

ПРОТИВООПИСТОРХОЗНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ РОДА *ACHILLEA* И РОДА *ARTEMISIA*: РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* И *IN VIVO*

И.П. Каминский, Т.В. Кадырова, В.В. Иванов, А.Г. Осадчий,
А.Г. Мирошниченко, М.В. Белоусов

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ (г. Томск)

Anti-opisthorchiasis activity of the genus *Achillea* and the genus *Artemisia* plants: results of *in vivo* and *in vitro* research

I.P. Kaminskii, T.V. Kadyrova, V.V. Ivanov, A.G. Osadchii, A.G. Miroshnichenko, M.V. Belousov

Siberian State Medical University (Tomsk, Russia)

РЕЗЮМЕ

Проведены скрининговые фармакологические исследования растений рода *Achillea* (тысячелистник: *Achillea millefolium* L. – т. обыкновенный, *Achillea nobilis* L. – т. благородный) и *Artemisia* (полынь: *Artemisia absinthium* L. – п. горькая, *Artemisia vulgaris* L. – п. обыкновенная, *Artemisia gmelinii* Web. ex Stechm. – п. гмелина, *Artemisia dracunculus* L. – п. эстрагон) семейства Asteraceae – Астровые. Подтверждено наличие группы сесквитерпеновых лактонов (как потенциального носителя антигельминтной активности в отношении *Opisthorchis felineus*) во всех изученных растительных объектах. На модели *in vitro* изучена специфическая противоописторхозная активность фракций сесквитерпеновых лактонов растений родов тысячелистник и полынь, выявлены наиболее перспективные объекты. В условиях *in vivo* с использованием золотистых хомяков-самцов подтверждена выраженная противоописторхозная активность тысячелистника обыкновенного и тысячелистника благородного.

Ключевые слова: описторхоз, *Opisthorchis felineus*, *Achillea millefolium*, *Achillea nobilis*, *Artemisia absinthium*, *Artemisia vulgaris*, *Artemisia gmelinii*, *Artemisia dracunculus* сесквитерпеновые лактоны, противоописторхозная активность, модель *in vitro*, модель *in vivo*.

RESUME

Pharmacological screening studies of *Achillea* plants (*A. millefolium*, *A. nobilis*) and *Artemisia* plants (*A. absinthium*, *A. vulgaris*, *A. gmelinii*, *A. dracunculus*) were carried out. The presence of sesquiterpene lactones group (as a potential carrier of anthelmintic activity against *Opisthorchis felineus*) in all studied plant objects was confirmed. *In vitro* the specific antiopisthorchiasis activity of the sesquiterpene lactones fractions from *Achillea* and *Artemisia* plants was studied, leader objects were revealed. Pronounced antiopisthorchiasis activity of *A. millefolium* and *A. nobilis* was confirmed by *in vivo* investigations using golden hamsters-males.

Keywords: opisthorchiasis, *Opisthorchis felineus*, *Achillea millefolium*, *Achillea nobilis*, *Artemisia absinthium*, *Artemisia vulgaris*, *Artemisia gmelinii*, *Artemisia dracunculus*, sesquiterpene lactones, antiopisthorchiasis activity, *in vitro* model, *in vivo* model.

ВВЕДЕНИЕ

Растения семейства Asteraceae являются источником разнообразных биологически активных соединений. Среди них особую значимость имеет группа сесквитерпеновых лактонов, чья эффективность в терапии гельминтных инвазий доказана химико-фармакологическими исследованиями [1]. Актуальность подобных исследований не вызывает сомнений в условиях эндемичности описторхоза на территории

Центральной и Восточной Сибири. Широта распространения данной инвазии, высокая поражаемость населения разных возрастов, значительный экономический ущерб (связанный с увеличением временной нетрудоспособности среди работающего населения и детей), в большинстве случаев необходимость стационарного лечения, заставляют отнести описторхоз к социально-значимым заболеваниям [2]. Главной особенностью развития описторхоза

является то, что патогенез захватывает одну из важнейших систем человеческого организма – гепатобилиарную систему [3]. Описторхозная инвазия часто сопровождается гепатомегалией, холангитом, фиброзом перипортальной системы, холециститом и другими сопутствующими заболеваниями [4]. Кроме того, Международным агентством по изучению рака (IARC) и всемирной организацией здравоохранения (WHO) описторхоз признан канцерогенным фактором, способствующим развитию рака желчных протоков и холангиокарциномы [5].

Существующие клинические протоколы терапии описторхоза предусматривают применение единственного зарегистрированного на территории РФ этиотропного препарата празиквантела. Он характеризуется значительным количеством противопоказаний и побочных эффектов со стороны основных систем организма [6]. Кроме того, случаются перемены в поставке данного препарата на фармацевтический рынок России [7]. В связи с этим, актуален поиск новых более безопасных и доступных для потребителя лекарственных средств для лечения описторхоза, в том числе растительного происхождения.

В этом отношении представляет интерес семейство Asteraceae (сложноцветные), в котором наиболее полно как в химическом, так и в фармакологическом плане изучен василек шероховатый (*Centaurea scabiosa* L.) [8]. Однако имеются сведения, что некоторые представители родов тысячелистник (т. обыкновенный, т. благородный) и полынь (п. горькая, п. обыкновенная, п. гмелина, п. эстрагон) в народной медицине применяются в качестве противопаразитарных средств. По данным литературы, они содержат в химическом составе группу сесквитерпеновых лактонов [9], которые, как известно, проявляют антигельминтную активность в отношении *Opisthorchis felineus* [10, 11].

Данная статья посвящена результатам скрининговых исследований антигельминтной активности т. обыкновенного и т. благородного, полыни горькой, п. обыкновенной, п. гмелина и п. эстрагон в отношении *Opisthorchis felineus*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования: *Achillea millefolium* L. (тысячелистник обыкновенный), *Achillea nobilis* L. (тысячелистник благородный), *Artemisia absinthium* L. (полынь горькая), *Artemisia vulgaris* L. (полынь обыкновенная), *Artemisia gmelinii* Web. ex Stechm. (полынь гмелина), *Artemisia dracuncululus* L. (полынь эстрагонная), семейство Asteraceae.

Надземную часть исследуемых растений собирали в естественных условиях обитания в фазе массового цветения [12] в различных регионах России в течение 2016 года: *A. millefolium*, *A. absinthium*, *A. vulgaris*, *A. gmelinii*, *A. dracuncululus* – в Томской области (окрестности г. Томска); *A. nobilis* – в Республике Башкортостан (окрестности г. Стерлитамак). Растительный материал сушили воздушно-теневым способом и измельчали до размера частиц 2–4 мм.

Фракции сесквитерпеновых лактонов для фармакологических исследований в условиях *in vitro* получали методом К.С. Рыбалко [13]. Для этого измельченную надземную часть исследуемых растений трижды экстрагировали водой очищенной при нагревании до 85–90 °С при соотношении сырье-экстрагент 1:10 (продолжительность каждой экстракции – 60 мин). Полученные извлечения отделяли от сырья фильтрованием и объединяли. Далее из объединенного водного экстракта методом жидкофазной экстракции получали хлороформное извлечение: в делительную воронку помещали 1 часть сконцентрированного водного экстракта и 2 части хлороформа. Экстракцию проводили резкими встряхиваниями делительной воронки. После расслоения получившейся эмульсии хлороформный слой отделяли, фильтровали через бумажный фильтр с безводного натрия сульфатом и экстракцию повторяли дважды. Полученные хлороформные извлечения объединяли, и органический растворитель удаляли в ротационном испарителе при пониженном давлении (температура до 40 °С).

Экстрактивные комплексы исследуемых растений для проведения фармакологических исследований в условиях *in vivo* получали методом бисмацерации [14] с использованием в качестве экстрагентов воды очищенной и 70 % этилового спирта.

Для получения водных экстрактов измельченную надземную часть исследуемых растений трижды экстрагировали водой очищенной при нагревании до 85–90 °С и соотношении сырье-экстрагент 1:10 (продолжительность каждой экстракции – 60 мин). Полученные водные извлечения отделяли от сырья фильтрованием и объединяли. Удаление растворителя из извлечений проводили в ротационном испарителе при пониженном давлении (при температуре 50–60 °С).

Для получения этанольных экстрактов измельченную надземную часть исследуемых растений трижды экстрагировали 70 % этиловым спиртом при нагревании до 78–80 °С и соотношении сырье-экстрагент 1:10 (продол-

Таблица 1

Шкала оценки двигательной активности марит *Opisthorchis felineus*

Оценка двигательной активности марит <i>Opisthorchis felineus</i> , баллы	Интерпретация баллов двигательной активности марит <i>Opisthorchis felineus</i>
3	нормальная двигательная активность
2	редуцированная двигательная активность
1	очень слабая двигательная активность, видимая только при увеличении микроскопа 20х
0	отсутствие двигательной активности или гибель: регистрируется при отсутствии движения в течение 2 минут наблюдения посредством микроскопа 20х

жительность каждой экстракции – 60 мин). Полученные этанольные извлечения отделяли от сырья фильтрованием и объединяли. Удаление растворителя из извлечений проводили в ротационном испарителе при пониженном давлении (при температуре 40–50 °С).

Для обнаружения группы сесквитерпеновых лактонов во фракциях т. обыкновенного и т. благородного, а также полыни горькой, п. обыкновенной, п. гмелина и п. эстрагон использовали метод ИК-спектроскопии. ИК-спектры регистрировали на спектрометре «Nicolet 5700» (INTERTECH Corp., США) в хлороформе.

Воспроизведение модели экспериментального описторхоза *in vitro* осуществляли по общепринятой методике [15]. Для этого из препарированных органов гепатобилиарной системы зараженных описторхозом золотистых хомячков выделяли жизнеспособные мариты *Opisthorchis felineus*. В стерильные чашки Петри диаметром 3,5 см помещали 3 мл среды RPMI 1640, 50 мкг/мл раствора бензилпенициллина натриевой соли, 50 ед/мл раствора стрептомицина, 80 мкг/мл раствора гемина. В каждую чашку Петри с питательной средой, растворами антибиотиков и гемина помещали по пять жизнеспособных марит *Opisthorchis felineus*. Далее в чашки вносили пробы фракций сесквитерпеновых лактонов исследуемых растений в дозах 100, 300 и 600 мкг/мл. Растворы антибиотиков и гемина готовили с использованием физиологического раствора натрия хлорида. Растворы фракций сесквитерпеновых лактонов – на диметилсульфоксиде. В качестве препарата сравнения использовали раствор празиквантела в концентрации 50 мкг/мл (на физиологическом растворе натрия хлорида).

Чашки Петри с пробами инкубировали при 37 °С в атмосфере углекислого газа (5 %). Оценку жизнеспособности марит описторхов проводили через 24, 48 и 72 часа экспозиции по величине их двигательной активности, оцениваемой визуально под микроскопом с двадцатикратным увеличением. При этом отмечали движения ротовой присоски, движения тела

на сгибание/скручивание, а также перистальтику внутренних органов (табл. 1).

Модель экспериментального описторхоза *in vivo* воспроизводили на золотистых хомяках-самцах массой 40–45 г по общепринятой методике [16]. Для этого из зараженной рыбы, преимущественно ельца и плотвы, методом переваривания в искусственном желудочном соке выделяли метацеркарии описторхов *Opisthorchis felineus*. Инвазию животных проводили путем внутрижелудочного введения жизнеспособных метацеркариев в количестве по 50 экз. в 0,5 мл изотонического раствора натрия хлорида. Экспериментальных животных содержали в условиях вивария при естественном световом режиме на стандартной диете при свободном доступе к воде и пище.

На 30-й день инвазии подтверждали факт развития экспериментального описторхоза путем обнаружения в органах гепатобилиарной системы (печень, желчный пузырь) нескольких животных значительного количества марит описторхов *Opisthorchis felineus*.

Противоописторхозное действие сухих экстрактов т. обыкновенного и т. благородного, п. горькой, п. обыкновенной, п. гмелина и п. эстрагон, полученных на 70 % этаноле и воде очищенной, оценивали на 75 зараженных животных, масса которых на 30-й день инвазии возросла до 90–110 г.

Подопытные животные были распределены на 15 групп: группа №1 (интактная) – здоровые животные; группа №2 (контрольная) – животные с описторхозом. Группа №3 – животные больные описторхозом, получавшие препарат сравнения – празиквантел в виде суспензии на 1 % крахмальной слизи в дозе 20 мг/кг массы животного 2 раза в день в течение 1 дня [17].

Группы № 4–5 – животные больные описторхозом, получавшие сухие экстракты тысячелистника обыкновенного на 70 % этаноле и воде очищенной, соответственно.

Группы № 6–7 – животные больные описторхозом, получавшие сухие экстракты ты-

сячелистника благородного на 70 % этаноле и воде очищенной, соответственно.

Группы № 8–9 – животные больные описторхозом, получавшие сухие экстракты полыни горькой на 70 % этаноле и воде очищенной, соответственно.

Группы № 10–11 – животные больные описторхозом, получавшие сухие экстракты полыни обыкновенной на 70 % этаноле и воде очищенной, соответственно.

Группы № 12–13 – животные больные описторхозом, получавшие сухие экстракты полыни гмелина на 70 % этаноле и воде очищенной, соответственно.

Группы № 14–15 – животные больные описторхозом, получавшие сухие экстракты полыни эстрагон на 70 % этаноле и воде очищенной, соответственно.

Указанные экстракты вводили в дозе 2,0 г/кг в виде суспензии на 1 % крахмальной слизи три раза в день в течение пяти дней.

Все исследуемые образцы вводили внутрижелудочно через металлический зонд; латентный период после окончания курсового лечения составил 14 дней. По истечении этого срока животных выводили из эксперимента путем асфиксии углекислым газом, извлекали печень и производили подсчет марит описторхов в органах гепатобилиарной системы (рассчитывали коэффициент интенс-эффективности, являющийся критерием противоописторхозной активности) [16]:

$$ИЭ = \frac{K - O}{K} \times 100\%,$$

где К – среднее число марит *O. felineus* в контрольной группе;

О – среднее число марит описторхов в экспериментальной группе.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из надземной части т. обыкновенного и т. благородного, п. горькой, п. обыкновенной, п. гмелина, п. эстрагон методом К.С. Рыбалко вы-

делены фракции сесквитерпеновых лактонов. Характеристики внешнего вида и выхода фракций представлены в табл. 2.

Методом ИК-спектроскопии подтверждено наличие группы сесквитерпеновых лактонов во фракциях, полученных методом К.С. Рыбалко из изучаемых видов тысячелистника и полыни. Идентификация проводилась по наличию в ИК-спектрах анализируемых фракций характеристических полос поглощения структурных элементов сесквитерпеновых лактонов: γ -лактонного цикла (1780–1760 см^{-1}) и экзоциклической метиленовой группы (1765–1740 см^{-1}) [13].

В условиях *in vitro* исследована антигельминтная активность полученных фракций в отношении изолированных марит *Opisthorchis felineus*. Наибольшую противоописторхозную активность проявила фракция тысячелистника обыкновенного в дозе 300 мкг/мл – в течение 24 часов экспозиции наблюдалось существенное угнетение двигательной активности марит описторхов, а через 72 часа – гибель 100 % описторхов в группе (табл. 3). Менее выраженный антигельминтный эффект проявила фракция сесквитерпеновых лактонов, выделенная из полыни гмелина. В дозе 300 мкг/мл данная фракция вызывает гибель лишь 20 % марит описторхов в группе в течение 72 часов. Фракции сесквитерпеновых лактонов полыни обыкновенной, горькой и эстрагон проявили в экспериментах *in vitro* умеренную противоописторхозную активность в дозе 600 мкг/мл.

В условиях *in vivo* (на модели экспериментального описторхоза, вызванного *Opisthorchis felineus*) исследована антигельминтная активность экстрактов, полученных из надземной части т. обыкновенного и т. благородного, п. горькой, п. обыкновенной, п. гмелина и п. эстрагон. Наибольшей противоописторхозной активностью обладают экстракты тысячелистника обыкновенного, полученные с использованием в качестве экстрагента 70 % этанола

Таблица 2

Характеристики внешнего вида и выхода фракций сесквитерпеновых лактонов, полученных из надземной части т. обыкновенного и т. благородного, п. горькой, п. обыкновенной, п. гмелина, эстрагон

Растительный вид, из которого выделена фракция сесквитерпеновых лактонов	Внешний вид фракции сесквитерпеновых лактонов	Выход фракции сесквитерпеновых лактонов (в пересчете на воздушно-сухое сырье), %
<i>Artemisia absinthium</i> L.	темно-коричневая вязкая масса с характерным запахом	0,72 ± 0,15
<i>Artemisia vulgaris</i> L.		0,53 ± 0,11
<i>Artemisia gmelinii</i> Web. ex Stechm.	коричнево-зеленая вязкая масса с характерным запахом	0,87 ± 0,10
<i>Artemisia dracunculoides</i> L.		0,72 ± 0,19
<i>Achillea millefolium</i> L.	темно-коричневый порошок с характерным запахом	0,62 ± 0,13
<i>Achillea nobilis</i> L.		0,44 ± 0,15

и воды очищенной: коэффициент ИЭ составил $45,29 \pm 8,15 \%$ и $43,58 \pm 2,56 \%$, соответственно (табл. 4). При этом 70 % этанольный экстракт тысячелистника обыкновенного продемонстрировал уровень активности, сопоставимый с препаратом сравнения празиквантелом (ИЭ празиквантела – $58,11 \pm 13,43 \%$). Менее выраженный эффект продемонстрировали 70 % этанольные экстракты полыни обыкновенной и п. горькой (коэффициент ИЭ $24,33 \pm 7,69 \%$ и $24,35 \pm 3,84 \%$, соответственно), сопровождаемый признаками токсического воздействия на экспериментальных животных. Наименьшую противоописторхозную активность в условиях *in vivo* проявили 70 % этанольный экстракт полыни эстрагон (ИЭ = $20,48 \pm 2,58 \%$) и водный экстракт полыни обыкновенной ($20,51 \pm 2,56 \%$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Фракции, выделенные из надземных частей т. обыкновенного и т. благородного, п. горькой, п. обыкновенной, п. гмелина и п. эстрагон методом К.С. Рыбалко, обладают схожими физическими свойствами и характеризуются значениями выхода в пределах 0,5–1,0 % (в пересчете на воздушно-сухое сырье). Анализ указанных фракций методом ИК-спектроскопии подтвердил присутствие в них группы сесквитерпеновых лактонов, на основании чего было сделано предположение о наличии у исследуемых видов противоописторхозной активности в отношении *Opisthorchis felineus*. Данная гипотеза была подтверждена путем проведения фармакологических испытаний в условиях *in vitro* и *in vivo*.

По результатам испытания активности фракций в условиях *in vitro* можно выявить лидерные фракции. Ими являются образцы фракций сесквитерпеновых лактонов т. обыкновенного и т. благородного. Активность этих фракций в дозе 300 мкг/мл сопоставима и существенно превышает активность фракций, полученных из п. горькой, п. обыкновенной, п. гмелина, п. эстрагон и проявляющих, в отличие от фракций тысячелистников, нелетальную для марит описторхов активность, только в двукратно большей дозе и по истечении не менее 72 часов экспозиции.

Разница в активности одной и той же группы биологически активных веществ различных видов тысячелистника и полыни может указывать на то, что разные классы сесквитерпеновых лактонов могут обладать различной величиной антигельминтной активности. Так, по данным литературы, группа сесквитерпеновых лактонов полыней в основном представлена классом гермакранолидов, для которых

Таблица 3

Результаты определения проописторхозной активности фракций сесквитерпеновых лактонов т. обыкновенного и т. благородного, п. горькой, п. обыкновенной, п. гмелина и п. эстрагон в условиях *in vitro*

№	Растительный вид, из которого выделена фракция сесквитерпеновых лактонов	Двигательная активность марит описторхов (в соответствии со шкалой)								
		24 часа			48 часов			72 часа		
Доза, мкг/мл		100	300	600	100	300	600	100	300	600
1	<i>Achillea millefolium</i> L.	3	1	1	3	2	0	3	1	0
		3	1	0	3	1	0	3	0	0
		3	1	0	3	1	0	3	0	0
		3	1	0	3	1	0	3	0	0
	Среднее	2,8	1	0,2	2,6	1,2	0	2,4	0,2	0
2	<i>Achillea nobilis</i> L.	3	2	1	3	1	0	3	1	0
		3	2	1	3	1	0	3	1	0
		3	1	1	3	1	0	3	0	0
		3	1	1	2	1	0	1	0	0
	Среднее	3	1,4	1	2,6	1	0	2,2	0,4	0
3	<i>Artemisia absinthium</i> L.	3	3	1	3	3	1	3	3	1
		3	3	1	3	3	1	3	3	1
		3	2	1	3	3	1	3	3	1
		3	1	1	3	2	1	3	3	1
	Среднее	3	2	1	3	2,6	1	2,6	3	1
4	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	3	3	1	3	3	1	3	3	1
		3	3	1	3	3	1	3	3	1
		3	3	1	3	3	1	3	3	1
		3	2	1	3	2	1	3	2	1
	Среднее	3	2,8	1	3	2,8	1	3	2,8	1
5	<i>Artemisia gmelinii</i> Web. ex Stechm.	3	3	2	3	3	2	3	3	1
		3	3	2	3	3	2	3	3	1
		3	3	2	3	3	2	1	3	1
		3	3	1	3	3	1	1	3	0
	Среднее	3	3	1,6	2,4	3	1,6	1,6	3	0,6
6	<i>Artemisia dracunculus</i> L.	3	3	2	3	3	2	3	3	2
		3	3	2	3	3	2	3	3	1
		3	3	2	3	3	1	3	3	1
		3	3	2	3	3	1	3	3	1
	Среднее	3	3	1,8	3	3	1,4	3	3	1,2
7	Празиквантел (50 мкг/мл)	1			1			1		
		1			1			1		
		1			1			1		
		1			1			1		
	Среднее									
8	Физиологический раствор натрия хлорида 0,9 % (15 мкл)	3			3			3		
		3			3			3		
		3			3			3		
		3			3			3		
	Среднее									
9	ДМСО (15 мкл)	3			3			3		
		3			3			3		
		3			3			3		
		3			3			3		
	Среднее									

Примечание (шкала оценки двигательной активности марит *Opisthorchis felineus*):

3 – нормальная двигательная активность;
2 – редуцированная двигательная активность;
1 – очень слабая двигательная активность, видимая только при увеличении микроскопа 20х;
0 – отсутствие двигательной активности или гибель: регистрируется при отсутствии движения в течение 2 минут наблюдения посредством микроскопа 20х

Результаты исследования противоописторхозной активности экстрактивных комплексов т. обыкновенного и т. благородного, п. горькой, п. обыкновенной, п. гмелина и п. эстрагон в условиях *in vivo*

Экспериментальная группа (исследуемый образец)	Кол-во животных, шт.	Доза, г/кг (схема введения)	ИЭ, %
Группа №1 (интактная – здоровые животные)	5	–	–
Группа №2 (контрольная – животные с описторхозом)	10	–	–
Группа №3 (празиквантел)	5	0,02 г/кг (2 раза в день – 1 день)	58,11 ± 13,43
Группа №4 (70 % этанольный экстракт <i>Achillea millefolium</i>)	5	2,0 г/кг (3 раза в день – 5 дней)	45,29 ± 8,15
Группа №5 (водный экстракт <i>Achillea millefolium</i>)	5	2,0 г/кг (3 раза в день – 5 дней)	43,58 ± 2,56
Группа №6 (70 % этанольный экстракт <i>Achillea nobilis</i>)	5	2,0 г/кг (3 раза в день – 5 дней)	40,07 ± 2,95
Группа №7 (водный экстракт <i>Achillea nobilis</i>)	5	2,0 г/кг (3 раза в день – 5 дней)	39,74 ± 3,85
Группа №8 (70% этанольный экстракт <i>Artemisia absinthium</i>)	5	2,0 г/кг (3 раза в день – 5 дней)	21,35 ± 3,84
Группа №9 (водный экстракт <i>Artemisia absinthium</i>)	5	2,0 г/кг (3 раза в день – 5 дней)	19,07 ± 5,12
Группа №10 (70 % этанольный экстракт <i>Artemisia vulgaris</i>)	5	2,0 г/кг (3 раза в день – 5 дней)	24,33 ± 7,69
Группа №11 (водный экстракт <i>Artemisia vulgaris</i>)	5	2,0 г/кг (3 раза в день – 5 дней)	20,51 ± 2,56
Группа №12 (70 % этанольный экстракт <i>Artemisia Gmelinii</i>)	5	2,0 г/кг (3 раза в день – 5 дней)	21,79 ± 1,28
Группа №13 (водный экстракт <i>Artemisia Gmelinii</i>)	5	2,0 г/кг (3 раза в день – 5 дней)	22,05 ± 4,27
Группа №14 (70 % этанольный экстракт <i>Artemisia dracunculul</i>)	5	2,0 г/кг (3 раза в день – 5 дней)	20,48 ± 2,58
Группа №15 (водный экстракт <i>Artemisia dracunculul</i>)	5	2,0 г/кг (3 раза в день – 5 дней)	19,35 ± 3,84

практически не характерна антигельминтная активность в отношении описторхоза [18, 19]. Группа сесквитерпеновых лактонов тысячелистников по-прежнему исчерпывающе не изучена. Однако, по имеющимся литературным данным, она преимущественно представлена классом гвайанолидов [20, 21], для некоторых представителей которых описана противоописторхозная активность [1, 22].

Для подтверждения результатов фармакологических испытаний, полученных в условиях *in vitro*, были проведены дополнительные скрининговые исследования экстрактивных комплексов изучаемых растительных видов в условиях *in vivo*. Они подтвердили значительную противоописторхозную активность т. обыкновенного и т. благородного. При этом в исследованной дозе (2000 мг/кг) наибольший эффект проявил экстракт надземной части тысячелистника обыкновенного на 70 % этаноле, что с учетом значений относительного отклонения примерно сопоставимо с активностью референтного препарата празиквантела. Необходимо отметить, что сведения о факте наличия у растений рода тысячелистник специфической противоописторхозной активности в отношении *Opisthorchis felineus* ранее не публиковались и получены впервые.

Экстракты из надземных частей п. горькой, п. обыкновенной, п. гмелина, и п. эстрагон, полученные на воде очищенной и 70 % этаноле не проявили в эксперименте *in vivo* выраженной противоописторхозной активности (что соотносится с результатами испытаний *in vitro*). Однако на вторые сутки внутрижелудочного введения образцов экстрактов полыней экс-

периментальным животных (в соответствии с дизайном исследования), начали проявляться признаки острой токсичности, выражающиеся в снижении и нарушении двигательной активности, тремора конечностей, снижении аппетита, тревожного состояния. Следует отметить, что признаков токсического воздействия на экспериментальных животных экстрактами тысячелистника не выявлено, в отличие от экстрактов исследуемых видов полыни.

Сопоставляя результаты данной работы с ранее опубликованными материалами, касающимися оценки противоописторхозной активности другого представителя семейства *Asteraceae* василька шероховатого, и перспектив его использования в качестве сырья для получения противоописторхозного средства [23], можно сделать следующее заключение – василек шероховатый в отличие от полыней обладает более выраженной противоописторхозной активностью, не проявляя токсических эффектов в широком диапазоне терапевтических доз, следовательно обладает более приемлемым соотношением эффективность-безопасность, а в отличие от тысячелистников при сопоставимых показателях специфической активности, имеет более масштабную сырьевую базу, так как он более распространен на территории Западной Сибири и имеет кратно большую биомассу растения.

Таким образом, результаты сравнительных фармакологических испытаний позволяют считать тысячелистник обыкновенный, тысячелистник благородный и василек шероховатый перспективными объектами для изучения с целью создания лекарственных средств для терапии описторхоза.

ВЫВОДЫ

1. В результате экспериментальных исследований в условиях *in vitro* установлены высокие показатели противоописторхозной активности фракций сесквитерпеновых лактонов *Achillea millefolium* и *Achillea nobilis* в дозе 300 мкг/мл, вызывающие гибель всех марит описторхов в группе в течение 72 часов экспозиции.

2. В условиях *in vivo* подтверждена выраженная противоописторхозная активность этанольного и водного экстрактов *Achillea millefolium* и *Achillea nobilis* (ИЭ: 45,29 %; 43,58 %; 40,07 % и 39,74 %, соответственно). Аналогичные экстракты из надземных частей *Artemisia absinthium*, *Artemisia vulgaris*, *Artemisia gmelinii*, *Artemisia dracunculus* в условиях *in vivo* выраженной противоописторхозной активности (на фоне отмеченных токсических эффектов) не продемонстрировали.

3. Впервые экспериментально подтверждены противоописторхозные свойства *Achillea millefolium* и *Achillea nobilis*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Исследование противоописторхозной активности василька шероховатого / И.П. Каминский, Э.В. Сапрыкина, Е.А. Краснов, Т.В. Кадырова [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – №8. – С.20–24.
2. Пустовалова, В.Я. Прогноз эпидемиологической ситуации по описторхозу в связи с демографическими процессами в Сибири / В.Я. Пустовалова // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2005. – №2. – С.30–32.
3. Armignacco, O. Short Report: Cryptic and Asymptomatic *Opisthorchis felineus* Infection / O. Armignacco // The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. – 2013. – Vol. 88. – N 2. – P.364–366.
4. Sithithaworn P. et al. The current status of opisthorchiasis and clonorchiasis in the Mekong Basin // Parasitology International – 2012. – Vol. 61. – Is. 1. – P.10–16.
5. A review of human carcinogens. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer IARC Biological agents. – 2012. – Vol. 100 B. – № 100. – 449 p.
6. Infection with *Opisthorchis felineus* induces intraepithelial neoplasia of the biliary tract in a rodent model / M. Gouveia [et al.] // Carcinogenesis. – 2017. – Vol. 38. – Is. 9. – P.929–937.
7. Информационное письмо Росздравнадзора «О временном перерыве в поставке лекарственного препарата Бильтрицид» [Электронный ресурс]: URL: <http://www.roszdravnadzor.ru/i/upload/images/2019/1/18/1547829888.13694-1-8004.pdf> (дата обращения: 26.10.2019).
8. Противоописторхозные свойства экстрактов из *Centaurea scabiosa* (ASTERACEAE) / И.П. Каминский, Е.А. Краснов, Т.В. Кадырова [и др.] // Растительные ресурсы. – 2010. – №1. – С.106–112.
9. Адекенов, С.М. Перспективы исследования биологически активных веществ растений Казахстана и разработка на их основе оригинальных лекарственных средств / С.М. Адекенов // Новые достижения в создании лекарственных средств растительного происхождения: материалы всероссийской научно-практической конференции – Томск, 2006. – С.24–30.
10. New Drugs from Old Natural Compounds: Scarcely Investigated Sesquiterpenes as New Possible Therapeutic Agents / S. Sut [et al.] // Current Medicinal Chemistry. – 2018 – Vol. 25. – N10. – P.1241–1258.
11. Буданцев, А.Л. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность / А.Л. Буданцев. – М.: Изд-во КМК, 2012. – Т. 3, Ч. 1. – 320 с.
12. Sesquiterpenoids Lactones: Benefits to Plants and People / M. Chadwick [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2013 – Vol. 14. – N 6. – P.12780–12805.
13. Рыбалко, К.С. Природные сесквитерпеновые лактоны / К.С. Рыбалко. – М.: Медицина, 1978. – 320 с.
14. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация / под ред. проф. В.Л. Багировой, проф. В.А. Северцева. – СПб.: СпецЛит. – 2001. – С.88–89
15. In Vivo and In Vitro Sensitivity of *Fasciola hepatica* to triclabendazole Combined with Artesunate, Artemether, or OZ78. / U. Duthaler [et al.] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2010. – N54. – P.4596–4604.
16. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под общ. ред. д-ра мед. наук А.Н. Миронова. Часть первая. – М.: Гриф и К. – 2012. – С.445–453.
17. Бронштейн, М.А. Трематодозы печени: описторхоз, клонорхоз / М.А. Бронштейн, В.И. Лучшев // Русский медицинский журнал – 1998. – Т. 6. – № 3. – С.140–148.
18. Chemical composition of the essential oils of Serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris* / P. Blagojevic [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2006. – N54. – P.4780–4789.
19. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. / L. Daise L. [et al.] // Phytochemistry. – 2008. – N69. – P.1732–1738.
20. Highly hydroxylated guaianolides of *Achillea asiatica* and Middle European *Achillea* species / S. Glasl [et al.] // Phytochemistry. – 2001. – N 58. – P.1189–1194.
21. Composition of *Achillea asiatica* Serg. Essential Oil / O. Motl [et al.] // Flavour and fragrance journal. – 1990. – Vol. 5. – P.153–155.
22. Изучение саусалина и цинаропикрина при экспериментальном описторхозе / А.К. Байбулова, В.Г. Бычков, С.В. Куликова [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2016. – № 3. – С.70–76.
23. Противоописторхозная активность некоторых видов рода Василек (*Centaurea*) флоры Западной Сибири / И.П. Каминский, Т.В. Кадырова, В.В. Иванов [и др.] // Традиционная медицина. – 2019. – №1 (56). – С.18–23.

Адрес автора

Каминский И.П., сотрудник кафедры фармацевтического анализа
medicff@yandex.ru