

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ PHARMACOLOGY, CLINICAL PHARMACOLOGY



УДК 616.127-005.8

DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-3-0-5

М.П. Ефремова

Изучение адаптогенной активности и токсикологической безопасности экстракта жирного масла семян чернушки дамасской

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет»,
пр. Калинина, д. 11, г. Пятигорск, 357532, Российская Федерация
Автор для переписки: М.П. Ефремова (efremova.marinka26@gmail.com)

Аннотация

Актуальность: Чернушка дамасская (*Nigella damascena* L.) – растение, извлечения из которого характеризуются поликомпонентным составом биологически активных веществ, которым присущ обширный спектр фармакологических свойств. В связи с этим актуальным можно считать изучение новых видов фармакологической активности препаратов на основе чернушки дамасской.

Цель исследования: В условиях эксперимента изучить адаптогенную активность и токсикологическую безопасность экстракта жирного масла семян чернушки дамасской. **Материалы и методы:** В качестве биологической модели в работе использованы: 36 мышей-самцов линии Balb/c; 372 аутобредных половозрелых крыс-самцов линии «Wistar», 4 морские свинки и 12 куриных эмбрионов. Изучаемый объект – экстракт жирного масла семян чернушки дамасской. В условиях эксперимента оценивали некоторые аспекты безопасности (острая токсичность и раздражающее действие) и адаптогенное действие экстракта жирного масла семян чернушки дамасской. **Результаты:** В ходе исследования было установлено, что применение экстракта жирного масла семян чернушки дамасской повышало устойчивость животных к иммобилизационному стрессу (с нормализацией медиаторно-гормонального обмена), физическую работоспособность в тестах «Принудительное плавание» и «Вращающийся стержень» (в особенности при курсовом применении). Также применение исследуемого объекта увеличивало продолжительность жизни животных в условиях гипоксии. При этом экстракт жирного масла семян чернушки дамасской характеризовался низкой токсичностью применения (LD_{50} крысы > 68 мл/кг, и LD_{50} мыши > 62,5 мл/кг). **Заключение:** На основании проведенного исследования можно предполагать актуальность дальнейшего изучения экстракта жирного масла семян чернушки дамасской в качестве лекарственного средства адаптогенного действия с низкой системной токсичностью применения.

Ключевые слова: чернушка дамасская; актопротекция; стрессопротекция; адаптогены

Для цитирования: Ефремова МП. Изучение адаптогенной активности и токсикологической безопасности экстракта жирного масла семян чернушки дамасской. Научные результаты биомедицинских исследований. 2019;5(3):34-49. DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-3-0-5

Marina P. Efremova

The study of adaptogenic activity and toxicological safety of the *Nigella damascena* seed fatty oil extract

Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University
of the Ministry of Health of Russia,
11 Kalinin Ave., Pyatigorsk, 357532, Russia

Corresponding author: Marina P. Efremova (efremova.marinka26@gmail.com)

Abstract

Background: *Nigella damascena* L. is a plant, extracts from which are characterized by a multicomponent composition of biologically active substances, which have an extensive spectrum of pharmacological properties. In this regard, the study of new types of pharmacological activity of drugs obtained from *Nigella damascena* L. can be considered relevant. **The aim of the study:** Under the conditions of the experiment, to study the adaptogenic activity of the *Nigella damascena* L. seed fatty oil extract. **Materials and methods:** The following biological models were used in the work: 36 male mice of the Balb/c line; 372 outbred sexually mature Wistar male rats, 4 guinea pigs and 12 chicken embryos. The studied object is an extract of fatty oil of the seeds of *Nigella damascena* L. Under the conditions of the experiment, some aspects of safety (acute toxicity and irritating effect) and the adaptogenic effect of the *Nigella damascena* L. seed oil extract were evaluated. **Results:** In the course of the study, it was found that the use of *Nigella damascena* L. seed fatty oil extract increased the resistance of animals to immobilization stress (with normalization of mediator-hormonal metabolism), physical performance in the tests «Forced swimming» and «Rota-rod» (especially with course use). Also, the use of the studied object increased the life expectancy of animals in conditions of hypoxia. At the same time, the *Nigella damascena* L. seed fatty oil extract was characterized by low toxicity (rat LD₅₀ > 68 ml / kg, and mouse LD₅₀ > 62.5 ml / kg). **Conclusion:** Based on the conducted study, we can assume the relevance of the further study of the *Nigella damascena* L. seed fatty oil extract as a drug of adaptogenic action with low systemic toxicity.

Keywords: *Nigella damascena* L.; aktoprotection; stressprotection; adaptogens

For citation: Efremova MP. The study of adaptogenic activity and toxicological safety of the *Nigella damascena* seed fatty oil extract. Research Results in Biomedicine. 2019;5(3):34-49. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-3-0-5

Введение. Чернушка дамасская (*Nigella damascena* L., *Ranunculaceae* (Лютиковые)) – однолетнее травянистое растение высотой 15-40 см. Растение голое, с прямым, иногда слегка фиолетовым стеблем, с листьями дважды, трижды рассеченными на щетинистые сегменты. Верхние листья образуют покрывало, превышающее по

длине цветок. Чашелистики продолговатые, с широкой ножкой [1]. Экстракт жирного масла из семян чернушки дамасской издавна широко применялся в народной медицине Ближнего Востока, Азии, Африки в качестве иммуномодулирующего, анальгетического, противодисбиотического, антигистаминного и дерматотропного

средства [2]. Установлено, что компонентный состав экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской представлен полиненасыщенными жирными кислотами (олеиновая, эйкозадиеновая, эйкозановая), аминокислотами, органическими кислотами (миристиновая кислота, бензойная кислота), а также токоферолами, β -ситостерином и тимохиноном, представ-

ляющего наибольшую биологическую ценность [3].

Тимохинон – 2-изопропил-5-метил-1,4-бензохинон (рис.1), является замещенным производным хинона, состоящего из сопряженной системы диона и бензольного кольца с метильным и изопропильным радикалами в боковой цепи.

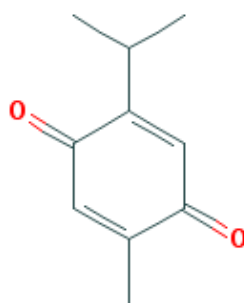


Рис. 1. Структура тимохинона
Fig. 1. The structure of thymoquinone

Тимохинон фармакологически активный фитокомпонент, имеющий структурное сходство с коэнзимом Q митохондриальной дыхательной цепи. Подобная гомологичность строения обуславливает высокую антиоксидантную активность тимохинона [4]. Также для тимохинона установлены регулирующие свойства в отношении ферментов эндогенной антиоксидантной защиты: супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы, НАДФ-оксидаз [4]. Известны иммуномодулирующие, гипогиперемические [5], антинеопластические [7], противовоспалительные [8] свойства тимохинона. Также тимохинон характеризуется низкой системной токсичностью применения [9]. Вышеперечисленные виды фармакологической активности делают тимохинон, а соответственно и экстракт жирного масла из семян чернушки дамасской, в котором содержание тимохинона может достигать 24% перспективным средством вариантного фармакологического действия [9].

Цель исследования. В эксперименте изучить адаптогенную активность и токси-

кологическую безопасность экстракта жирного масла семян чернушки дамасской.

Материалы и методы исследования.

Экспериментальные животные и их содержание

Экспериментальная часть данной работы была выполнена в лаборатории доклинических исследований Центра доклинических и клинических исследований НИУ «БелГУ». В качестве биологической модели в работе использовали: 36 мышей-самцов линии Balb/c; 234 аутбредных половозрелых крыс-самцов линии «Wistar», 4 морские свинки и 12 куриных эмбрионов. Все экспериментальные исследования были одобрены Этическим комитетом ФГАОУ ВО «Белгородского государственного национального исследовательского университета» (НИУ «БелГУ»). Содержание и все проводимые с животными манипуляции соответствовали общепринятым этическим нормам лабораторной практики («European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for

Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No.123»).

Исследуемая субстанция, референтные препараты. Дизайн исследования.

В качестве изучаемой субстанции в работе выступал Экстракт жирного масла из семян чернушки дамасской 25 мл («SEZAM» г. Ташкент, респ. Узбекистан).

На различных этапах экспериментальной работы препаратами сравнения служили: Облепиховое масло жидкое 25 мл (ООО НПФ «Алтайский букет», г. Барнаул, Россия); Элеутерококка экстракт жидкий 50 мл (ОАО «Дальхимфарм», г. Хабаровск, Россия). Дизайн исследования представлен в таблице 1.

Таблица 1

Дизайн исследования

Table 1

Study design

№ п/п	Серия эксперимента	Метод	Биологическая модель	кол-во шт.
1. Определение безопасности применения ЭЖМЧД				
1.1.	Оценка раздражающего действия	НЕТ – CAM test.	куриные эмбрионы	12
1.2.	Оценка местно-раздражающего действия	DRAIZE-test	морские свинки	4
1.3.	Острая токсичность	определение LD ₅₀	мыши	12
1.4.	Нейротоксичность	Актиметрический тест	мыши	12
1.5.	Экспериментальная доза	Плавание с отягощением	крысы	42
2. Изучение адаптогенной и актопротекторной активности ЭЖМЧД				
2.1.	Стресспротекторная активность	«безвыходная ситуация»	крысы	36
2.2.	Актопротекторная активность	Принудительное плавание с отягощением	крысы	36
2.3.	Актопротекторная активность	тест «Вращающийся стержень»	мыши	12
2.4.	Антигипоксическая активность	моделированная гипоксия	крысы	36
3. Изучение медиаторно-гормонального обмена в условиях острого стресса				
3.1.	АД, НА, Д, С, Г, 11-ОКС	биохимический анализ крови	сыворотка, ткани печени, КГМ, сердце крыс	84

Примечание: ЭЖМЧД – экстракт жирного масла семян чернушки дамасской; АД – адреналин; НА – норадреналин; Д – дофамин; Г – гистамин; 11-ОКС – 11-оксикортикостероиды; ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Note: ЭЖМЧД – Nigella damascena L. seed fat oil extract; АД – adrenaline; НА – norepinephrine; Д – dopamine; Г – histamine; 11-ОКС – 11-hydroxycorticosteroids; ХСН – chronic heart failure.

Оценка раздражающего действия (НЕТ – CAM test)

Оценку раздражающего действия экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской проводили на хорион-аллантоисной оболочке куриного эмбрио-

на – НЕТ – CAM test. Вещества тестировали в 5 сериях (5 – опыт, 5-контроль) [11].

Оценка местно-раздражающего действия (DRAIZE-test)

Исследования по изучению раздражающего действия экстракта жирного

масла из семян чернушки дамасской было проведено по схеме *Spielmann* (*Spielmann* и соавт., 1996), *in vivo* на слизистой оболочке глаза морских свинок, $n=4$. Выраженность отека и гиперемии определяли по 5-ти бальной шкале (П. Михайлов, 1985). Оценка раздражения складывалась из суммы балла гиперемии и балла отека [12].

Оценка острой токсичности

Определение острой токсичности проводили согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств под ред. А.Н. Миронова 2012 г. Изучаемый экстракт жирного масла из семян чернушки дамасской вводили через внутрижелудочный зонд дробно 3 раза через каждые 4 часа. [11]

Оценка нейротоксичности в актиметрическом тестировании

Для оценки нейротоксичности исследуемого объекта был использован тест актиметрии с инфракрасным мониторингом активности IR Actimeter (Panlab, Harvardapparatus). Фиксировались показатели локомоторной активности, стереотипных движений, груминга, вертикальной активности и общий уровень активности.

Экспериментальная модель острого стресса

Острый стресс моделировали путем иммобилизации крыс самцов на спине в условиях антиортостаза и затемнения в течение 6 часов. Через 24 часа после однократного введения и 14 дней после курсового, животных подвергали эвтаназии методом цервикальной дислокации под легким эфирным наркозом, вскрывали брюшную полость, извлекали желудок, надпочечники и тимус [13].

Для унификации данных высчитывали коэффициент протективного эффекта (КПЭ) препарата при каждом виде повреждающего воздействия и средний КПЭ (Сидоров А.В., 2004)

$$КПЭ = \frac{O - K}{I - K} \text{ (для стресса);}$$

где:

O – показатели группы, получающей исследуемый препарат;

K – показатели контрольной группы (масло);

I – показатели интактной группы (животные не получали ни плацебо, ни препарат, воздействию стресса не подвергались).

Оценка актопротекторной активности

Актопротекторную активность экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской на определяли на модели принудительного плавания крыс с грузом 7,5% от массы тела при температуре воды 33-35°C до полного утомления [14] и в тесте «Вращающийся стержень» [15].

Оценка антигипоксической активности

Нормобарическая и нормакапническая гипоксия моделировалась помещением крыс в гермокамеру объемом 1,5 литра. Углекислый газ удалялся натронной известью. Показателем сопротивляемости животных к воздействию гипоксии являлась продолжительность их жизни в минутах [16].

Оценка уровня гистамина и серотонина

Определение содержания гистамина и серотонина проводилось методом, основанном на измерении флюоресценции продуктов конденсации гистамина с ортофталевым альдегидом, а серотонина с нингидрином. Содержание гистамина и серотонина в крови и тканях выражалось в мкг/мл и мкг/г [16].

Оценка уровня 11-оксикортикостероидов

Для определения уровня 11-оксикортикостероидов в плазме крови крыс применялась методика Ю.А. Панкова и И.Я. Усватовой, которая основана на том, что экстрагированные из плазмы крови 11-ОКС обнаруживают флюоресценцию после обработки проб смесью концентрированной серной кислоты и этилового спирта [16].

Статистический анализ

Статистическую обработку опытов проводили с использованием t-критерия Стьюдента для независимых рядов с учетом поправки Бонферрони. Изменение исследуемых показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты опытов параметрически сравнивали с ис-

Таблица 3

Результаты раздражающего действия экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской на конъюнктиве глаза морских свинок

Table 3

The results of the irritating effect of the extract of fatty oil from the seeds of *Nigella damascena* L. on the conjunctiva of the eye of guinea pigs

Действие № опыта	Отек		Гиперемия	
	30 сек.	2 мин.	30 сек.	2 мин.
Масло подсолнечное (контроль)				
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
Жирное масло чернушки дамасской				
1	0	0,67	0	0
2	0	0	0	2
Итого	2 балла, 0,75 средний балл.			

Примечание:

0-2 балла – слабое раздражающее действие; 3-5 баллов – умеренно раздражающее действие; 6-8 баллов – сильное раздражающее действие.

Контроль – подсолнечное масло 0 баллов

Опыт–ЭЖМЧД – 2,67 балла

Note:

0-2 points – mild irritant effect; 3-5 points – moderately irritating; 6-8 points – a strong irritant effect.

Control – sunflower oil 0 points

Experiment–EFOND – 2.67 points

В результате проведенной оценки острой токсичности (табл.4) экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской установлено, что исследуемый объект по классификации *Hodge u Sterner*, а также

по классификации К.К. Сидорова относится к 5 классу токсичности соединений, т.е. практически не токсичным веществам (LD_{50} крысы > 68 мл/кг, и LD_{50} мыши > 62,5 мл/кг).

Таблица 4

Результаты оценки острой токсичности экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской

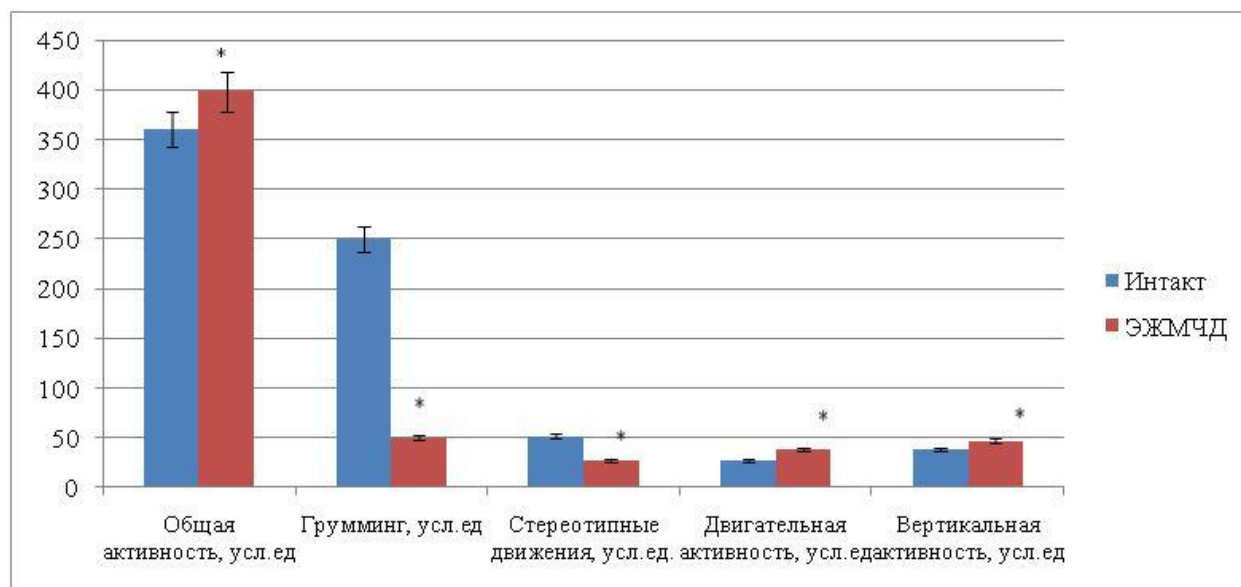
Table 4

Assessment results of acute toxicity of fatty oil extract from *Nigella damascena* L. seeds

№ группы	Исследуемый объект	Доза на каждое введение, мл (крысы/мыши)	Летальность, %	LD_{16} , г/кг	LD_{50} , г/кг	LD_{84} , г/кг
1	ЭЖМЧД	5/0,5	0	–	–	–
2	Масло подсолнечное	5/0,5	0	–	–	–

Кроме того, на основании данных актиметрического тестирования можно предположить отсутствие у ЭЖМЧД токсического влияния на ЦНС экспериментальных животных (рис. 2). Введение ЭЖМЧД несколько увеличивало поисковую актив-

ность и снижало проявление психоэмоционального дефицита, о чем свидетельствует увеличение общей двигательной активности (10,2%) и уменьшение стереотипных движений (88,9%) и груминга (80%) соответственно.



Примечание: * – достоверно относительно контроля

Note: * – significantly relative to control

Рис. 2. Действие экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской на ЦНС животных
Fig. 2. The effect of the extract of fatty oil from the seeds of *Nigella damascena* L. on the central nervous system of animals

Оценка зависимости «доза-эффект» экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской

Эффективную дозу экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской для дальнейшего исследования определяли на основании результатов, полученных при оценке влияния различных доз изучаемого объекта на уровень физической работоспособности экспериментальных животных в тесте «принудительное плавание с отягощением». Эксперимент поставлен на 42 крысах-самцах, предварительно рандомизированных по продолжительности плавания и массе, случайным образом распределенных на 6 равных экспериментальных групп. Изучаемый экстракт жирного масла из семян чернушки дамасской вводили в следующем диапазоне доз: 1/100 LD₅₀; 1/50 LD₅₀; 1/30 LD₅₀; 1/20 LD₅₀; 1/10 LD₅₀; 1/5 LD₅₀ (поскольку при оценке острой

токсичности экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской гибели животных отмечено не было, за величину LD₅₀ принимали максимально введенный объем – для крыс 68 мл/кг).

В результате проведенного исследования было установлено, что однократное интрагастральное введение ЭЖМЧД в указанном диапазоне доз способствовало повышению физической активности экспериментальных животных по отношению к контрольной группе крыс. При этом увеличение работоспособности при введении ЭЖМЧД в дозе 1/100 LD₅₀ не привело в статистически значимому повышению физической активности животных по сравнению с контрольной группой крыс (но была отмечена положительная тенденция изменений), в то время как на фоне введения изучаемого объекта в дозах 1/50 LD₅₀ и 1/30 LD₅₀ рост физической работоспособ-

ности крыс по отношению к группе контроля составил + 63% ($p < 0,05$) и +173,9% ($p < 0,05$) соответственно. Дальнейшее увеличение вводимой дозы экстракта жирного

масла из семян чернушки дамасской значимого влияния на уровень физической активности экспериментальных животных не оказало (табл. 5).

Таблица 5

Влияние различных доз экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской на продолжительность плавания крыс

Table 5

The effect of various doses of the extract of fatty oil from the seeds of *Nigella damascena* L. on the duration of rats' swimming

Группа животных	Продолжительность плавания, мин. 1-ый день	Продолжительность плавания, мин. 14-ый день	% нарастания динамической работоспособности	% прироста к предыдущей серии (дозе)
Контроль	13,8±0,035	14,6±0,081	5,79	-
ЭЖМЧД 1/100 LD ₅₀	16,7±0,017	19,2±0,07	14,97	+155,44
ЭЖМЧД 1/50 LD ₅₀	22,3±0,04*	27,8±0,11*	24,66	+64,73
ЭЖМЧД 1/30 LD ₅₀	37,8±0,09*	52,2±0,05*	38,09	+54,48
ЭЖМЧД 1/20 LD ₅₀	38,4±0,05*	58,2±0,04*	51,56	+35,37
ЭЖМЧД 1/10 LD ₅₀	42,5±0,15*	60,4±0,04*	42,12	-18,31
ЭЖМЧД 1/5 LD ₅₀	42,3±0,09*	61,1±0,05*	44,44	+5,51

Примечание: * – достоверная относительно контрольной группы ($p < 0,05$)

Note: * – significant relative to the control group ($p < 0.05$)

Таким образом, для проведения дальнейших исследований были выбраны дозы ЭЖМЧД 1/100 LD₅₀ и 1/30 LD₅₀, что эквивалентно 0,7 мл/кг и 2,3 мл/кг.

Таким образом, эффективной дозой изучаемого экстракта можно считать дозу в 2,3 мл/кг.

Изучение адаптогенной, актопротекторной и противострессорной активности экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской

Влияние экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской на переносимость острого стресса

Переносимость к стрессу определялась с учетом следующих показателей: весовой коэффициент надпочечников, весовой коэффициент тимуса и степень изъязвления слизистой оболочки желудка и величины КПЭ.

Результаты исследования представлены в таблице 6.

Таблица 6

Влияние экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской на устойчивость крыс к стрессу

Table 6

The effect of the extract of fatty oil from the seeds of *Nigella damascena* L. on the resistance of rats to stress

Группа животных	Тимус		Надпочечник		СОЖ		Средний КПЭ
	Весовой коэффициент	КПЭ	Весовой Коэффициент	КПЭ	Степень изъязвления	КПЭ	
Интактные	1,210±0,030	-	0,083±0,003	-	0	-	-
Контроль	0,523±0,021*	-	0,139±0,012*	-	16,4±4,2	-	-
ЭЖМЧД 2,3мл/кг однокр.	0,871±0,022*#	0,507	0,099±0,005#	0,714	6,4±1,2#	0,609	0,610
ЭЖМЧД 2,3мл/кг курс.	1,216±0,051#	1,005	0,085±0,004#	0,964	2,1±0,9#	0,872	0,948
Масло облепиховое 2 мл/кг однокр.	0,481±0,34#	0,2	0,113±0,002#	0,464	10,34±1,2#	0,63	0,431
Масло облепиховое 2 мл/кг курс.	0,545±0,4	0,5	0,124±0,001#	0,345	8,7±1,4	0,53	0,458

Примечание: * – достоверная разница ($p < 0,05$) с группой интактных животных # – достоверная разница ($p < 0,05$) с группой контроля.

Note: * – significant difference ($p < 0.05$) with the group of intact animals # – significant difference ($p < 0.05$) with the control group.

Полученные данные показывают, что экстракт жирного масла чернушки дамасской в дозе 2,3 мл/кг активно препятствует стрессорной инволюции тимуса, гипертрофированности надпочечников и способствует снижению эрозивно-язвенного поражения слизистой оболочки желудка. При этом наиболее выраженный стрессопротекторный эффект отмечен при введении ЭЖМЧД в дозе 2,3 мл/кг, что послужило основанием для оценки влияния ЭЖМЧД в данной дозе на гормонально-медиаторный обмен у крыс на фоне острого стресса.

В ходе данного блока экспериментальной работы установлено, что введение экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской 2,3 мл/кг животным однократно (за 40 мин до иммобилизации) и в течение 14 дней до начала эксперимента способствовало нормализации уровня катехоламинов во всех изучаемых тканях (табл. 7). Причем, фармакологический эффект исследуемого экстракта, становился более выраженным при его курсовом применении.

Таблица 7

Влияние экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской в дозе 2,3 мл/кг на обмен катехоламинов у крыс на фоне острого стресса

Table 7

The effect of the extract of fatty oil from the seeds of *Nigella damascena* L. at a dose of 2.3 ml/kg on the metabolism of catecholamines in rats against acute stress

Кровь (мкг/мл)				
Показатель	Интактные	Иммобилизационный стресс		
		Контроль	ЭЖМЧД 2,3 мл/кг однокр.	ЭЖМЧД 2,3 мл/кг курс.
А	0,105±0,018	0,183±0,011*	0,166±0,013*	0,144±0,021
НА	0,204±0,017	0,457±0,012*	0,338±0,019*#	0,211±0,011#
Д	0,232±0,015	0,104±0,019*	0,167±0,027	0,339±0,009*#
АД/НА	0,515±0,058	0,400±0,092	0,491±0,068	0,682±0,052#
(А+НА)/Д	1,332±0,233	6,154±1,21*	3,02±0,185*#	1,05±0,124*#
Сердце (мкг/г)				
Показатель	Интактные	Иммобилизационный стресс		
		Контроль	ЭЖМЧД 2,3 мл/кг однокр.	ЭЖМЧД 2,3 мл/кг курс.
А	0,914±0,039	0,517±0,021*	0,568±0,021*	0,692±0,031*#
НА	1,260±0,068	2,553±0,011*	0,915±0,052*#	1,268±0,068#
Д	0,777±0,141	1,259±0,019*	1,070±0,041*	0,785±0,059#
АД/Н	0,725±0,057	0,203±0,091	0,621±0,038*#	0,546±0,045*#
(А+НА)/Д	2,798±0,076	2,438±0,068	1,386±0,048*#	2,497±0,067
Кора головного мозга (мкг/г)				
Показатель	Интактные	Иммобилизационный стресс		
		Контроль	ЭЖМЧД 2,3 мл/кг однокр.	ЭЖМЧД 2,3 мл/кг курс.
А	0,282±0,010	0,526±0,011*	0,431±0,042*#	0,387±0,021*#
НА	0,204±0,031	1,245±0,023*	0,946±0,021*#	0,272±0,056*#
Д	0,512±0,119	0,797±0,114	0,722±0,049	0,528±0,022#
АД/НА	1,382±0,032	0,422±0,048	0,455±0,020	1,423±0,037
(А+НА)/Д	0,949±0,034	2,222±0,041	1,907±0,028	1,248±0,058

Примечание: * – показатель достоверной разницы ($p < 0,05$) с интактной группой; # – показатель достоверной разницы ($p < 0,05$) с контрольной группой.

Note: * – indicator of significant difference ($p < 0.05$) with the intact group; # – indicator of significant difference ($p < 0.05$) with the control group.

При этом следует отметить, что введение ЭЖМЧД значимого влияние на изменение гормонально-медиаторного обмена у животных без патологии не оказало.

Также применение ЭЖМЧД в условиях стресса у животных способствовало снижению концентрации серотонина в крови при однократном и курсовом применении соответственно на 36,77% ($p < 0,05$) и 44,15% ($p < 0,01$) относительно контроля. На фоне введения экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской в дозе 2,3 мл/кг практически нормализовалась концентрация гистамина в плазме крови стрессированных крыс. Нормализация обмена серотонина и гистамина у животных, подвергшихся стрессу, при применении ЭЖЧД отмечена также в миокарде и головном мозге. Кроме того экстракт жирного масла из семян чернушки дамасской 2,3 мл/кг, как при однократном, так и при курсовом применении снижал уровень 11-ОКС в крови на 23,19% и 46,57% ($p < 0,05$) соответственно.

Адаптогенная активность экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской в дозе 2,3 мл/кг

По литературным данным адаптогены должны повышать сопротивляемость организма к действию стрессирующих факторов экзогенного и эндогенного происхождения. При этом должны обладать, сочетанным антигипоксическим, актопротекторным и стресспротекторным эффектом.

Применение исследуемого ЭЖМЧД увеличивало продолжительность жизни животных в условиях гипоксии, как при однократном, так и при курсовом применении по сравнению с группой контроля. Достоверные данные ($p < 0,05$) были получены для экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской в дозе 2,3 мл/кг (таб.8). Также введение (однократно и курсом) крысам ЭЖМЧД в данной дозе способствовало увеличению работоспособности животных в тесте «принудительное плавание» (в 2,357 раза ($p < 0,05$) и в 3,179 ($p < 0,05$) раза соответственно).

Таблица 8

Влияние экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской на переносимость крысами гипоксии и мышечных нагрузок

Table 8

The effect of the fatty oil extract from the seeds of *Nigella damascena* L. on rat tolerance of hypoxia and muscle loads

Группа животных	Продолжительность жизни крыс при гипоксии, мин.	КПЭ при гипоксии	Продолжительность плавания крыс, мин.	КПЭ при плавании
Контроль	63,5 ± 3,1	—	16,8 ± 2,3	-
ЭЖМЧД 2,3 мл/кг однокр.	86,8 ± 4,3*	0,367	39,6 ± 4,2*	1,357
ЭЖМЧД 2,3мл/кг курс.	82,2 ± 3,1*	0,294	53,4 ± 4,1 *#	2,178

Примечание: * – достоверная разница ($p < 0,05$) с контрольной группой; # – достоверная разница ($p < 0,05$) с группой «ЭЖМЧД 2,3мл/кг» (однократное введение).

Note: * – significant difference ($p < 0.05$) with the control group; # – significant difference ($p < 0.05$) with the group «EFOND 2.3 ml/kg» (single administration).

Кроме того, применение ЭЖМЧД способствовало увеличению работоспособности животных в тесте «Вращающийся-

ся стержень» (табл.9) на 230% при однократном введении и на 263% при курсовом введении соответственно.

Таблица 9

Влияние экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской на мышечную активность мышей. Тест «Вращающийся стержень»

Table 9

The effect of the extract of fatty oil from the seeds of *Nigella damascena* L. on the muscle activity of mice. Rotating Rod Test

Группа	ЖМЧД 2,3 мл/кг однокр.	ЭЖМЧД 2,3 мл/кг курс.
12,1±0,2	40±0,3	44±2,1
100%	230,58%	263,64%

Примечание: * – достоверная разница ($p < 0,05$) с группами «ЖМЧД 2,4 мл/кг»
Note: * – significant difference ($p < 0.05$) with the groups «FOND 2.4 ml/kg»

Согласно литературным данным и результатам экспериментальных и клинических исследований, средства адаптогенного действия должны сочетать безопасность и большую широту терапевтического действия с одной стороны и высокую фармакологическую активность [17], выражаемую в повышении сопротивляемости организма к большому количеству стрессорирующих факторов экзогенного и эндогенного происхождения (физической, химической и биологической природы) с другой [18]. При этом данные препараты должны обладать сочетанием антигипоксического, актопротекторного и стресспротекторного эффектов [19]. Причем, по степени выраженности этих эффектов можно довольно точно судить об адаптогенном потенциале субстанции. Кроме того, действие адаптогенных средств должно проявляться только на соответствующем патологическом фоне, вызывая при этом минимальные сдвиги гомеостаза [20]. Вышеперечисленные требования стали основанием для проведения нами комплекса экспериментов, позволяющих оценить влияние экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской на устойчивость животных к экстремальным условиям.

Оценка антигипоксических свойств экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской показала, что в условиях нормобарической нормокапнической гипоксии исследуемый объект в дозе 2,3

мл/кг достоверно увеличивал (по отношению к животным без фармакологической поддержки) продолжительность жизни животных в условиях кислородного голодания на 35% после однократного введения субстанции и на 26% при курсовом применении экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской.

Проведенные оценка актопротекторной активности показала, что однократное введение исследуемого экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской в дозе 2,3 мл/кг достоверно повышало работоспособность крыс в 2 раза по сравнению с группой контроля (без фармакологического вмешательства), а при курсовом применении изучаемого объекта продолжительность плавания животных достоверно превышало показатели контроля в 3 раза. Также введение экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской в дозе 2,3 мл/кг стрессированным животным препятствовало инволюции тимуса, достоверно снижая ее выраженность при однократном введении на 35%, и практически полностью нормализовало данный показатель при курсовом применении. Кроме того введение ЭЖМЧД препятствовало развитию язвенного поражения слизистой желудка, достоверно уменьшая количество случаев изъязвления при однократном введении на 60,98% и при курсовом введении на 87,19% по сравнению с контролем

ной группой животных, а также нормализовало гормонально-медиаторный обмен.

Заключение. В ходе исследования установлено, что экстракт жирного масла семян чернушки дамасской обладает противострессорным, адаптогенным и антигипоксическим действием, а также низкой системной токсичностью применения. Также, основываясь на полученных результатах, предполагается низкий токсический потенциал экстракта жирного масла семян чернушки дамасской. Установлена эффективная доза экстракта семян чернушки дамасской равная 2,3 мл/кг.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Петков В. Современная фитотерапия. София: Медицина и физкультура, 1998. 504 с.
2. Kalus U. Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases // *Phytother. Res.* 2003. Vol. 17, N 10. P.1209-1214. DOI: 10.1002 / ptr.1356
3. Каркищенко Н.Н. Альтернативы биомедицины. Том 1. Основы биомедицины и фармакомоделирования. М.: ВПК, 2007. 320 с.
4. Type I interferon-mediated skewing of the serotonin synthesis is associated with severe disease in systemic lupus erythematosus [Electronic] / C. Lood [et al.] // *PLoS One.* 2015. Vol. 10, N 4. P. e0125109. DOI: 10.1371/journal.pone.0125109 URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0125109> (дата посещения: 05.08.2019).
5. Chaudhry H., Fatima N., Ahmad I.Z. Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Potentials of *Nigella sativa* L. Suspension Cultures under Elicitation [Electronic] // *BioMed Research International.* 2015. Vol. 2015. DOI: 10.1155/2015/708691 URL: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/708691/> (дата посещения: 05.08.2019).
6. Anti-diabetic properties of thymoquinone is unassociated with glycogen phosphorylase inhibition / N.M.H. El-Ameen [et al.] // *Pharmacogn J.* 2015. N 7. P. 406-10. DOI: 10.5530 / pj.2015.6.16
7. El-Far A.H. Thymoquinone anticancer discovery: possible mechanisms // *Curr Drug Discov Technol.* 2015, Vol. 12, N 2. P. 80-89.
8. Discrimination of health risk by combined body mass index and waist circumference / C.I. Ardern [et al.] // *Obes. Res.* 2003. Vol. 11, N 1. P. 135-142. DOI: 10.1038/oby.2003.22
9. Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats / A. Al-Ali [et al.] // *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2008. Vol. 20, N 2. P. 25-27.
10. Kokoska L., Havlik J., Valterova I. Comparison of chemical composition and antibacterial activity of *Nigella sativa* seed essential oils obtained by different extraction methods // *Journal of Food Protection.* 2008. Vol. 71, N. 12. P. 2475-2480 DOI: 10.4315 / 0362-028x-71.12.2475
11. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
12. Михайлов П. Медицинская косметика. Пер. с болг. М.: Медицина, 1985. 208 с.
13. Regional postprandial fatty acid metabolism in different obesity phenotypes / Z.K. Guo [et al.] // *Diabetes.* 1999. Vol. 48, N 8. P. 1586-1592. DOI: 10.2337/diabetes.48.8.1586
14. Фармакологическая коррекция утомления / Ю.Г. Бобков [и др.]. М.: Медицина, 1984. 208 с.
15. ABC of heart failure. Acute and chronic management strategies / T. Millane [et al.] // *BMJ.* 2000. Vol. 320, N. 7234. P. 559-563. DOI: 10.1136 / bmj.320.7234.559
16. Чазова И.Е., Мычка В.Б. Метаболический синдром. М.: Медиа Медика, 2004. 166 с.
17. Rybníkář M., Šmejkal K., Žemlička M. *Schisandra chinensis* and its phytotherapeutic applications // *Ceska a Slovenska farmacie: casopis Ceske farmaceuticke spolecnosti a Slovenske farmaceuticke spolecnosti.* 2019. Vol. 68, N. 3, P. 95-118.
18. Prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind comparative pilot study to evaluate the efficacy of *Chlorophytum borivilianum* on physical performance / R.K. Tripathi [et al.] // *Indian J Pharmacol.* 2019. Vol. 51, N 3. P. 150-156. DOI: 10.4103/ijp.IJP_115_18
19. Nutraceutical profile and evidence of alleviation of oxidative stress by *Spirogyra porticalis* (Muell.) Cleve inhabiting the high altitude Trans-Himalayan Region / J. Kumar [et al.] // *Sci Rep.* 2019. Vol. 9, N. 1. P. 4091. DOI: 10.1038/s41598-018-35595-x
20. Herbal supplement attenuation of cardiac fibrosis in rats with CCl4-induced liver cirrhosis / H.-C. Chang [et al.] // *Chinese Journal of*

Physiology. 2014. Vol. 57, N. 1. P. 41-47. DOI: 10.4077/cjp.2014.bab147

References

1. Petkov V. [Modern herbal medicine]. Sofia: Medicine and Physical Education; 1998: 504. Russian.

2. Kalus U. Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. *Phytother. Res.* 2003;17(10):1209-1214. DOI: 10.1002 / ptr.1356

3. Karkishchenko N.N. [Alternatives to biomedicine .Volume 1. Basics of biomedicine and pharmacomodelling]. M.: VPK; 2007: 320. Russian.

4. Lood C, Tydén H, Gullstrand B, et al. Type I interferon-mediated skewing of the serotonin synthesis is associated with severe disease in systemic lupus erythematosus. *PLoS One* [Internet]. 2015 [cited 2019 August 5];10(4):e0125109. DOI: 10.1371/journal.pone.0125109 Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0125109>

5. Chaudhry H, Fatima N, Ahmad IZ. Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Potentials of *Nigella sativa* L. Suspension Cultures under Elicitation. *BioMed Research International* [Internet]. 2015 [cited 2019 August 5];e2015. DOI: 10.1155/2015/708691 Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/708691/>

6. El-Ameen NMH., Taha MME., Abdelwahab SI, et al. Anti-diabetic properties of thymoquinone is unassociated with glycogen phosphorylase inhibition. *Pharmacogn J.* 2015;7:406-10. DOI: 10.5530 / pj.2015.6.16

7. El-Far AH. Thymoquinone anticancer discovery: possible mechanisms. *Curr Drug Discov Technol.* 2015;12(2):80-89.

8. Ardern CI, Katzmarzyk PT, Janssen I, et al. Discrimination of health risk by combined body mass index and waist circumference. *Obes. Res.* 2003;11(1):135-142. DOI: 10.1038/oby.2003.22

9. Al-Ali A, Alkhawajah AA, Randhawa MA, et al. Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2008;20(2):25-27.

10. Kokoska L, Havlik J, Valterova I. Comparison of chemical composition and antibacterial activity of *Nigella sativa* seed essential oils obtained by different extraction methods. *Journal of*

Food Protection. 2008;71(12):2475-2480. DOI: 10.4315 / 0362-028x-71.12.2475

11. Mironov A.N. [Guide for conducting preclinical studies of drugs. Part one]. Moscow: Grif i K; 2012. Russian.

12. Mikhailov P. [Medical cosmetics]. Transl. from Bulg. M.: Medicina; 1985. Russian.

13. Guo ZK, Hensrud DD, Johnson CM, et al. Regional postprandial fatty acid metabolism in different obesity phenotypes *Diabetes.* 1999;48(8):1586-1592. DOI: 10.2337/diabetes.48.8.1586

14. Bobkov YuG, Vinogradov VM, Katkov VF, et al. [Pharmacological correction of fatigue]. M.: Medicina; 1984. Russian.

15. Millane T, Jackson G, Gibbs CR, et al. ABC of heart failure. Acute and chronic management strategies. *BMJ.* 2000;320(7234):559-562. DOI: 10.1136/bmj.320.7234.559

16. Chazova IE, Mychka VB. [Metabolic syndrome]. M.: Media Medica; 2004. Russian.

17. Rybníkár M, Šmejkal K, Žemlička M. *Schisandra chinensis* and its phytotherapeutical applications. *Ceska a Slovenska farmacie: casopis Ceske farmaceuticke spolecnosti a Slovenske farmaceuticke spolecnosti.* 2019;98(3):95-118.

18. Tripathi RK, Deth PD, Bhojne SK, et al. A prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind comparative pilot study to evaluate the efficacy of *Chlorophytum borivilianum* on physical performance. *Indian J Pharmacol.* 2019;51(3):150-156. DOI: 10.4103/ijp.IJP_115_18

19. Kumar J, Khan S, Mandotra SK, et al. Nutraceutical profile and evidence of alleviation of oxidative stress by *Spirogyra porticalis* (Muell.) Cleve inhabiting the high altitude Trans-Himalayan Region. *Sci Rep.* 2019;9(1):4091. DOI: 10.1038/s41598-018-35595-x

20. Chang H-C, Chiu Y-W, Lin Y-M, et al. Herbal supplement attenuation of cardiac fibrosis in rats with CCl4-induced liver cirrhosis. *Chinese Journal of Physiology.* 2014;27(1):41-47. DOI: 10.4077/cjp.2014.bab147

Информация об авторе

Марина Павловна Ефремова, преподаватель кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», E-mail: efremova.marinka26@gmail.com, ORCID: 0000-0001-8713-8982.

Information about the author

Marina P. Efremova, Lecturer in the Department of Pharmacology with a course of clinical pharmacology, Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University, E-mail: efremova.marinka26@gmail.com, ORCID: 0000-0001-8713-8982.

Статья поступила в редакцию 15 июня 2019 г.
Receipt date 2019 June 15.

Статья принята к публикации 25 июля 2019 г.
Accepted for publication 2019 July 25.