрешенную к использованию на территории Российской Федерации (рег. №000167.01-2000) в качестве иммуностимулирующего препарата.

Влияние извлечений на фагоцитоз и лимфолиферативные процессы изучали согласно требованиям «Методических указаний по оценке иммуностимулирующей активности фармакологических веществ» [4]. Воздействие на фагоцитарную активность нейтрофилов определяли в эксперименте с использованием инбредных мышей линии СВА/СаЛас обоего пола в возрасте 2 мес. Животным опытных групп вводили в желудок исследуемые извлечения в течение 5 дней в стерильном физиологическом растворе в дозе 50 мг/кг, животным контрольной группы в течение 5 дней вводили растворитель. Стимуляцию фагоцитоза оценивали по фагоцитарному показателю (фагоцитарный индекс и фагоцитарное число) нейтрофилов периферической крови и перитонеальной жидкости. Влияние на функциональную активность нейтрофилов оценивали с помощью NCT-теста, в качестве стимулятора окислительного взрыва использовали инактивированные клетки *St.aureus*. Абсолютное число и морфологический состав лейкоцитов периферической крови определяли стандартными гематологическими методами [3]. Исследование выполняли в соответствии с международными этическими и научными стандартами качества проведения исследований на животных.

Полученные результаты обрабатывали с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics 19, результаты представляли в виде медианы с 25 и 75% квартилями. Независимые группы сравнивали с помощью непараметрического U-теста Манна–Уитни, различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

Как показало изучение фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови, из всех исследуемых извлечений достоверно по сравнению с контролем

Таблица 1

**ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ  
(МЕДИАНА 25–75% КВАРТИЛИ, n=9–10)**

Условия стимуляции	ФИ нейтрофилов %		ФЧ, частиц латекса / нейтрофил	
	периферической крови	перитонеальной жидкости	периферической крови	перитонеальной жидкости
Без стимуляции (контроль)	25,5 (21,3÷31,5)	22,0 (19,0÷31,0)	1,61 (1,44÷1,66)	2,19 (1,82÷2,85)
Е (препарат сравнения)	35,0 (24,0÷38,0)*	35,0 (32,8÷44,5)*	3,92 (3,69÷4,81)*	4,49 (4,03÷5,73)*
С	36,5 (33,3÷40,8)*	48,0 (44,0÷57,5)*#	2,56 (2,29÷3,04)*	2,70 (2,40÷3,34)*
S	26,0 (23,0÷30,8)	21,0 (19,0÷23,0)	2,97 (2,44÷3,31)*	1,48 (1,42÷1,77)
N	21,0 (18,5÷28,5)	30,0 (21,0÷34,0)	1,48 (1,18÷1,60)	1,92 (1,38÷3,00)
Z	25,0 (20,5÷27,5)	45,0 (36,0÷52,0)*	1,28 (1,19÷1,86)	1,70 (1,63÷2,00)
T	16,0 (16,0÷20,0)	19,0 (18,0÷25,0)	2,87 (2,44÷3,44)*	1,76 (1,53÷2,05)
P	22,5 (16,0÷24,0)	41,0 (39,0÷45,0)*	1,80 (1,69÷2,62)*	2,63 (2,23÷3,07)

**Примечание.** Здесь и в табл. 2 и рис. 1, 2: \* – достоверно выше показателей контроля при  $p \leq 0,05$ ; # – достоверно выше показателей препарата сравнения (настойки эхинацеи) при  $p \leq 0,05$ ; Е – настойка эхинацеи; водно-спиртовые извлечения из сырья: С – колюрии гравилатовидной; S – схизонепеты многонадрезанной; N – котовника сибирского; Z – зизифоры пахучковидной; T – тимьяна скального; P – черноголовки обыкновенной.

увеличивали фагоцитарный индекс (ФИ) только извлечения из сырья колюрии (табл. 1). Его стимулирующее действие было сопоставимо с действием препарата сравнения. ФИ в образцах крови мышей, получавших извлечения из сырья остальных растений, существенно не отличался от показателей в контрольной группе животных. Интенсивность фагоцитоза достоверно по сравнению с контролем стимулировали 4 из 6 изучаемых извлечений. Наиболее эффективным оказалось действие извлечений из травы схизонепеты и тимьяна, фагоцитарное число (ФЧ) составило 2,97 (2,44÷3,31) и 2,87 (2,44÷3,44) частиц латекса/нейтрофил соответственно. Применение извлечений колюрии также привело к увеличению ФЧ – 2,56 (2,29÷3,04) частиц латекса/нейтрофил. Приведенные значения были достоверно ниже показателей в группе животных, получавших препарат сравнения.

Фагоцитарную активность перитонеальных нейтрофилов в сравнении с контролем достоверно стимулиро-

вали извлечения колюрии, зизифоры и черноголовки: ФИ составил 48, 45 и 41% соответственно (в контрольной группе – 22%). При этом извлечения зизифоры и черноголовки стимулировали фагоцитоз аналогично действию препарата сравнения, а извлечение колюрии – достоверно сильнее. Также извлечение колюрии достоверно в сравнении с контролем увеличивало ФЧ до 2,70 (2,40÷3,34) частиц латекса/нейтрофил, что достоверно ниже аналогичного показателя у препарата сравнения. Интенсивность фагоцитоза при применении извлечений остальных растений изменялась незначительно.

Кроме того, изучали стимулирующее действие исследуемых извлечений на функциональную активность нейтрофилов – способность продуцировать активные формы кислорода (с помощью

НСТ-теста), для чего рассчитывали индекс стимуляции окислительного взрыва (рис. 1).

Установлено, что на функциональную активность нейтрофилов периферической крови и перитонеальной жидкости наибольшее стимулирующее воздействие оказывают извлечение котовника, индексы стимуляции составили 2,65 и 3,03 у.е. соответственно (в контроле 2,23 и 1,45 у.е. соответственно). Извлечение колюрии окислительный взрыв в нейтрофилах стимулировало незначительно. Остальные исследуемые извлечения достоверно стимулировали окислительный взрыв только в нейтрофилах перитонеальной жидкости. Препарат сравнения (настойка эхинацеи) на функциональную активность нейтрофилов не оказывал влияния.

Далее оценивали влияние извлечений на лимфопрлиферативные процессы. Все исследуемые извлечения достоверно в сравнении с контролем увеличивали абсолютное число лейкоцитов в периферической крови животных экспериментальных групп от  $7,20 (6,80 \div 7,95) 10^9/л$  (извлечение колюрии) до  $16,25 (13,15 \div 18,71) 10^9/л$  (извлечение зизифоры) (табл. 2). Причем абсолютное число лейкоцитов периферической крови животных, получавших извлечения схизонепеты, зизифоры и черноголовки, достоверно превышало аналогичный показатель препарата сравнения. Общую клеточность селезенки 4 исследуемых извлечения (котовника, зизифоры, тимьяна и черноголовки) снижали достоверно в сравнении с контролем, остальные – не изменяли. Препарат сравнения (настойка эхинацеи) также существенно не влиял на этот показатель.

При изучении морфологического состава лейкоцитов периферической крови было установлено, что увеличение абсолютного количества лейкоцитов периферической крови под действием извлечений котовника, зизифоры, тимьяна и черноголовки обусловлено перераспределением их фракций: стимуляцией миелопоэза и угнетением лимфопоэза (рис. 2).

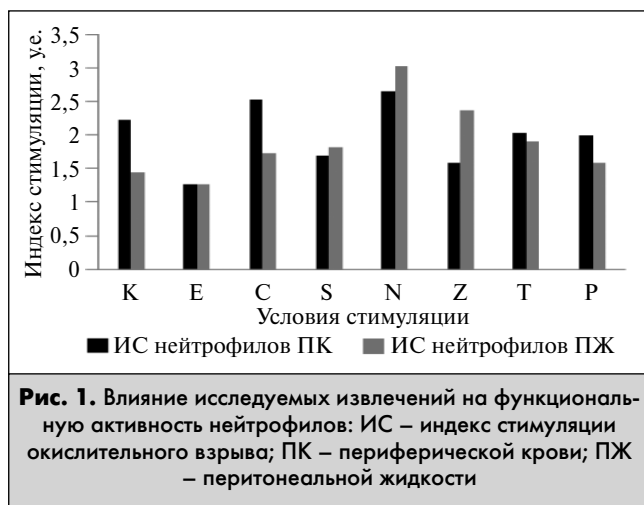
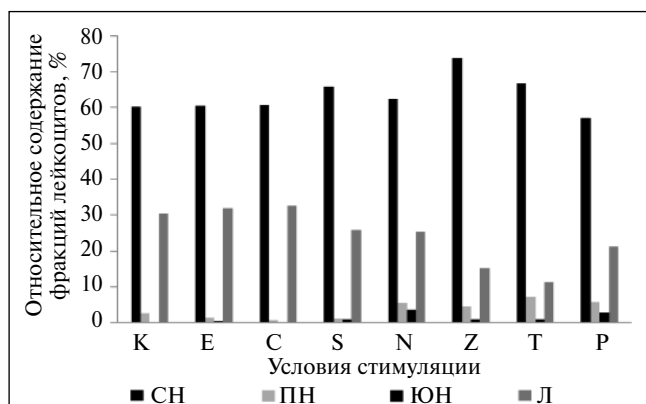


Таблица 2

**ВЛИЯНИЕ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ (МЕДИАНА 25–75% КВАТИЛИ, n=9–10)**

Вариант эксперимента	Абсолютное число лейкоцитов, ×10 <sup>9</sup> /л	Общая клеточность селезенки, ×10 <sup>6</sup> /орган
Без стимуляции (контроль)	6,10 (4,25÷6,70)	129,15 (101,30÷180,15)
Е (препарат сравнения)	10,83 (8,73÷13,65)*	99,30 (92,30÷148,30)
С	7,20 (6,80÷7,95)*	103,00 (101,25÷125,75)
S	13,98 (11,85÷15,74)*#	114,00 (86,05÷152,35)
N	11,55 (8,76÷14,25)*	82,70 (75,45÷97,60)
Z	16,25 (13,15÷18,71)*#	106,20 (91,10÷118,60)
T	9,95 (8,20÷11,70)*	84,90 (73,00÷95,40)
P	15,20 (12,46÷17,79)*#	95,40 (78,35÷111,95)



**Рис. 2.** Влияние исследуемых извлечений из лекарственных растений на морфологический состав периферической крови: СН – сегментоядерные нейтрофилы, ПН – палочкоядерные нейтрофилы, ЮН – юные нейтрофилы, Л – лимфоциты

Под влиянием извлечений происходил заметный сдвиг лейкоцитарной формулы влево (индекс сдвига – 0,13–0,14) по сравнению с контролем (индекс сдвига – 0,04). Извлечение колюрии и препарат сравнения (настойка эхинацеи) увеличивали абсолютное количество лейкоцитов периферической крови в основном за счет стимуляции лимфопоэза. Существенного изменения относительного числа моноцитов, базофилов и эозинофилов все исследуемые извлечения не вызывали.

Таким образом, согласно результатам исследования, изученные водно-спиртовые извлечения из сырья лекарственных растений в эксперименте *in vivo* оказывают в разной степени выраженное иммуностимулирующее действие. В связи с установленным негативным влиянием большинства из изученных препаратов на лимфопролиферативные процессы в селезенке необходимо проведение дополнительных исследований.

**Выводы**

1. Колюрия гравилатовидная наиболее перспективна для углубленного исследования в качестве иммуностимулирующего средства, стимулирующего лимфопролиферативные процессы, фагоцитоз и окислительный взрыв в нейтрофилах.
2. Для дальнейшего изучения представляет интерес котоник сибирский, у которого ярко выражена способность стимулировать бактерицидность фагоцитов.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Водлазова С.В., Мяделец М.А., Карпова М.Р. и др. Антимикробная активность эфирных масел и водных извлечений из лекарственных растений Хакасии. Сибирский медицинский журнал. 2011; 26 (2): 54–58.
2. Государственная фармакопея СССР. XI изд. Вып. 2. М.: Медицина, 1990; 289.
3. Методы клинических лабораторных исследований (под ред. В.С. Камышкова), М.: МЕДпресс-информ, 2011; 347.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (под ред. Р.У. Хабриева) 2-е изд. М.: Медицина, 2005; 503–515.

Поступила 6 февраля 2014 г.

**IMMUNOSTIMULANT PROPERTIES OF SOME PLANTS FROM SIBERIA**

S.V. Dutova<sup>1</sup>, PhD, M.A. Nyadelets<sup>2</sup>, PhD, M.R. Karpova<sup>3</sup>, MD

<sup>1</sup>N.F. Katanov Khakass State University; 90, Lenin St., Abakan 655017

<sup>2</sup>Central Siberian Botanic Garden, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; 101, Zolotodolinskaya St., Novosibirsk 630090

<sup>3</sup>Siberian State Medical University; 2, Moskovsky Road, Tomsk 634050

**SUMMARY**

An *in vivo* experiment studied the effect of aqueous-alcoholic extracts from raw materials of 6 little investigated medicinal plant species of the families *Lamiaceae* and *Rosaceae*, which had antimicrobial activity, on phagocytosis and proliferation of immunocompetent organs. The immunostimulant effect of the phytopreparations was determined in the experiment on two-month-old inbred CBA/Calac mice of both sexes. The test preparations were administered at a dose of 50 mg/kg into the stomach of the experimental animals for 5 days. Their effect on the functional activity of neutrophils was evaluated using the NCT test; the stimulated phagocytosis of peripheral blood neutrophils and peritoneal fluid was assessed. The extracts from the raw material of the examined plants were ascertained to exert a pronounced immunostimulant effect differently. The majority of the extracts were also found to have a negative effect on lymphoproliferative processes in the spleen. *Coluria geoides* Ledeb. and *Nepeta sibirica* L. are most promising as an immunotropic drug to be further investigated. The pronounced ability of a phytopreparation from *N. sibirica* raw material to stimulate the bactericidality of phagocytes (*Lamiaceae*) in the NCT test also deserves attention.

**Key words:** *Coluria geoides* (Pall.) Ledeb., *Nepeta sibirica* L., immunostimulation, phagocytosis, lymphoproliferative processes.

**REFERENCES**

1. Vodolazova S.V., Mjadeldec M.A., Karpova M.R. et al. The antimicrobial activity of essential oils and aqueous extracts from medicinal plants Khakassia. Sibirskij medicinskij zhurnal, 2011; 26 (2): 54–58 (in Russian).
2. State Pharmacopoeia of the USSR. XI ed. Is. 2. M.: Medicine, 1990; 289 (in Russian).
3. Methods of clinical laboratory tests. (ed. V.S. Kamyschkova). Moscow: MEDpress Inform, 2011; 347 (in Russian).
4. Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances (ed. R.U. Habrieva), 2nd ed. M.: Medicine, 2005; 503–515 (in Russian).