

УДК 615.1:582.738

DOI 10.29039/2413-1725-2023-9-2-173-181

ОЦЕНКА КОЖНО-РАЗДРАЖАЮЩЕГО И СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКТА АСТРАГАЛА ЛИСЬЕГО

Сергалиева М. У., Цибизова А. А., Мурталиева В. Х., Самотруева М. А.

***ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава
России, Астрахань, Россия
E-mail: charlina_astr@mail.ru***

Исследование посвящено изучению кожно-раздражающего и аллергизирующего действия экстракта травы Астрагала лисьего (*Astragalus vulpinus* Willd.), произрастающего в Астраханской области. Исследования проводили на белых беспородных крысах-самцах. Результаты оценки развития воспалительного процесса показали, что кожное нанесение и внутрикожное сенсibilизирующее введение жидкого экстракта травы *Astragalus vulpinus* не вызывает статистически значимых изменений со стороны основных маркеров воспаления, что подтверждает отсутствие раздражающего и сенсibilизирующего действия у исследуемого экстракта. Таким образом, проведенные исследования показали отсутствие кожно-раздражающего и аллергизирующего действия жидкого экстракта травы Астрагала лисьего при кожном и внутрикожном введении, что подтверждает безопасность применения и возможное его использование в качестве лекарственного растительного сырья.

Ключевые слова: Астрагал лисий, экстракт, кожно-раздражающее действие, сенсibilизирующее действие, реакция гиперчувствительности замедленного типа.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время большое внимание уделяется вопросам разработки новых лекарственных средств на основе растительного сырья, что связано с высокой эффективностью фитопрепаратов и, как правило, отсутствием неблагоприятных реакций при их применении [1, 2]. В связи с чем исследование безопасности и фармакологической активности растительного сырья является актуальной задачей [3, 4].

В качестве нового растительного источника лекарственных средств можно рассмотреть Астрагал лисий (*Astragalus vulpinus* Willd.), произрастающий на территории Астраханской области. Проведенные исследования доказали наличие у экстракта травы Астрагала антистрессорного, адаптогенного, психостимулирующего, иммуностропного, регенераторного, антиоксидантного и др. эффектов [5–8]. Разносторонняя фармакологическая активность данного растения определена его уникальным химическим составом. Установлено, что в состав травы входят в большом количестве флавоноиды, сапонины, дубильные вещества, органические и гидроксикоричные кислоты, витамины (аскорбиновая кислота) и др. [9, 10] С целью применения растений для получения фитопрепаратов необходимо провести исследование его безопасности. Экспериментальным изучением острой

токсичности жидкого экстракта Астрагала установлено, что он является малотоксичным и LD₅₀ составляет более 4000 мг/кг [11]. Однако исследований местно-раздражающего и сенсибилизирующего действия Астрагала лисьего не проводилось.

В связи с чем целью работы явилось исследование кожно-раздражающего и аллергизирующего действия экстракта травы Астрагала лисьего.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте исследовали раздражающие и сенсибилизирующие свойства экстракта травы Астрагала лисьего, полученного в соотношении 1:5 путем настаивания измельченного и высушенного сырья на водяной бане при температуре 60 °С в течение 2 часов с последующей отгонкой экстрагента на вакуумном испарителе. В качестве экстрагента использовали водно-спиртовой раствор 60 % концентрации.

Исследования проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 200–220 г. Местно-раздражающее действие оценивали путем накожного нанесения исследуемого экстракта в виде ежедневной аппликации со временем экспозиции 4 часа в течение 3 дней. Предварительно, за сутки до эксперимента, на боковых поверхностях туловища крыс выстригали шерсть площадью 4 см². Наносили экстракт в дозе 0,02 мл на 1 см² поверхности стеклянной палочкой (опытные животные – 6 особей) и дистиллированную воду (контрольные животные – 6 особей). После чего крыс фиксировали на 4 часа в индивидуальных маленьких клетках во избежание слизывания экстракта. Спустя 24 часа после последнего нанесения исследуемого экстракта оценивали состояние кожных покровов: наличие и выраженность эритемы – визуальная оценка; толщину кожной складки (мм) – измерение микрометром (ТКС_{апл} – после аппликации; ТКС_{фон} – до аппликации). Далее рассчитывали индекс местно-раздражающего действия в баллах: выраженность эритематозной реакции: 0 баллов – отсутствие эритемы, 1 балл – слабая реакция (слабо розовая окраска кожных покровов), 2 балла – умеренно выраженная (розово-красная окраска кожных покровов); выраженность отека: 0 баллов – ТКС_{апл} – ТКС_{фон} = 0–0,09; 1 балл – ТКС_{апл} – ТКС_{фон} = 0,1 – 0,39; 3 балла – ТКС_{апл} – ТКС_{фон} = 0,4–0,69 (измерения проводили пятикратно с последующим расчетом среднего значения) [12, 13].

Сенсибилизирующее действие экстракта травы Астрагала лисьего изучали также на крысах-самцах (7 мест), разделенных на две группы (n=10): опытные животные, которым вводили сенсибилизирующую дозу экстракта (1 мг) однократно подкожное введение в основание хвоста; контрольные животные, которым вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. На шестые сутки под апоневроз задней лапки опытных животных вводили повторно экстракт в дозе 5 мг; контрольным животным – физиологический раствор в эквивалентном объеме. О развитии реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ) свидетельствовало наличие разницы в толщине лапы (мм), которую измеряли до и через 24 ч введения экстракта (измерение проводили микрометром). Сравнивали среднегрупповые показатели толщины лап опытных и контрольных животных и

оценивали их в баллах: 0 баллов – до 0,1 мм; 1 балл – 0,11–0,20 мм; 2 балла – 0,21–0,30 мм; 3 балла – 0,31–0,40 мм; 4 балла – 0,41–0,50 мм; 5 баллов – 0,51 мм и более (измерения проводили пятикратно с последующим расчетом среднего значения) [14]. После выведения животных из эксперимента был рассчитан индекс РГЗТ: отношение разницы массы лапки контрольной и опытной к контрольной, выраженное в процентах.

Учитывая тот факт, что наличие кожно-раздражающего и сенсibiliзирующего действия подразумевает развитие воспалительной реакции, для подтверждения полученных результатов и исключения формирования инфламационного процесса было проведено определение общего количества лейкоцитов и процентного соотношения различных их видов, а также скорости оседания эритроцитов и уровня С-реактивного белка (СРБ).

Полученные результаты были статистически обработаны при помощи пакета программы «Statistica 6.0» с учетом U-критерия Манна-Уитни. Различия между группами признавали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты оценки местно-раздражающего действия экстракта травы Астрагала лисьего показаны в таблице 1.

Таблица 1.
Местно-раздражающее действие экстракта травы *Astragalus vulpinus*

Экспериментальные группы	Выраженность эритематозной реакции (баллы)	Выраженность отека, баллы / мм
Контрольные животные – физиологический раствор		
1 особь	0	0 (0,01)
2 особь	0	0 (0,01)
3 особь	0	0 (0,03)
4 особь	0	0 (0,03)
5 особь	0	0 (0,02)
6 особь	0	0 (0,01)
Опытные животные – экстракт травы Астрагала лисьего		
1 особь	0	0 (0,07)
2 особь	0	0 (0,07)
3 особь	1	1 (0,1)
4 особь	0	0 (0,8)
5 особь	0	0 (0,07)
6 особь	0	0 (0,06)

Результаты показали, что у животных в контрольной группе не было установлено наличие эритематозной реакции и отека кожных покровов, тогда как

под воздействием экстракта травы Астрагала лисьего у одной особи отмечалась слабо розовая окраска кожных покровов, что соответствует 1 баллу, и незначительного отека, что проявлялось утолщением кожной складки. При этом у пятерых животных не было отмечено изменений окраски кожи и наличие отека.

Результаты оценки сенсibilизирующего действия экстракта травы Астрагала лисьего показаны в таблице 2.

Таблица 2.
Сенсibilизирующее действие экстракта травы *Astragalus vulpinus*

Экспериментальные группы	Толщина лапки, баллы /мм
Контрольные животные – физиологический раствор	
1 особь	0 (0,05)
2 особь	0 (0,04)
3 особь	0 (0,03)
4 особь	0 (0,04)
5 особь	0 (0,04)
6 особь	0 (0,02)
7 особь	0 (0,03)
8 особь	0 (0,04)
9 особь	0 (0,03)
10 особь	0 (0,02)
Опытные животные – экстракт травы Астрагала лисьего	
1 особь	0 (0,09)
2 особь	0 (0,09)
3 особь	1 (0,10)
4 особь	1(0,10)
5 особь	1 (0,10)
6 особь	0 (0,08)
7 особь	0 (0,08)
8 особь	0 (0,10)
9 особь	1 (0,10)
10 особь	0 (0,09)

Результаты показали, что у животных в контрольной группе не было установлено наличие изменений, свидетельствующих о наличии сенсibilизации, т.е. значительного увеличения размера лапки, что соответствовало 0 баллам. Эти же результаты наблюдались и у 6 особей из группы опытных животных и только у 4 особей отмечалось незначительное увеличение размеров лапки, соответствующее 1 баллу.

С целью оценки статистической значимости была проведена оценка индекса РГЗТ. Было установлено, что в группе контрольных животных данный показатель имел значение $2,94 \pm 0,23$ и в опытной группе – $3,44 \pm 0,49$, т.е. отмечалось

увеличение индекса не более чем на 17 %, что не имело статистической значимости ($p \geq 0,05$).

Результаты оценки развития воспалительного процесса показаны в таблице 3.

Таблица 3.
Оценка воспалительной реакции на фоне воздействия жидкого экстракта травы *Astragalus vulpinus*

Исследуемые показатели	Экспериментальные группы		
	Контрольные животные – физиологический раствор	Опытные животные – экстракт травы Астрагала лисьего (при изучении местно-раздражающего действия)	Опытные животные – экстракт травы Астрагала лисьего (при изучении сенсibilизирующего действия)
Количество лейкоцитов, $\times 10^9$	9,32 \pm 1,08	10,42 \pm 1,86	10,2 \pm 1,85
Эозинофилы, %	2,34 \pm 0,34	2,31 \pm 0,41	2,40 \pm 0,23
Палочкоядерные нейтрофилы, %	4,68 \pm 0,62	4,89 \pm 0,84	5,93 \pm 0,90
Сегментоядерные нейтрофилы, %	38,96 \pm 4,15	37,56 \pm 4,12	38,58 \pm 2,97
Лимфоциты, %	44,37 \pm 5,23	44,41 \pm 4,92	52,50 \pm 4,96
Моноциты, %	0,43 \pm 0,06	0,38 \pm 0,02	0,51 \pm 0,01
СОЭ, мм/час	8,24 \pm 1,0	8,50 \pm 0,76	7,05 \pm 0,84
СРБ, мг/л	3,69 \pm 0,57	4,00 \pm 0,83	3,23 \pm 0,33

Результаты оценки развития воспалительного процесса показали, что нанесение и внутрикожное сенсibilизирующее введение жидкого экстракта травы Астрагала лисьего не вызывает статистически значимых изменений со стороны основных маркеров воспаления, что подтверждает отсутствие раздражающего и сенсibilизирующего действия у исследуемого экстракта.

Результаты данного исследования могут быть подтверждены исследованиями местно-раздражающего и сенсibilизирующего действия других растений. Установлено, что указанные эффекты редко возникают под воздействием экстрактов растений, что вероятно связано с технологическими особенностями их получения и наличием в их составе комплекса биологически активных веществ, а не индивидуальных соединений, оказывающих выраженный биологический эффект, в том числе и неблагоприятный. Однако, наблюдаемые нами изменения у двух особей могут быть связаны с наличием в составе растений рода Астрагал значительного количества терпеноидов, которые обладают наибольшим сенсibilизирующим потенциалом [15, 16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные исследования показали отсутствие кожно-раздражающего и аллергизирующего действия жидкого экстракта травы Астрагала лисьего при накожном и внутрикожном введении, что подтверждает безопасность применения и возможное его использование в качестве лекарственного растительного сырья.

Список литературы

1. Конакова А. В. Перспективы использования фитопрепаратов / А. В. Конакова, К. А. Кушакова // Аллея науки. – 2019. – № 1(9). – С. 194–196.
2. Валли Л. А. Перспективы использования лекарственных растений в современной России / Л. А. Валли // Вестник науки. – 2021. – 1(9). – С. 22–24.
3. Токтоналиев И. У. Место и роль фитопрепаратов в современной медицинской практике / И. У. Токтоналиев // Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. – 2017. – № 7. – С. 108–111.
4. Вагнер Х. Исследование синергии: создание нового поколения фитопрепаратов / Х. Вагнер, Г. Ульрих-Мерцених // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2016. – Т. 24, № 3. – С. 183–189.
5. Du Y. A critical review of Astragalus polysaccharides: from therapeutic mechanisms to pharmaceuticals / Y. Du, H. Wan, P. Huang [et al.] // Biomedicine and Pharmacotherapy. – 2022. – No. 147. – P. 112654. doi: 10.1016/j.biopha.2022.112654.
6. Самотруева М. А. Изучение влияния экстракта *Astragalus vulpinus* на процессы перекисного окисления липидов в гипоталамической области на модели липополисахаридного иммунного стресса / М. А. Самотруева, А. А. Цибизова, М. У. Сергалиева // Сибирский научный медицинский журнал. – 2021. – Т. 41, № 5. – С. 47–52. doi: 10.18699/SSMJ20210506.
7. Хожамбергенова П. Лекарственное значение астаргала (*Astragalus*) / П. Хожамбергенова // Мировая наука. – 2020. – № 12. – С. 317–319.
8. Березуцкий М. А. Фармакологические свойства препаратов, созданных на основе экстракта астрагала (обзор) / М. А. Березуцкий, Л. Р. Якубова, Н. А. Дурнова [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2020. – № 54(4). – С. 20–25. doi: 10.30906/0023-1134-2020-54-4-20-25.
9. Шишмарева Т. М. Химический состав корней *Astragalus propinquus* (Leguminosae), произрастающего в Бурятии / Т. М. Шишмарева, В. М. Шишмарев, Д. Н. Оленников // Химия растительного сырья. – 2022. – № 4. – С. 197–208.
10. Самотруева М. А. Фитохимическая характеристика травы *Astragalus vulpinus* Willd. и психомодулирующая активность экстракта на его основе / М. А. Самотруева, М. В. Мажитова, М. У. Сергалиева [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2021. – Т. 55, № 2. – С. 40–45. doi: 10.30906/0023-1134-2021-55-2-40-45.
11. Сергалиева М. У. Изучение острой токсичности экстракта травы Астрагала лисьего / М. У. Сергалиева, А. А. Цибизова, О. А. Башкина [и др.] // Биомедицина. – 2022. – Т. 18, № 4. – С. 86–93. doi: 10.33647/2074-5982-18-4-86-93.
12. Арисов М. В. Оценка местно-раздражающего действия комплексного инсектоакарицидного препарата «РольфКлуб 3D шампунь» на кожу крыс и слизистые оболочки глаз морских свинок / М. В. Арисов, А. А. Степанов, Г. Б. Арисова // Российский паразитологический журнал. – 2019. – Т. 13, № 1. – С. 47–51. doi: 10.31016/1998-8435-2019-13-1-47-51.
13. Домнина Ю. М. Изучение острой токсичности и раздражающего действия назального спрея налтрексона гидрохлорида / Ю. М. Домнина, В. В. Суслов, С. А. Кедик [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10, № 2. – С. 101–105. doi: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-101-105.
14. Колобов А. А. Доклиническое исследование аллергенности и иммунотоксического действия потенциального лекарственного средства на основе пептидэргического нейро- и стресс-протектора / А. А. Колобов, М. П. Смирнова, Е. А. Кампе-Немм [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 1. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29579> (дата обращения: 04.04.2023).

15. Позднякова Т. А. Изучение тритерпеновых соединений астрагала белостебельного (*Astragalus Albicaulis* DC) / Т. А. Позднякова, Р. А. Бубенчиков // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2016. – Т. 19, № 12. – С. 24–27.
16. Невозинская З. А. Фотофитодерматиты / З. А. Невозинская, Н. Н. Потекаев, И. М. Корсунская [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2014. – Т. 12, № 3. – С. 72–76.

EVALUATION OF THE DERMAL-IRRITANT AND SENSITISING EFFECT OF ASTRAGALUS VULPINUS EXTRACT WILLD

Sergalievа M. U., Tsibizova A. A., Murtalievа V. Kh., Samotruevа M. A.

*Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russian Federation
E-mail: charlina_astr@mail.ru*

At present, much attention is being paid to the development of new herbal medicines due to the high efficacy of herbal medicines and the generally absence of adverse reactions during their use. In this connection research of safety and pharmacological activity of herbal raw materials is the actual task.

Astragalus vulpinus growing in the Astrakhan region can be considered as a new herbal source of medicines. The conducted researches proved the presence of *Astragalus* herb extract with anti-stressor, adaptogenic, psychostimulating, immunotropic, regenerative, antioxidant, etc. effects. For the purpose of application of plants for phytopreparations it is necessary to carry out research of its safety. In this regard, the aim of the work was to study the skin irritant and allergenic effect of *Astragalus vulpinus* herb extract.

We studied irritating and sensitizing properties of *Astragalus vulpinus* herb extract, prepared in 1:5 ratio by insisting the crushed and dried raw material in a water bath at 60 °C for 2 hours followed by distillation of the extractant in a vacuum evaporator. Water-alcoholic solution of 60 % concentration was used as an extractant.

The studies were performed on white male mongrel rats weighing 200–220 g. The local irritant effect was assessed by cutaneous application of the studied extract in the form of daily application with exposure time of 4 hours for 3 days.

The sensitizing effect of *Astragalus vulpinus* herb extract was also studied in male rats divided into two groups (n=10): experimental animals to which a sensitizing dose of the extract (1 mg) was injected intradermally once at the tail base; control animals to which physiological solution in an equivalent volume was injected. On the sixth day, the extract was repeatedly injected under the aponeurosis of the hind paw of the experimental animals in a dose of 5 mg; the control animals were injected with physiological solution in an equivalent volume. After the animals were removed from the experiment, a delayed-type hypersensitivity reaction index was calculated.

Considering the fact that the presence of skin-irritant and sensitizing action implies the development of an inflammatory reaction, the total number of leukocytes and the percentage ratio of their various species, as well as the erythrocyte sedimentation rate and

C-reactive protein level were determined to confirm the results obtained and exclude the formation of an inflammation process.

The results of the inflammatory process evaluation showed that cutaneous application and intradermal sensitizing injection of the *Astragalus vulpinus* liquid herb extract caused no statistically significant changes in the main inflammatory markers, which confirms the absence of irritant and sensitizing effects of the extract under study.

The results of this study can be confirmed by studies of local irritation and sensitization effects of other plants. It was found that the above effects rarely occur under the influence of plant extracts, which is probably due to the technological features of their production and the presence in their composition of a complex of biologically active substances rather than individual compounds with a pronounced biological effect, including adverse effects. However, the changes we observed in two individuals can be associated with the presence of a significant amount of terpenoids, which have the greatest sensitizing potential, in the composition of plants of the genus *Astragalus*.

Thus, the conducted studies showed the absence of skin irritating and allergizing effect of the liquid extract of the herb *Astragalus vulpinus* when applied by skin and intradermal injection, which confirms the safety of its use and its possible use as a medicinal plant raw material.

Keywords: *Astragalus vulpinus*, extract, dermal-irritant effect, sensitising effect, delayed-type hypersensitivity reaction.

References

1. Konakova A. V., Kushakova K. A. Prospects for the use of phytopreparations. *Science Alley*, **1(9)**, 194 (2019).
2. Valli L. A. Prospects for the use of medicinal plants in modern Russia. *Bulletin of Science*, **1(9)**, 22 (2021).
3. Toktonaliev I. Y. The place and role of phytopreparations in modern medical practice. *Science, new technologies and innovations in Kyrgyzstan*, **7**, 108 (2017).
4. Wagner H., Ulrich-Merzenich G. Synergy research: creating a new generation of phytopreparations. *RMJ. Medical Review*, **24(3)**, 183 (2016).
5. Du Y., Wan H., Huang P. [et al.], A critical review of *Astragalus* polysaccharides: from therapeutic mechanisms to pharmaceuticals. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **147**, 112654, (2022). doi: 10.1016/j.biopha.2022.112654.
6. Samotrueva M. A., Tsibizova A. A., Sergaliev M. U. Study of the effect of *Astragalus vulpinus* extract on lipid peroxidation processes in hypothalamic region in the model of lipopolysaccharide immune stress. *Siberian Scientific Medical Journal*, **41(5)**, 47, (2021). doi: 10.18699/SSMJ20210506.
7. Khozhambergenova P. The medicinal value of *Astragalus*. *World Science*, **12**, 317 (2020).
8. Berezutsky M. A., Yakubova L. R., Durnova N. A. [et al.], Pharmacological properties of drugs based on *astragalus* extract (review). *Chemico-pharmaceutical journal*, **54(4)**, 20 (2020). doi: 10.30906/0023-1134-2020-54-4-20-25.
9. Shishmareva T. M., Shishmarev V. M., Olennikov D. N. Chemical composition of the roots of *Astragalus propinquus* (Leguminosae) growing in Buryatia. *Chemistry of plant raw materials*, **4**, 197 (2022).
10. Samotrueva M. A., Mazhitova M. V., Sergaliev M. U. [et al.], Phytochemical characterization of the herb *Astragalus vulpinus* Willd. and psychomodulatory activity of an extract based on it. *Chemico-Pharmaceutical Journal*, **55(2)**, 40 (2021). doi: 10.30906/0023-1134-2021-55-2-40-45.
11. Sergaliev M. U., Tsibizova A. A., Bashkina O. A. [et al.], Study of acute toxicity of *Astragalus fox* herb extract. *Biomedicine*, **18(4)**, 86 (2022). doi: 10.33647/2074-5982-18-4-86-93.
12. Arisov M. V., Stepanov A. A., Arisova G. B. Evaluation of the local irritant effect of the complex insectocarbicide preparation «RolfClub 3D shampoo» on the skin of rats and the mucous membranes of the

- eyes of guinea pigs. *Russian Journal of Parasitology*, **13**(1), 47 (2019). doi: 10.31016/1998-8435-2019-13-1-47-51.
13. Domnina Y. M., Suslov V. V., Kedik S. A. [et al.], Study of acute toxicity and irritant effect of naltrexone hydrochloride nasal spray. *Drug development and registration*, **10**(2), 101 (2021). doi: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-101-105.
 14. Kolobov A. A., Smirnova M. P., Kampe-Nemm E. A. [et al.], Preclinical study of allergenicity and immunotoxic effect of a potential drug based on peptide-ergic neuro- and stress-protector. *Modern problems of science and education*, **1** (2020). URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29579> (circulation date: 04.04.2023).
 15. Pozdnyakova T. A., Bubenchikov R. A. Study of triterpene compounds of *Astragalus albicaulis* DC. *Issues of biological, medical and pharmaceutical chemistry*, **19**(12), 24 (2016).
 16. Nevozinskaya Z. A., Potekaev N. N., Korsunskaya I. M. [et al.], Photophytophthodermatitis. *Clinical dermatology and venereology*, **12**(3), 72 (2014).