

УДК 615.322 : 615.918

DOI 10.29039/2413-1725-2024-10-4-176-181

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЭКСТРАКТА *PARMELIA VAGANS* NYL.

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

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

Статья посвящена изучению острой токсичности экстракта пармелии блуждающей (*Parmelia vagans*). Опыты были проведены на 3-х месячных белых нелинейных крысах-самцах массой 170-180 г. Крысы были распределены по группам по 6 особей: контрольная группа, которая получала интрагастрально однократно воду очищенную, и опытные, которым вводили однократно внутривентрикулярно экстракт *P. vagans* в дозах 100, 500, 1000, 2000 мг/кг массы тела. Изучение острой токсичности экстракта *P. vagans* показало, что он относится к группе умеренно-токсичных веществ и позволила определить LD₅₀ как 2000 мг/кг, что актуализировало дальнейшие исследования химического анализа и биологической активности *P. vagans* с целью изучения механизма токсического воздействия.

Ключевые слова: острая токсичность, лишайники, *Parmelia vagans*, гибель животных, полумлетальная доза.

ВВЕДЕНИЕ

Природные источники издавна использовались в качестве лекарственных средств. На сегодняшний день около 25 % лекарственных препаратов получены на основе природного сырья, растущий интерес к которому обусловлен химическим разнообразием и универсальностью, не сопоставимыми с синтетическими средствами. В качестве сырья для лекарственных препаратов могут быть рассмотрены лишайники, представляющие собой сложные симбиотические ассоциации между микобионтом (грибом) и фотобионтом (водорослью или цианобактерией) [1, 2]. Использование лишайников в медицине основано на их уникальном химическом составе, где основную массу биологически активных веществ составляют фенольные соединения и лишайниковые кислоты (усниновая, эверновая, лобаровая, вульпиновая и др.), что объясняет распространенность применения их в народной медицине в качестве противомикробного, противогрибкового и противовирусного средства [3–5]. Особый интерес представляют Пармелиевые (*Parmeliaceae*) – одно из наиболее изученных и распространенных семейств лишайниковых грибов, насчитывающее более 2500 видов. Исследования показали, что различные виды пармелии, в том числе и широко распространенная пармелия блуждающая (*Parmelia vagans*), обладают широким спектром фармакологического действия, включая, наряду с перечисленными видами активности, противовоспалительную, противоопухолевую,

анальгезирующую, жаропонижающую, цитотоксическую и др. [6–8]. В условиях *in vitro* установлены антиоксидантные свойства некоторых видов Пармелиевых, что связывают с высоким содержанием фенольных соединений. Недавние исследования доказали наличие у представителей лишайников гиполипидемического, гипогликемического, гастропротекторного и кардиопротекторного действия [9]. Вышеупомянутые данные, свидетельствуют о том, что многие лишайники семейства *Parmeliaceae* и их природные соединения представляют особый фармакологический интерес и потенциальную клиническую значимость. Однако, большинство исследований проведены в условиях *in vitro* и достоверных сведений по изучению токсичности и безопасности лишайников недостаточно.

В связи с чем целью данного исследования явилось изучение острой токсичности экстракта *P. vagans*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования выступал экстракт слоевищ *P. vagans*, полученный в соотношении 1:10 методом вихревой экстракции, с последующим удалением экстрагента на ротационном испарителе Hei-VAP Value G3 (Германия), в качестве которого использовали спирт этиловый 90 %.

Опыты были проведены на 3-х месячных белых нелинейных крысах-самцах массой 170–180 г. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с требованиями Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (2010/63/EU), правилами, принятыми «Международной конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986). Крысы были распределены по группам по 6 особей: контрольная группа, которая получала интрагастрально однократно воду очищенную, и опытные, которым вводили однократно внутривентрикулярно экстракт *P. vagans* в дозах 100, 500, 1000, 2000 мг/кг массы тела.

Для изучения картины острой токсичности в течение 14 дней оценивали общее состояние животных, шёрстный покров, аппетит, динамику показания массы тела, изменения в поведении, реакцию на звуковые, световые и тактильные раздражители и гибель животных. Реакция на звуковые раздражители оценивалась путём внезапного резкого стука по клетке, в результате чего обращали внимание на вздрагивание животного; реакция на световой раздражитель – путём освещения глаза фонариком и наблюдением за смыканием век; тактильную чувствительность оценивали путём сжатия прикорневой части хвоста. После завершения эксперимента животных подвергали эвтаназии с соблюдением всех этических норм, после чего анализировались гематологические (общий анализ крови) и макроскопические показатели внутренних органов (головной мозг, сердце, легкие, печень, селезенка, желудок и кишечник), а именно размеры, наличие геморрагий, эрозий.

Статистическую обработку полученных результатов исследования осуществляли с помощью «StatTech» (Россия), используя для оценки различий

непараметрический критерий Манна–Уитни. Уровень статистической значимости различий в группах сравнения оценивали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты позволили определить параметры острой токсичности экстракта пармелии блуждающей. Так, в группе животных, получавших однократно интрагастрально экстракт *P. vagans* в дозах от 100 до 500 мг/кг не было отмечено проявлений токсичности и гибели крыс. Вес животных и гематологические показатели не имели статистически значимых отличий от контрольных значений. При проведении макроскопического анализа внутренних органов (головной мозг, сердце, легкие, печень, селезенка, желудок и кишечник) животных также не было установлено статистически значимых отклонений в сравнении с контролем.

После введения исследуемого экстракта в дозах 1000–2000 мг/кг через 2 ч после введения у крыс отмечалось снижение двигательной активности, общее угнетение нарастало: животные перестали реагировать на звуковые, зрительные и тактильные раздражители. Крысы стали меньше потреблять корм и воду. В группе, получившей 1000 мг/кг экстракта, все наблюдаемые изменения пришли в норму на 3 сутки, аппетит восстановился. В группе, получившей 2000 мг/кг экстракта, изменения сохранялись на протяжении 7-ми дней, аппетит оставался сниженным. К концу 5-х суток у крыс было зафиксировано 4 летальных исхода, что составило более 60 % от численности группы. Патологоанатомическое исследование показало наличие кровоизлияний в головном мозге, легких, печени.

Анализ динамики массы тела показал, что в группе крыс, получивших экстракт в дозе 1000 мг/кг, на 7-е сутки масса тела уменьшилась на 25 % ($p < 0,05$) и на 14-е сутки – на 29 % ($p < 0,05$) по отношению к контрольным значениям, тогда как введение в дозе 2000 мг/кг способствовало снижению массы тела на 7-е сутки на 32 % ($p < 0,05$) и на 14-е сутки на 37 % ($p < 0,05$).

Анализ гематологических изменений показал, что введение экстракта в дозах 1000 и 2000 мг/кг приводит к снижению количества эритроцитов и лейкоцитов на 22 и 17 %, 37 и 31 % ($p < 0,05$), соответственно по сравнению с контрольной группой животных.

При патологоанатомическом вскрытии крыс опытных групп, получавших экстракт в дозах 100 и 500 мг/кг, видимых изменений внутренних органов при макроскопическом анализе не установлено. В группе животных, получавших исследуемый экстракт в дозе 1000 мг/кг установлено увеличение массы селезенки на 24 % ($p < 0,05$) по отношению к контрольным значениям. При введении экстракта в дозе 2000 мг/кг были установлены геморрагические изменения в легких, слизистой оболочке желудка и толстого кишечника, увеличение массы селезенки и печени на 46 % и 39 % ($p < 0,01$) соответственно в сравнении с контролем.

Оценка острой токсичности экстракта *P. vagans* показала, что данный экстракт относится к группе умеренно-токсичных веществ (гигиеническая классификация ядов) и позволила определить полумлетальную дозу (LD_{50}) как 2000 мг/кг.

Полученные результаты свидетельствуют о возможном гемолитическом действии экстракта *P. vagans*, проявлениями которого являются снижение

количества эритроцитов и наличие кровоизлияний, что вероятно связано с наличием в составе лишайников тритерпеновых гликозидов и лишайниковых кислот, которые в большой концентрации способны вызывать цитостатический и гемолитический эффекты [2, 8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изучение острой токсичности экстракта пармелии блуждающей (*P. vagans*) показало, что он относится к группе умеренно-токсичных веществ и позволила определить LD₅₀ как 2000 мг/кг, что актуализировало дальнейшие исследования химического анализа и биологической активности *P. vagans* с целью изучения механизма токсического воздействия.

Список литературы

1. Kosanich M. Secondary metabolites of lichen as potential antibiotic agents / M. Kosanich, B. Rankovich // Secondary metabolites of lichens: biologically active properties and pharmaceutical potential. – 2019. – P. 99–127. doi: 10.1007/978-3-030-16814-8_3.
2. Slusarczyk J. Fungi and algae as sources of medicinal and other biologically active compounds: An overview / J. Slusarczyk, E. Adamska, J. Chervyak-Marcinkowska // Nutrients. – 2021. – Vol. 13, № 9. – pp. 3178. doi: 10.3390/nu13093178.
3. Teplitskaya L. M. The state of research in the field of lichen biotechnology / L. M. Teplitskaya, E. Kiriakidi, E. F. Semenova, M. A. Goncharov // International Scientific Research Journal. – 2021. – Vol. 6-2, № 108. – P. 53–56. doi: 10.23670/IRJ.2021.108.6.043.
4. Kislichenko O. A. HPLC determination of the content of phenolic compounds in the layers of *Parmelia sulcata* and *Parmelia vagans* / O. A. Kislichenko, V. V. Protskaya, I. A. Zhuravel // Pharmacia. – 2019. – Vol. 66, № 4. – P. 161–164. doi: 10.3897/pharmacia.66.e35194.
5. Bondarenko V. Antimicrobial properties of extracts isolated from lichen *Parmelia vagans* / Bondarenko V., Korczynski M., Techahavivat V. // FASEB Journal. – 2017. – № 31. – P. 939–13. doi: 10.1096/fasebj.31.1_supplement.939.13.
6. Bondarenko V. Antiproliferative properties of lichens *Parmelia vagans* and *Parmelia sulcata* / V. Bondarenko, K. Raymond // FASEB Journal. – 2019. – Vol. 33, № S1. – P. 647–3. doi: 10.1096/fasebj.2019.33.1_supplement.647.3.
7. Badmaeva K. E. Investigation of the central mechanisms of the anti-ulcer action of biologically active substances of the lichen *Parmelia vagans* / K. E. Badmaeva // A new word in science and practice: hypotheses and approbation of research results. – 2014. – № 14. – P. 14–18.
8. Шербакова А. И. Биологически активные вещества лишайников / А. И. Шербакова, А. В. Коптина, А. В. Канарский // Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. – 2013. – № 3 (333). – С. 7–16.
9. Gómez-Serranillos M. P. Parmeliaceae family: phytochemistry, pharmacological potential and phylogenetic features / Gómez-Serranillos M. P., Fernández-Moriano C., González-Burgos E. [et al.] // Rsc Advances. – 2014. – Vol. 4, № 103. – P. 59017–59047.

**DETERMINATION OF ACUTE TOXICITY OF *PARMELIA VAGANS* NYL.
EXTRACT**

Sergalieva M. U., Murtalieva V. Kh., Tsibizova A. A.

Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

E-mail: charlina_astr@mail.ru

Natural sources have long been used as medicines, the growing interest in which is due to chemical diversity and versatility, not comparable to synthetic agents. Lichens of the *Parmeliaceae* family can be considered as raw materials for medicinal preparations. The aim is to study the acute toxicity of the extract of *Parmelia vagans*. The object of the study was the extract of *P. vagans* rhizomes obtained at a ratio of 1:10 by vortex extraction, followed by removal of the extractant on a rotary evaporator Hei-VAP Value G3 (Germany), as which 90% ethyl alcohol was used.

Experiments were performed on 3-month-old white non-linear male rats weighing 170-180 g. The rats were distributed into groups of 6 individuals each: control group, which received intragastrically once purified water, and experimental rats, which were administered once intragastrically with *P. vagans* extract at doses of 100, 500, 1000, 2000 mg/kg body weight.

To study the picture of acute toxicity during 14 days, the general condition of animals, hair cover, appetite, dynamics of body weight indication, changes in behaviour, reaction to sound, light and tactile stimuli and death of animals were evaluated. Reaction to sound stimuli was evaluated by a sudden sharp knock on the cage, as a result of which attention was paid to the flinching of the animal; reaction to light stimuli was evaluated by illuminating the eye with a torch and observing eyelid closure; tactile sensitivity was evaluated by compressing the root part of the tail. After completion of the experiment, the animals were euthanised in compliance with all ethical norms, after which haematological (general blood analysis) and macroscopic parameters of internal organs (brain, heart, lungs, liver, spleen, stomach and intestines) were analysed, namely, size, presence of haemorrhages, erosions.

An assessment of the acute toxicity of *P. vagans* extract showed that this extract belongs to the group of moderately toxic substances (hygienic classification of poisons) and allowed determining the half-year dose as 2000 mg/kg. Thus, the study of the acute toxicity of the extract of *P. vagans* showed that it belongs to the group of moderately toxic substances and allowed us to determine LD₅₀ as 2000 mg/kg, which actualized further studies of chemical analysis and biological activity of *P. vagans* in order to study the mechanism of toxic effects.

Keywords: acute toxicity, lichens, *Parmelia vagans*, death of animals, half-year dose.

References

1. Kosanich M., Rankovich B. Secondary metabolites of lichen as potential antibiotic agents. *Secondary metabolites of lichens: biologically active properties and pharmaceutical potential*, 99 (2019). doi: 10.1007/978-3-030-16814-8_3.

2. Slusarczyk J., Adamska E., Chervyak-Marcinkowska J. Fungi and algae as sources of medicinal and other biologically active compounds: An overview. *Nutrients*, **13(9)**, 3178 (2021). doi: 10.3390/nu13093178.
3. Teplitskaya L. M., Kiriakidi E., Semenova E. F., Goncharov M. A. The state of research in the field of lichen biotechnology. *International Scientific Research Journal*, **6-2(108)**, 53 (2021). doi: 10.23670/IRJ.2021.108.6.043.
4. Kislichenko O. A., Protskaya V. V., Zhuravel I. A. HPLC determination of the content of phenolic compounds in the layers of *Parmelia sulcata* and *Parmelia vagans*. *Pharmacia*, **66(4)**, 161 (2019). doi: 10.3897/pharmacia.66.e35194.
5. Bondarenko V., Korczynski M., Techahavivat V. Antimicrobial properties of extracts isolated from lichen *Parmelia vagans*. *FASEB Journal*, **31**, 939 (2017). doi: 10.1096/fasebj.31.1_supplement.939.13.
6. Bondarenko V., Raymond K. Antiproliferative properties of lichens *Parmelia vagans* and *Parmelia sulcata*. *FASEB Journal*, **33(S1)**, 647 (2019). doi: 10.1096/fasebj.2019.33.1_supplement.647.3.
7. Badmaeva K. E. Investigation of the central mechanisms of the anti-ulcer action of biologically active substances of the lichen *Parmelia vagans*. *A new word in science and practice: hypotheses and approbation of research results*, **14**, 14 (2014).
8. Sherbakova A. I., Koptina A. V., Kanarsky A. V. Biologically active substances of lichens. V., Kanarsky A.V. Biologically active substances of lichens. *Izvestiya vysokikh uchebnykh obrazovaniya. Forest journal*, **3(333)**, 7 (2013).
9. Gómez-Serranillos M. P., Fernández-Moriano C., González-Burgos E., Divakar P. K., Crespo A. *Parmeliaceae* family: phytochemistry, pharmacological potential and phylogenetic features. *Rsc Advances*, **4(103)**, 59017 (2014).