

В. Н. Буркова<sup>1</sup>, С. Г. Боев<sup>1</sup>, А. И. Венгеровский<sup>2</sup>, Н. В. Юдина<sup>1</sup>, А. Г. Арбузов<sup>1</sup>**ПРОТИВОГИПОКСИЧЕСКОЕ И ГЕМОСТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТА КРАПИВЫ, ПОЛУЧЕННОГО МЕТОДОМ НАНОТЕХНОЛОГИИ**<sup>1</sup> Институт химии нефти Сибирского отделения РАН, Томск, Россия;<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет, Томск; Россия

При моделях гипобарической и гемической гипоксии у мышей и нарушении кровотока, вызванном ацетатом свинца, экстракт крапивы, полученный из листьев, диспергированных до наночастиц, повышает выживаемость животных, удлиняет время до их гибели, препятствует изъязвлению желудка, увеличивает в крови количество эритроцитов, лейкоцитов, содержание гемоглобина, укорачивает протромбиновое время в большей степени, чем экстракт крапивы, приготовленный из листьев, измельченных до размера 1 мм. Противогипоксическое действие экстракта листьев крапивы, обработанного методом нанотехнологии, выражено в такой же степени как эффект экстракта родиолы розовой, гемостимулирующее влияние — не слабее эффекта железа закисного сульфата.

**Ключевые слова:** экстракт крапивы, противогипоксическое и гемостимулирующее действие.

В комплексную терапию многих заболеваний включают синтетические антигипоксанты и антиоксиданты. Представляет интерес расширить использование в медицинской практике круг этих веществ за счет препаратов растительного происхождения, содержащих витамины, полифенолы и каротиноиды. Эти биологически активные вещества частично локализованы в труднодоступном для экстракции целлюлозно-лигнинном межклеточном матриксе растительных клеток. Для повышения эффективности экстракции рационально использовать метод предварительного нанодиспергирования растений, позволяющий провести разрыхление и частичную деполимеризацию межклеточного вещества за счет ослабления донорно-акцепторных взаимодействий [1].

В настоящей работе представлены сравнительные данные о влиянии на развитие экспериментальной гипоксии и подавление гемопоэза экстрактов крапивы двудомной (*Urtica dioica* L., сем. Urticaceae), полученных из листьев, подвергнутых нанодиспергированию или измельченных до размера 1 мм. Экстракт нанодиспергированных до размера менее 100 нм листьев крапивы содержит в 3,5 – 5 раз больше β-каротина и хлорофилла, чем экстракт листьев крапивы, приготовленный без использования нанотехнологии.

*Материалы и методы*

Сухие экстракты (экстрагент — 40 % этанол) получали из листьев крапивы двудомной, заготовленной в

Таблица 1  
Противогипоксическое действие экстрактов нанодиспергированных и измельченных до миллиметра листьев крапивы

Экспериментальная группа	Доза, мг/кг, * мл/кг	Продолжительность жизни, мин	Число погибших животных, %	Количество язв желудка
Гипобарическая гипоксия				
Контроль		10,4 ± 1,3	90	26,2 ± 2,5
Экстракт нанодиспергированных листьев крапивы	100	21,5 ± 1,7 <sup>1</sup>	60	10,8 ± 1,6 <sup>1</sup>
	250	23,3 ± 1,5 <sup>1</sup>	50	8,5 ± 1,2 <sup>1</sup>
Экстракт листьев крапивы, измельченных до размера 1 мм	100	16,3 ± 1,3 <sup>1,2</sup>	70	17,5 ± 1,9 <sup>1,2</sup>
	250	17,4 ± 1,8 <sup>1,2</sup>	60	14,7 ± 1,3 <sup>1,2</sup>
Экстракт родиолы	0,5*	23,5 ± 1,7 <sup>1,3</sup>	50	8,3 ± 1,4 <sup>1,3</sup>
Гемическая гипоксия				
Контроль		36,4 ± 2,6	80	20,7 ± 1,6
Экстракт нанодиспергированных листьев крапивы	100	68,4 ± 3,4 <sup>1</sup>	50	7,6 ± 1,1 <sup>1</sup>
	250	70,7 ± 3,1 <sup>1</sup>	50	6,8 ± 1,4 <sup>1</sup>
Экстракт листьев крапивы, измельченных до размера 1 мм	100	51,3 ± 2,2 <sup>1,2</sup>	70	13,5 ± 1,4 <sup>1,2</sup>
	250	56,5 ± 2,1 <sup>1,2</sup>	60	12,6 ± 1,4 <sup>1,2</sup>
Экстракт родиолы	0,5*	68,5 ± 3,0 <sup>1,3</sup>	50	6,7 ± 1,2 <sup>1,3</sup>

**Примечание:**  $p < 0,05$ ; <sup>1</sup> — по отношению к контролю, <sup>2</sup> — по отношению к экстракту нанодиспергированных листьев крапивы в соответствующей дозе, <sup>3</sup> — по отношению к экстракту крапивы, приготовленному из листьев, измельченных до размера 1 мм. Приведены средние данные 10 определений.

июне 2007 г. в опытном хозяйстве ООО “Биолит” (Томск) в селе Алтайское (Алтайский край). Перед экстрагированием высушенные листья подвергали нанодиспергированию в мельнице-активаторе АГО-2С (Россия) при 3200 об/мин в течение 5 мин по методике, разработанной ООО “Биолит”, или просеивали через сито с размером отверстий 1 мм. В экстракте нанодиспергированных листьев крапивы содержание каротиноидов в пересчете на  $\beta$ -каротин составляло  $283 \pm 15$  мг %, количество хлорофилла в пересчете на хлорофилл *a* —  $0,054 \pm 0,008$  мкмоль/г; в экстракте листьев крапивы, измельченных до размера 1 мм, содержание этих веществ составляло соответственно  $78 \pm 6$  мг % и  $0,0128 \pm 0,002$  мкмоль/г. В экстрактах крапивы определяли содержание и активность (константа скорости окисления) антиоксидантов кинетическим методом в модельной реакции иницированного окисления кумола при 60 °С в присутствии инициатора [2].

Эксперименты проводили в осенне-зимний период на 130 белых мышах обоего пола массой 20 – 24 г, полученных из клиники лабораторных животных НИИ фармакологии Томского научного центра СО РАМН. Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении, свободном доступе к воде и пище.

Исследования выполняли в соответствии с рекомендациями “Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств” [3].

У мышей моделировали острую гипобарическую и гемическую гипоксию. Для создания разряжения, соответствующего высоте 10500 м, использовали барокамеру “Ока-МТ” (Россия). Регистрировали продолжительность жизни мышей после гипоксического воздействия и число погибших животных в течение 20 мин пребывания в барокамере. У погибших животных рассчитывали количество язв желудка [4].

Экспериментальную гемическую гипоксию вызывали однократным введением в вену нитрита натрия (180 мг/кг). Угнетение гемопоэза вызывали свинца ацетатом, который вводили в водном растворе в вену в суточной дозе 2 мг/кг в течение 3 дней.

Сухие экстракты крапивы в дозах 100 и 250 мг/кг в виде суспензии на 1 % крахмальной слизи вводили в желудок 1 раз в день в течение 10 сут, на моделях гипоксии — последний раз за 2 ч до помещения в барокамеру или введения нитрита натрия, при экспериментальном угнетении кроветворения — одновременно с свинца ацетатом и последующие 7 сут. Контрольные животные получали 1 % крахмальную слизь.

При исследовании противогипоксического действия экстрактов крапивы в качестве препарата сравнения использовали экстракт родиолы розовой жидкий в дозе 0,5 мл/кг (ООО “Камелия”, Россия) [5].

В экспериментах по изучению гемостимулирующего действия эффект экстракта крапивы сравнивали с таковым железа закисного сульфата (ферроградумет, Эббот, США) в дозе 50 мг/кг [6]. На 10 сут мышей декапитировали, в крови определяли содержание эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов и протромбиновое время.

Результаты обрабатывали методом парных сравнений по критерию Вилкоксона — Манна — Уитни, вероятность ошибочного вывода не превышала 5 % ( $p < 0,05$ ).

#### Результаты и их обсуждение

Установлено, что экстракт листьев крапивы с размером частиц  $< 100$  нм оказывает более выраженное противогипоксическое и гемостимулирующее действие, чем экстракт этого растения, приготовленный из листьев, измельченных до размера 1 мм, и по эффективности не уступает экстракту родиолы розовой (психостимулятор-адаптоген с выраженными противогипоксическими свойствами) и железа закисного сульфата (стимулятор эритропоэза при анемии).

Так, при гипобарической гипоксии, при курсовом введении экстрактов нанодиспергированных листьев крапивы и родиолы отмечается большее уменьшение числа мышей, погибших в барокамере в течение 20 мин эксперимента, увеличение продолжительности их жизни, а также снижение количества язв желудка (у погибших животных) чем под влиянием экстракта листьев крапивы, измельченных до размера 1 мм (табл. 1).

Таблица 2

#### Гемостимулирующее действие экстрактов нанодиспергированных и измельченных до миллиразмера листьев крапивы

Экспериментальная группа	Эритроциты, млн/мм <sup>3</sup>	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, тыс./мм <sup>3</sup>	Протромбиновое время, с
Интактные животные	$9,1 \pm 1,2$	$160,4 \pm 5,5$	$12,8 \pm 1,4$	$18,8 \pm 2,1$
Ацетат свинца	$2,3 \pm 0,4^1$	$86,5 \pm 2,4^1$	$4,5 \pm 0,6^1$	$40,3 \pm 1,9^1$
Экстракт нанодиспергированных листьев крапивы, 250 мг/кг	$8,6 \pm 1,1^2$	$149,5 \pm 5,3^2$	$11,7 \pm 1,3^2$	$25,9 \pm 1,2^{1,2}$
Экстракт листьев крапивы, измельченных до размера 1 мм, 250 мг/кг	$5,1 \pm 0,8^{1-3}$	$119,7 \pm 3,8^{1-3}$	$7,6 \pm 0,9^{1-3}$	$30,7 \pm 1,3^{1-3}$
Железа закисного сульфат, 50 мг/кг	$8,5 \pm 1,7^{2,4}$	$143,6 \pm 3,2^{2,4}$	$11,9 \pm 1,5^{2,4}$	$26,1 \pm 1,1^{1,2,4}$

**Примечание:**  $p < 0,05$ ; <sup>1</sup> — по отношению к интактным животным, <sup>2</sup> — по отношению к ацетату свинца, <sup>3</sup> — по отношению к экстракту нанодиспергированных листьев крапивы в соответствующей дозе, <sup>4</sup> — по отношению к экстракту крапивы, приготовленному из листьев, измельченных до размера 1 мм. Приведены средние данные 10 определений.

Аналогичные результаты получены и на модели гемической гипоксии (табл. 1).

На модели угнетения гелопоэза при интоксикации свинца ацетатом экстракт нанодиспергированной крапивы также не уступает железу закисного сульфату и превосходит препарат крапивы, экстрагированный из фрагментов листьев размером 1 мм, по способности ослаблять или устранять вызываемое железом закисного сульфатом снижение в периферической крови количества эритроцитов и содержания в них гемоглобина, числа лейкоцитов и нарушений свертывания крови (табл. 2).

Механизм противогипоксического эффекта препаратов крапивы обусловлен антиоксидантным действием  $\beta$ -каротина и других компонентов этого растения — аскорбиновой кислоты, рутина,  $\alpha$ -токоферола, флавоноидов. Антиоксиданты растений прямо нейтрализуют свободные радикалы, образующиеся при нарушении аэробного окисления в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме клеток, а также потенцирует антиперекисную защиту [7]. Ингибирование перекисного окисления повышает резистентность нейронов и других клеток к гипоксии [6]. Гемостимулирующее действие экстрактов крапивы можно объяснить антиоксидантными свойствами и возможным участием магний-порфиринового комплекса хлорофилла в синтезе гемоглобина [8].

Большой терапевтический эффект экстракта листьев крапивы, полученного нанодиспергированием ис-

ходного сырья, связан с тем, что в результате обработки возрастает содержание  $\beta$ -каротина и других биологически активных веществ, обладающих антиоксидантными свойствами. В экстракте нанодиспергированных листьев крапивы содержание антиоксидантов составляет 2,3 моль/кг, константа скорости окисления — 4,8 л/моль · с; в экстракте, полученном из листьев, измельченных до размера 1 мм, эти показатели равны соответственно 1,3 моль/кг и 1,4 л/моль · с.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Л. К. Алтунина, Л. П. Госсен, Л. Д. Тихонова, Е. Г. Ярмухамедова, *Журн. приклад. химии*, **75**(1), 166 – 167 (2002).
2. И. В. Шилова, С. И. Писарева, Е. А. Краснов и др., *Хим-фарм. журн.*, **40**(11), 39 – 41 (2006).
3. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств*, Медицина, Москва (2005).
4. К. Д. Зеленская, С. Г. Аксиненко, Ю. В. Нестерова, *Растит. рес.*, **41**(2), 122 – 129 (2005).
5. А. С. Саратиков, Е. А. Краснов, *Родиола розовая (золотой корень)*, Изд-во Томского университета, Томск (2004).
6. Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, Г. Н. Зюзьков, *Гипоксия и система крови*, Изд-во Томского университета, Томск (2006).
7. G. Duthie and A. Crozier, *Cur. Opin. Lipidol.*, **11**(1), 43 – 47 (2000).
8. J. Chrubasic, B. Roufogalis, H. Wagner, and S. Chrubasic, *Phyto-medicine*, **14**(6), 423 – 435 (2007).

Поступила 23.09.08

## ANTIHYPOXIC AND HEMOPOIESIS-STIMULATING ACTION OF NETTLE EXTRACT PRODUCED BY NANOTECHNOLOGY

V. N. Burkova<sup>1</sup>, S. G. Boev<sup>1</sup>, A. I. Vengerovskii<sup>2</sup>, N. V. Yudina<sup>1</sup>, and A. G. Arbuzov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Petroleum Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia;

<sup>2</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

On the models of hypobaric and hematic hypoxia and hemopoiesis depression caused by lead acetate in mice, nettle extract produced from leaves crushed to 100 nm particles increases the survival percentage and lifetime, prevents stomach ulceration, raises blood erythrocyte, hemoglobin, and leukocyte content, and decreases prothrombin time to a greater extent than does an analogous extract prepared from the same leaves crushed to 1 mm fragments. The antihypoxic activity of nettle extract with fragments of nanometer size is comparable with the action of *rhodiola rosea* extract; the hemopoiesis-stimulating activity of the nanopreparation is comparable with that of ferrous sulfate.

**Key words:** nettle extract, antihypoxic and hemopoiesis-stimulating activity.