

О. Є. Ядловський<sup>1</sup>, А. М. Демченко<sup>1</sup>, І. І. Конвалюк<sup>2</sup>,  
Л. П. Можилевська<sup>2</sup>, О. А. Беда<sup>2, 3</sup>, С. М. Ярмолюк<sup>2</sup>, В. А. Кунах<sup>2</sup>

## Дослідження гострої та підгострої токсичності біомаси культури тканин *Rauwolfia serpentina* Benth. – джерела протиаритмічних і гіпотензивних алкалоїдів

<sup>1</sup>Державна установа «Інститут фармакології та токсикології  
Національної академії медичних наук України», м. Київ

<sup>2</sup>Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України, м. Київ

<sup>3</sup>Товариство з обмеженою відповідальністю «Науково-сервісна фірма «ОТАВА», м. Київ

**Ключові слова:** гостра та підгостра  
токсичність, *Rauwolfia serpentina* Benth. ex  
Kurz, культура тканин рослин

Серцево-судинні захворювання є найпоширенішими серед хвороб людини, що зумовлює актуальність створення та виробництва засобів для їхнього лікування, зокрема, антиаритмічних і гіпотензивних препаратів природного походження. Раувольфія зміїна (*Rauwolfia serpentina* Benth. ex Kurz) – тропічна чагарникова рослина, яка накопичує понад 50 різних алкалоїдів (аймалін і його похідні, резерпін, йохімбін, серпентин, раухімбін та ін.), що мають антиаритмічну, гіпотензивну, психотропну дію [1, 2]. Найважливішими з них є: аймалін і його похідні, які характеризуються антиаритмічним ефектом; аймаліцин і резерпін, які здатні знижувати тиск крові та мають седативну дію [3]; йохімбін, який застосовується для посилення потенції та нарощування м'язової маси [4].

В Інституті молекулярної біології і генетики НАН України розроблено альтернативний біотехнологічний метод отримання індольних алкалоїдів з біомаси культури тканин рау-

вольфії зміїної, що суттєво (у 5–7 разів) відрізняється в кращу сторону за вмістом індолинових алкалоїдів від коренів диких рослин [5, 6]. Розробка новітніх технологій одержання дефіцитної екологічно чистої біомаси *Rauwolfia serpentina*, що містить біологічно активні сполуки, дає можливість розглядати її як перспективну рослинну сировину для виробництва лікарських препаратів і біологічно активних добавок [5, 7, 8].

На сучасному етапі розвитку створено значну кількість нових лікарських засобів з антиаритмічною дією. Однак застосування їх у клініці можливе лише після всебічних випробувань та отримання максимально повної інформації про ефективність, безпеку та особливості дії з метою розробки рекомендацій для застосування в подальших клінічних дослідженнях [9]. Згідно з вимогами Державного експертного центру МОЗ України, необхідною умовою комплексу доклінічних досліджень нових лікарських засобів є вивчення їхньої токсичності. При дослідженні токсикологічних характеристик визначення гострої токсичності є етапом для одержання інформації щодо безпечності даного лікарського засобу [9, 10]. Дослідження токсичності при

повторних введеннях дає можливість з'ясувати характер і вираженість можливої шкідливої дії потенційного лікарського засобу, а також впливу на основні анатомічні та фізіологічні системи організму експериментальних тварин. Таким чином, за результатами вивчення токсичності екстракту біомаси культури тканин раувольфії зміїної можна прогнозувати його безпеку та рекомендовані дози для подальшої розробки лікарського засобу на основі біомаси, його клінічних випробувань і медичного застосування.

*Мета дослідження* – вивчити рівень гострої та підгострої токсичності екстракту біомаси високопродуктивної клітинної лінії К-27М *Rauwolfia serpentina*.

**Матеріали та методи.** Отримання клітинної біомаси раувольфії зміїної. Матеріалом для дослідження була біомаса отриманого у відділі генетики клітинних популяцій Інституту молекулярної біології і генетики НАН України та культивованого в умовах *in vitro* високопродуктивного штаму К-27М культури тканин раувольфії зміїної, який накопичує понад 2 % індольних алкалоїдів і понад 3 % суми алкалоїдів. Штам вирощували в термостатованих умовах (27–28 °С) у темряві в скляних банках об'ємом 370 мл, заповнених 50–100 мл

живильного агаризованого середовища 10С, які закривали пластиковими кришками з фільтром (рис. 1). Клітинну біомасу на 65–70 день росту висушували з використанням інфрачервоної сушильної шафи (виробник ТОВ «Авангард СВМ Сервіс», Україна) протягом доби за температури 55 °С і вологості 56,3 % з продувкою повітря через кожні 15 хв протягом 4 хв.

*Приготування екстракту біомаси.* Висушену клітинну біомасу розтирали в порошок у фарфоровій ступці, екстрагували метанолом з 1 краплею водного розчину аміаку (для задавання лужної реакції та гарантії переведення азотовмісних діючих речовин з сольової форми у форму вільної основи, в якій їхня розчинність у метанолі суттєво зростає) з розрахунку 10 мл на 1 г сировини протягом 30 хв з ультразвуковою обробкою. Таку екстракцію повторювали послідовно тричі, об'єднували метанольні екстракти, упарювали у вакуумі досуха в роторному випарювачі та одержаний сухий залишок розчиняли у воді в необхідній концентрації.

Вивчення гострої та підгострої токсичності екстракту біомаси раувольфії зміїної проводили на базі ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України».



Рис. 1. Культура тканин раувольфії зміїної (*Rauwolfia serpentina* Benth.)

*Дослідні тварини.* Дослідження виконували на білих нелінійних мишах (самцях) масою 23–35 г. Тварини знаходилися на стандартному раціоні в стандартних умовах віварію відповідно до санітарно-гігієнічних норм [11]. Усі дослідження проводили згідно з правилами «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986 р.).

*Гостра токсичність.* Гостру токсичність екстракту вивчали шляхом внутрішньошлункового введення розчину, об'єм якого не перевищував 0,5 мл. У ході експерименту спостерігали за станом тварин, термінами загибелі. Результати враховували в альтернативній формі (кількість загиблих тварин) через 14 діб після одноразового введення. Токсичність розраховували за методом В. Б. Прозоровського [10].

Водний розчин екстракту біомаси вводили тваринам в дозах 794, 631, 501, 398, 317, 250 мг/кг. За тваринами спостерігали протягом першої години після введення, через 2, 4, 6, 8, 24 год, а потім один раз на день до 14 дня експерименту. Контроль маси тіла проводили через 3, 7 і 14 днів після введення. На 14 день експерименту тварин піддавали евтаназії шляхом дислокації шийних хребців під легким ефірним наркозом з подальшим візуальним дослідженням стану головного мозку та основних внутрішніх органів: печінки, нирок, шлунка, кишківника, легень, серця, підшлункової залози. Оцінювали відносну масу внутрішніх органів.

*Підгостра токсичність.* Дослідження підгострої токсичності екстракту біомаси проводили на мишах-самцях з використанням системи рандомних номерів.

Тварин відібрали та розділили на 3 групи: тварини групи 1 отримували екстракт у дозі 15 мг/кг, тварини групи 2 – 45 мг/кг внутрішньошлунково у вигляді водного розчину. Тварини групи 3 (контроль) отримували дистильовану воду.

Доза 45 мг/кг відповідала 0,1 LD<sub>50</sub> досліджуваного екстракту біомаси. Доза 15 мг/кг відповідала передбачуваній терапевтичній дозі для людини, яку екстраполювали на мишей згідно з [12], вона становила 0,033 LD<sub>50</sub>. Тваринам контрольної групи вводили розчинник. Індивідуальні дози розраховували в міліграмах для кожної тварини, враховуючи масу її тіла в день введення, і перераховували надалі після кожного зважування (один раз на тиждень) протягом усього терміну введення препарату. Екстракт біомаси вводили одноразово перорально щодня протягом 28 діб натще. Спостереження за тваринами проводили протягом усього періоду досліду. У всіх тварин через 24 год після останнього введення екстракту біомаси збирали кров зі стегнової вени під легким ефірним наркозом у пробірки з калієм ЕДТА (КАВЕ Labortenik). Зразки крові досліджували в день отримання за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора Mythic 22, Швейцарія. Так само кров відбирали у скляні конічні пробірки й виділяли сироватку крові з використанням центрифуги ЦЛК-1. Біохімічні показники сироватки визначали за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора Prestige 24i, Японія (перелік досліджених показників наведено в табл. 1, 2).

Згідно з протоколом дослідження, тварин піддавали евтаназії через 24 год після останнього введення екстракту біомаси, проводили повний зовнішній огляд, розтин і детальне

*Методи, показники й одиниці вимірювання, що використані в гематологічних тестах*

Показник	Метод	Одиниця вимірювання
Гемоглобін	Пряме визначення	г/дл
Еритроцити	Пряме визначення	10 <sup>6</sup> /мл
Лейкоцити	Пряме визначення	10 <sup>3</sup> /мл
Лейкоцитарна формула (нейтрофіли, лімфоцити, еозинофіли, базофіли, моноцити)	Пряме визначення	%
Тромбоцити	Пряме визначення	10 <sup>3</sup> /мл

*Біохімічні показники сироватки крові, методи й одиниці вимірювання*

Показник	Метод	Одиниця вимірювання
Аланінамінотрансфераза	Prestige 24i LQ ALAT	МО/л
Лужна фосфатаза	Prestige 24i LQ ALP	МО/л
Білірубін (загальний)	Prestige 24i LQ BIL TOTAL	мкмоль/л
Тригліцериди	Prestige 24i LQ TG	ммоль/л

макро- та мікроскопічне дослідження внутрішніх органів.

Статистичну обробку отриманих даних проводили методом варіаційної статистики (t-тест) OriginPro 8.0 (originLab Corporation, США), включаючи розрахунки середніх арифметичних значень (M) та їхніх похибок (m). Встановлення ймовірності міжгрупових відмінностей проводили за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента та методу однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA), порівнюючи попарно кожну групу з контролем. Відмінності вважали статистично достовірними в разі  $P < 0,05$  [13].

**Результати та їх обговорення.**  
*Гостра токсичність.* Клінічна картина гострого отруєння в мишей супроводжувалася загальмованістю, грумінгом, підвищенням тону хвоста, посиленням дихання, епізодами агресії. Через 15 хв у тварин відзначали

підвищену активність, судоми, катаlepsію та загибель протягом 1 год після введення дози 501–1000 мг/кг екстракту біомаси культури тканин раувольфії зміїної (табл. 3). У тварин, які отримували дози 250–398 мг/кг екстракту, реєстрували загальмованість, грумінг, тремор протягом 30 хв з подальшим збільшенням рухової активності. Через 2 год тварини поверталися до нормального фізіологічного стану. Застосування екстракту в дозах 126–200 мг/кг викликало незначне збільшення рухової активності протягом 30 хв. За введення доз  $\leq 398$  мг/кг загибель тварин не відбувалась (табл. 3).

Спостереження в наступні дні вказує на птоз у тварин, які отримували екстракт у дозах 398 мг/кг (3 дні) і 317 мг/кг (2 дні), що свідчить про вегетативні симптоми інтоксикації, які зберігалися протягом декількох днів. Надалі тварини були в стані

**Вживання тварин після одноразового внутрішньошлункового введення екстракту біомаси культури тканин *Raiwolfia serpentina***

Доза, мг/кг	Кількість тварин/Загибель
794	2/2
631	2/2
501	2/2
398	2/0
317	2/0
250	2/0

фізіологічної норми. У тварин, які отримували екстракт біомаси в дозах 250 мг/кг і менше, не виявили відхилень від фізіологічної норми.

Відбувалося зменшення маси тіла тварин, які отримували екстракт біомаси в дозі 398 мг/кг на 3 день експерименту та динаміки зростання

маси тіла на 7 і 14 день. Динаміка маси тіла в тварин, які отримували екстракт у дозах  $\leq 317$  мг/кг, була позитивною й недостовірно відрізнялася від контрольної групи (табл. 4).

При огляді та на розтині загиблих тварин відзначено, що шерсть – чиста, видимі слизові – злегка ціанотичні,

Таблиця 4

**Динаміка маси тіла тварин після одноразового внутрішньошлункового введення екстракту біомаси культури клітин *Raiwolfia serpentina***

Доза, мг/кг	Показник	Маса тварин, г			
		Вихідне значення	3-й день	7-й день	14-й день
794	$M \pm m^*$	$31,50 \pm 2,12$	–	–	–
631	$M \pm m$	$27,0 \pm 0$	-	-	-
501	$M \pm m$	$30,0 \pm 0$	-	-	-
398	$M \pm m$	$27,50 \pm 0,70$	$26,0 \pm 0$	$27,50 \pm 0,70$	$28,50 \pm 0,70$
	Відсоток до вихідного значення	–	-5,45	0	3,63
317	$M \pm m$	$28,50 \pm 0,70$	$29,50 \pm 0,70$	$30,0 \pm 1,41$	$31,0 \pm 1,41$
	Відсоток до вихідного значення	–	3,50	5,26	8,77
250	$M \pm m$	$25,0 \pm 0$	$27,0 \pm 1,41$	$27,50 \pm 2,12$	$29,0 \pm 1,41$
	Відсоток до вихідного значення	–	8	10	16
Контроль	$M \pm m$	$23,50 \pm 0,70$	$25,0 \pm 1,41$	$26,50 \pm 0,70$	$29,0 \pm 0$
	Відсоток до вихідного значення	–	6,38	12,76	23,40

Примітка. \*M – середнє арифметичне значення, m – похибка

серце зупинилося в систолі, легені – повнокровні, на розрізі червоного забарвлення, повітряні. Судини черевної порожнини – розширені. Маса внутрішніх органів тварин була в межах фізіологічної норми [14]. Величина LD<sub>50</sub> для досліджуваної біомаси становила (450 ± 35) мг/кг, що дозволяє екстракт біомаси вивченої культури тканин раувольфії зміїної віднести до речовин з помірною токсичністю (III клас) [11].

**Підгостра токсичність.** Протягом перших дев'яти днів введень екстракту відзначено загибель 2 тварин, які отримували екстракт біомаси 45 мг/кг, і 1 миші при використанні 15 мг/кг. Одну тварину, яка отримувала 15 мг/кг, було піддано евтаназії з гуманних міркувань у зв'язку з важкими симптомами інтоксикації (важке здуття живота, прогинання спини та перехід голови в дорсальне положення, симптоми задишки). При розтині тварин виявлено атонію кишківника, найсильніший метеоризм, який полягав у здутті шлунка та верхніх відді-

лів кишківника, підвищене кровонаповнення паренхіматозних органів (нирки, серце, легені та ін.). У зв'язку з цим на 9 день експерименту дослідні дози знизили в два рази: 1 група – з 15 мг/кг до 7,5 мг/кг; 2 група – з 45 мг/кг до 22,5 мг/кг. Надалі летальність тварин не виявляли.

У тварин групи 1 реєстрували зменшення маси тіла з 7 дня експерименту (у тому числі достовірно на 14 і 21 день введень на 14,67 і 16,0 % відповідно) порівняно з вихідними значеннями (табл. 5).

До 28 дня введень екстракту маса тварин дещо збільшувалася й достовірно відрізнялася від вихідних значень. Однак у всі терміни спостереження маса тварин була достовірно нижче такої в контрольній групі, що вказує на негативну динаміку приросту маси тіла. У 4 з 6 тварин до 28 дня введень реєстрували здуття живота різної вираженості, млявість, підвищений тонус хвоста.

У тварин групи 2, які отримували 22,5 мг/кг екстракту біомаси, протягом

Таблиця 5

*Динаміка маси тіла мишей за повторних внутрішньошлункових введень екстракту біомаси Rauwolfia serpentina*

Експериментальна група, показник	Маса тварин, г				
	Вихідне значення	7-й день	14-й день	21-й день	28-й день
Група 1 (M ± m)	25,0 ± 0,40	24,33 ± 0,21	21,33 ± 0,66*. <sup>1</sup>	21,0 ± 0,42*. <sup>1</sup>	23,33 ± 0,29 <sup>1</sup>
Група 1, % зміни до вихідного значення	–	-2,671	-14,67	-16,00	-6,67
Група 2 (M ± m)	23,75 ± 0,39	21,13 ± 0,72*. <sup>1</sup>	21,16 ± 0,52*. <sup>1</sup>	21,33 ± 0,52*. <sup>1</sup>	22,0 ± 0,37 <sup>1</sup>
Група 2, % зміни до вихідного значення	–	-10,97	-10,87	-10,17	-7,36
Контроль (M ± m)	24,5 ± 0,35	26,62 ± 0,33	30,12 ± 0,34*	31,73 ± 0,30*	32,37 ± 0,31
Контроль, % зміни до вихідного значення	–	+8,67	+22,95	+28,06	+32,14

Примітка. \*P ≤ 0,05 порівняно з вихідним значенням, <sup>1</sup>P ≤ 0,05 порівняно з контролем.

усього терміну спостережень показано зменшення маси тіла на більш ніж 10 % (окрім 28 дня введення) порівняно з вихідними значеннями (табл. 5). У всі терміни спостереження середня маса тіла тварин була достовірно нижчою порівняно з контрольною групою, що вказує на негативну динаміку маси тіла. У тварин спостерігали різного ступеня виражене здуття живота (до 28 дня експерименту – у всіх), млявість, зниження рухової активності. У тварин контрольної групи відзначено позитивну динаміку маси тіла від + 8,67 % до + 32,14 % на 7 і 28 день відповідно (табл. 5). Стан тварин був у межах фізіологічної норми.

Гематологічні дослідження крові всіх мишей проводили через одну добу після останнього введення тест-зразка. Результати гематологічних досліджень наведено в таблиці 6.

У крові мишей, яким вводили екстракт біомаси, не відзначено достовірних змін кількості лейкоцитів, еритроцитів і тромбоцитів. При аналізі лейкоцитарної формули крові виявлено значне збільшення відсотка ней-

трофілів (ознака запального процесу) і еозинофілів (може бути ознакою алергізуючої дії) у групі 1, а також збільшення відсотка базофілів у тварин групи 2 [15].

Таким чином, виявлені зміни можуть бути пов'язані зі запальними процесами, що узгоджується з виявленими під час розтину тварин змінами в кишківнику (атонія, метеоризм). Крім того в крові мишей групи 2 порівняно з контролем був достовірно знижений вміст гемоглобіну.

У таблиці 7 наведено дані дослідження біохімічних показників сироватки крові мишей, яким протягом 28 днів внутрішньошлунково вводили тест-зразок екстракту біомаси. Активність лужної фосфатази та вміст тригліцеридів у піддослідних мишей незалежно від дози введеної біомаси не відрізнялися від контрольних значень. У той самий час виявлено певну тенденцію до збільшення рівня загального білірубіну в сироватці крові тварин обох дослідних груп, а також імовірно дозозалежне збільшення активності печінкової

Таблиця 6

*Гематологічні показники венозної крові мишей після повторних внутрішньошлункових введень екстракту біомаси *Rauwolfia serpentina* ( $M \pm m$ )*

Показник	Група		
	контроль (n = 8)	група 1 (n = 6)	група 2 (n = 6)
Лейкоцити, $10^3$ /мл	2,96 ± 0,43	3,0 ± 0,10	3,60 ± 0,87
Лімфоцити, %	78,62 ± 5,54	85,57 ± 0,59	83,97 ± 2,16
Моноцити, %	10,24 ± 3,41	2,0 ± 0,63	4,43 ± 1,51
Нейтрофіли, %	2,60 ± 1,21	8,70 ± 1,17*	3,56 ± 1,07
Еозинофіли, %	0,50 ± 0,32	1,73 ± 0,27*	4,23 ± 1,98
Базофіли, %	0,44 ± 0,44	1,97 ± 0,83	3,80 ± 0,60*
Еритроцити, $10^6$ /мл	8,16 ± 0,21	7,82 ± 0,95	7,27 ± 1,0
Гемоглобін, г/дл	13,76 ± 0,18	11,77 ± 1,54	10,03 ± 1,33*
Тромбоцити, $10^3$ /мл	388,0 ± 17,15	825,67 ± 210,20	463,33 ± 94,42

Примітка. Тут і в табл. 7: \* $p \leq 0,05$  порівняно з контрольною групою.

**Біохімічні показники сироватки крові мишей після повторних внутрішньошлункових введень екстракту біомаси *Rauwolfia serpentina* ( $M \pm m$ )**

Показник	Група		
	контроль (n = 8)	група 1 (n =6)	група 2 (n = 6)
Загальний білірубін, мкмоль/л	3,26 ± 0,55	4,53 ± 40,0	3,81 ± 0,25
Активність лужної фосфатази, МО/л	396,10 ± 22,20	378,85 ± 49,70	469,50 ± 62,80
Активність аланінаміно-трансферази, МО/л	40,25 ± 3,45	59,35 ± 4,01*	67,43 ± 7,73*
Тригліцериди, ммоль/л	1,39 ± 0,18	1,49 ± 0,18	1,15 ± 0,10

аланінамінотрансферази порівняно з контролем, що може бути свідченням негативного впливу тест-зразка на печінку.

Відомо, що розподіл токсичних алкалоїдів в органах людини, які піддаються впливу, має вирішальне значення для клініки інтоксикації [16]. Отримані дані узгоджуються з результатами інших дослідників. Зокрема, при вивченні гострої токсичності метанольного екстракту коренів *Rauwolfia serpentina* (10–250 мг/кг) показано летальну дію доз  $\geq 100$  мг/кг на мишах. При введенні 100, 150, 200, 250 мг/кг екстракту спостерігали седативний ефект та смертність 17 %, 50 %, 83 % і 100 % відповідно протягом 4 год після прийому. Значення середньої летальної дози ( $LD_{50}$ ) *Rauwolfia serpentina* становило 141,25 мг/кг. Дози того самого екстракту від 10 до 60 мг/кг мали гіпоглікемічну активність, відбувалось зниження середнього рівня глюкози в крові з 80 до 62 мг/кг у нормоглікемічних мишей порівняно з контрольною групою протягом 30 хв після прийому [17]. Іншими вченими показано, що внаслідок перорального застосування настоянки *Rauwolfia serpentina* щурам у дозі 4 мл/кг на добу протягом 28 днів, відбувались незначні зміни маси тіла й органів, а

також біохімічних і гематологічних показників порівняно з контролем. Гістопатологічних змін при цьому не виявлено [18].

## Висновки

1. При вивченні гострої токсичності екстракту біомаси культури тканин штаму К-27М раувольфії зміїної (*Rauwolfia serpentina* Benth.) – джерела гіпотензивних і протиаритмічних алкалоїдів, встановлено, що величина  $LD_{50}$  екстракту становить  $(450 \pm 35)$  мг/кг, що свідчить про його помірну токсичність (III клас). Показано, що інтоксикація тварин характеризувалася загальмованістю, грумінгом, тремором протягом 30 хв з подальшим збільшенням рухової активності, птозом. У тварин в агональній стадії спостерігали судоми, каталепсії.
2. При вивченні підгострої токсичності екстракту в дозах 45 і 15 мг/кг спостерігали летальність та/або виражені симптоми інтоксикації (атонія кишківника, виражений метеоризм, виражене кровонаповнення паренхіматозних органів), внаслідок чого зазначені дози знижено в 2 рази – до 22,5 і 7,5 мг/кг відповідно.
3. Показано достовірне збільшення



відсотка нейтрофілів й еозинофілів після введення екстракту в дозі 7,5 мг/кг, а також збільшення відсотка базофілів після введення екстракту в дозі 22,5 мг/кг протягом 28 днів, що може бути пов'язано зі запальними процесами в кишківнику, а також з алергізуючою дією екстракту біомаси культури тканин *Rauwolfia serpentina* в дослі-

джених дозах.

4. Виявлене за повторних уведень дозозалежне збільшення активності печінкової аланінамінотрансферази порівняно з контролем може бути свідченням негативного впливу досліджених доз екстракту біомаси культури тканин *Rauwolfia serpentina* на печінку.

1. Evaluating the therapeutic efficiency and drug targeting ability of alkaloids present in *Rauwolfia serpentina*. M. Singh, R. Kaur, R. Rajput et al. *International Journal of Green Pharmacy*. 2017. V. 11 (3). P. 132–142.
2. Kumar S., Kumari D., Singh B. Genus *Rauwolfia*: a review of its ethnopharmacology, phytochemistry, quality control/quality assurance, pharmacological activities and clinical evidence. *J. Ethnopharmacol.* 2022. Sep 15. V. 295. P. 115327. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115327>.
3. Shamon S. D., Perez M. I. Blood pressure-lowering efficacy of reserpine for primary hypertension. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016. P. CD007655. <https://doi.org/10.1002/14651858>.
4. Wibowo D. N. S. A., Soebadi D. M., Soebadi M. A. Yohimbine as a treatment for erectile dysfunction: a systematic review and meta-analysis. *Turk. J. Urol.* 2021. V. 47 (6). P. 482–488. <https://doi.org/10.5152/tud.2021.21206>.
5. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. Монографія. Київ : Логос, 2005. 730 с.
6. Дослідження вмісту індолних алкалоїдів у клітинній біомасі культури тканин раувольфії зміїної (*Rauwolfia serpentina* Benth. ex Kurz). О. А. Беда, І. І. Конвалюк, Л. П. Можилевська та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Т. 14, № 1 (35). С. 73–78. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.1.226810>.
7. Biotechnological interventions on the genus *Rauwolfia*: recent trends and imminent prospects. E. Mukherjee, S. Gantait, S. Kundu et al. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2019. V. 103. P. 7325–7354. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10035-6>.
8. Biotechnological interventions and indole alkaloid production in *Rauwolfia serpentina*. A. Dey, D. Roy, V. M. Mohture et al. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2022. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12040-8>.
9. СТ-Н МОЗУ 42-7.5:2016 Лікарські засоби. Загальні принципи доклінічних та клінічних досліджень подібних біологічних лікарських засобів, які містять як активну субстанцію білки, отримані за допомогою біотехнології. URL: <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-2/st-n-mozu-42-7-5-2016/>.
10. Прозоровский В. Б. Таблицейный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты. *Токсикол. Вестник*. 1998. № 1. С. 28–32.
11. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації); за ред. О. В. Стефанова. Київ : ВД «Авіцена», 2001. 528 с.
12. Guidance for industry estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. US Department of Health and Human Services FDA and CDER. 2005. 27 p.
13. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистика в науке и бизнесе. Киев : Морион, 2002. 640 с.
14. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария и др. Киев : Вища школа, 1983. 384 с.
15. Markers of inflammation. D. R. Germolec, K. A. Shipkowski, R. P. Frawley et al. *Methods Mol. Biol.* 2018. V. 1803. P. 57–79. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8549-4\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8549-4_5).
16. Biological activities of alkaloids: from toxicology to pharmacology. Z. Adamski, L. L. Blythe, L. Milella et al. *Toxins (Basel)*. 2020. V. 12 (4). P. 210. <https://doi.org/10.3390/toxins12040210>.
17. Azmi M. B., Qureshi S. A. Methanolic root extract of *Rauwolfia serpentina* improves the glucose tolerance in Wistar mice. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2012. V. 20, Iss. 2, Article 2. <https://doi.org/10.6227/jfda.2012200208>.
18. Evaluation of safety profile of homoeopathic mother tinctures. S. Singh, Y. Gupta, P. Kalra et al. *Indian J. Res. Homoeopathy*. 2014. V. 8. P. 81–86. <https://doi.org/10.4103/0974-7168.135640>.

---

**О. Є. Ядловський, А. М. Демченко, І. І. Конвалюк, Л. П. Можилевська,  
О. А. Беда, С. М. Ярмолюк, В. А. Кунах**

**Дослідження гострої та підгострої токсичності біомаси культури тканин  
*Rauwolfia serpentina* Benth. – джерела протиаритмічних і гіпотензивних алкалоїдів**

Раувольфія зміїна (*Rauwolfia serpentina* Benth.) – тропічна чагарникова рослина, яка накопичує понад 50 різних алкалоїдів, що мають антиаритмічну та гіпотензивну дію. Розробка в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України технології одержання біомаси культури тканин *Rauwolfia serpentina* надає можливість розглядати її як перспективну рослинну сировину для виробництва лікарських препаратів і біологічно активних добавок. Однак застосування їх у клініці можливе лише після всебічних випробувань, у першу чергу вивчення гострої та підгострої токсичності.

**Мета дослідження** – вивчити рівень гострої та підгострої токсичності екстракту біомаси високопродуктивної клітинної лінії К-27М *Rauwolfia serpentina*.

Дослідження виконували на білих нелінійних мишах масою 25–35 г. Гостру токсичність екстракту вивчали шляхом внутрішньошлункового введення розчину тваринам, об'єм якого не перевищував 0,5 мл. Результати розраховували за методом В. Б. Прозоровського через 14 діб після одноразового введення. Підгостру токсичність проводили на трьох групах мишей з використанням системи випадкових номерів. Тварини групи 1 і 2 отримували 15 мг/кг та 45 мг/кг екстракту внутрішньошлунково у вигляді водного розчину, тварини групи 3 (контроль) отримували дистильовану воду.

При вивченні гострої токсичності після введення 501–1000 мг/кг екстракту біомаси культури тканин раувольфії зміїної мишам спостерігали підвищену активність, судоми, каталепсію та загибель протягом 1 год. Клінічна картина гострого отруєння супроводжувалася загальмованістю, грумінгом, підвищенням тону хвоста, посиленням дихання, епізодами агресії. У разі введенні доз  $\leq 398$  мг/кг загибелі тварин не відбувалося. У мишей, які отримували 250–398 мг/кг екстракту, реєстрували загальмованість, грумінг, тремор протягом 30 хв з подальшим збільшенням рухової активності. Через 2 год тварини поверталися до нормального фізіологічного стану. У разі застосування екстракту в дозах 250 мг/кг і менше не виявили відхилень від фізіологічної норми.

Оскільки при вивченні підгострої токсичності екстракту спостерігали летальність та/або виражені симптоми інтоксикації (атонія кишківника, метеоризм, кровонаповнення паренхіматозних органів), то згодом дози було знижено в 2 рази: у групі 1 з 15 мг/кг до 7,5 мг/кг; а в групі 2 з 45 мг/кг до 22,5 мг/кг. Надалі летальність тварин не виявляли. У тварин спостерігали зниження середньої маси тіла, виражене здуття живота, млявість, зниження рухової активності. У крові піддослідних мишей не відзначено достовірних змін кількості лейкоцитів, еритроцитів і тромбоцитів, однак виявлено значне збільшення відсотка нейтрофілів і еозинофілів у тварин групи 1 та збільшення відсотка базофілів у тварин групи 2.

Встановлено, що величина  $LD_{50}$  екстракту раувольфії зміїної штаму К-27М становить  $(450 \pm 35)$  мг/кг, що свідчить про його помірну токсичність (III клас). Результати гематологічного дослідження та біохімічних показників сироватки крові мишей можуть свідчити про запальні процеси в кишківнику та алергізуючу дію екстракту у вивчених дозах.

**Ключові слова:** гостра та підгостра токсичність, *Rauwolfia serpentina* Benth. ex Kurz, культура тканин рослин

**О. Е. Ядловский, А. М. Демченко, И. И. Конвалюк, Л. П. Можилевская,  
О. А. Беда, С. М. Ярмолюк, В. А. Кунах**

**Исследование острой и подострой токсичности биомассы культуры тканей  
*Rauwolfia serpentina* Benth. – источника противоритмических и  
гипотензивных алкалоидов**

Раувольфия змеиная (*Rauwolfia serpentina* Benth.) – тропическое кустарниковое растение, которое накапливает более 50 различных алкалоидов, оказывающих антиаритмическое и гипотензивное действие. Разработка в Институте молекулярной биологии и генетики НАН Украины технологии получения биомассы культуры тканей *Rauwolfia serpentina* позволяет рассматривать ее как перспективное растительное сырье для производства лекарственных препаратов и биологически активных добавок. Однако применение их в клинике возможно только после всесторонних испытаний, в первую очередь изучения острой и подострой токсичности.

**Цель исследования** – изучить острую и подострую токсичность экстракта биомассы высокопродуктивной клеточной линии К-27М *Rauwolfia serpentina*.

Исследования выполняли на белых нелинейных мышах массой 25–35 г. Острую токсичность экстракта изучали путем введения животным внутрижелудочно раствора, объем которого не превышал 0,5 мл. Результаты рассчитывали по методу В. Б. Прозоровского через 14 суток после однократного введения. Подострую токсичность изучали на трех группах мышей с использованием системы случайных номеров. Животные группы 1 и 2 получали 15 мг/кг и 45 мг/кг экстракта внутрижелудочно в виде водного раствора, животные группы 3 (контроль) получали дистиллированную воду.

При изучении острой токсичности после введения 501–1000 мг/кг экстракта биомассы культуры тканей раувольфии змеиной мышам наблюдали повышенную активность, судороги, катаlepsию и гибель в течение 1 ч. Клиническая картина острого отравления сопровождалась заторможенностью, грумингом, повышением тонуса хвоста, усилением дыхания, эпизодами агрессии. При введении доз  $\leq 398$  мг/кг гибель животных не происходила. У мышей, получавших 250–398 мг/кг экстракта, регистрировали заторможенность, груминг, тремор в течение 30 мин с последующим увеличением двигательной активности. Через 2 ч животные возвращались в нормальное физиологическое состояние. В случае применения экстракта в дозах 250 мг/кг и менее не выявлено отклонений от физиологической нормы.

Поскольку при изучении подострой токсичности экстракта наблюдали летальность и/или выраженные симптомы интоксикации (атония кишечника, метеоризм, кровенаполнение паренхиматозных органов), в дальнейшем дозы были снижены в 2 раза: в группе 1 с 15 мг/кг до 7,5 мг/кг; а в группе 2 с 45 мг/кг до 22,5 мг/кг. В последствии летальность животных отсутствовала. У животных наблюдали снижение средней массы тела, выраженное вздутие живота, вялость, снижение двигательной активности. В крови испытуемых мышей не отмечено достоверных изменений количества лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов, однако выявлено значительное увеличение процента нейтрофилов и эозинофилов у животных группы 1 и увеличение процента базофилов у животных группы 2.

Установлено, что величина  $LD_{50}$  экстракта раувольфии змеиной штамма K-27M составляет  $(450 \pm 35)$  мг/кг, что указывает на его умеренную токсичность (III класс). Результаты гематологического исследования и биохимических показателей сыворотки крови мышей могут свидетельствовать о воспалительных процессах в кишечнике и аллергизирующем действии экстракта в изученных дозах.

*Ключевые слова:* острая и подострая токсичность, *Rauwolfia serpentina* Benth. ex Kurz, культура тканей растений

**O. Ye. Yadlovskiy, A. M. Demchenko, I. I. Konvalyuk, L. P. Mozhylevska,  
O. A. Bieda, S. M. Yarmoluk, V. A. Kunakh**

### **Acute and subacute toxicity study of biomass of *Rauwolfia serpentina* Benth. tissue culture as a source of antiarrhythmic and hypotensive alkaloids**

*Rauwolfia serpentina* Benth. ex Kurz is a tropical bushy plant that produces more than 50 different alkaloids with antiarrhythmic and hypotensive effect. The new technology for cultivation and production of *Rauwolfia serpentina* tissue culture was successfully developed in the Institute of Molecular Biology and Genetics of the NAS of Ukraine, that allows to regard the *Rauwolfia serpentina* biomass as a prospective raw material for the production of medicines and biologically active substances. However, their use in medicine requires comprehensive trials, first of all the acute and subacute toxicity study of the biomass extracts.

*The aim of the study* – to evaluate an acute and subacute toxicity of the biomass extract of highly productive *Rauwolfia serpentina* K-27M cell line.

White outbred mice with a weight of 18–25 g were used. The acute toxicity was assessed after intragastric administration of the extract in a volume of no more than 0.5 mL. Toxicity was calculated by V. Prozorovski method 14 days after a single administration. To assess the subacute toxicity the mice were randomized into 3 groups. The doses of 15 and 45 mg/kg of the extract were administered to the groups 1 and 2, respectively, while the group 3 (control) was injected with distilled water.

An increased activity of mice, convulsions, catalepsy, and subsequent death over 1 hour period were observed, when 501 to 1000 mg/kg of the extract were administered. When lower doses (250–398 mg/kg) were used, reduced activity, grooming, tail hypertonus, increased breathing rate and aggression were observed, however the doses were not fatal to animals and the normal state was recovered after 2 hours. After the administration of the extract at doses below or equal to 250 mg/kg no negative effects were observed.

Since high mortality and/or significant signs of intoxication (gastrointestinal atony, flatulence, and blood filling of the parenchymal organs) were observed in the subacute toxicity study, the doses were halved, i.e. to 7.5 mg/kg for group 1 and 22.5 mg/kg for group 2. No mortality was observed, however the following symptoms of subacute toxicity were evident: reduced body weight, severe abdominal distension, drowsiness, and decreased motor activity. No significant differences in the counts of white and red blood cells, and platelets were found between all groups of mice. However, a significant increase in the neutrophils and eosinophils counts was found in the group 1; while in the group 2, the basophil count was elevated.

The  $LD_{50}$  value of the extract of biomass of *Rauwolfia serpentina* K-27M cell line was determined to be  $(450 \pm 35)$  mg/kg (toxicity class III – moderate toxicity). The results of biochemistry and haematology tests may indicate the inflammatory processes in the intestine and the allergenic potency of the extract.

*Key words:* acute and subacute toxicity, *Rauwolfia serpentina* Benth. ex Kurz, plant tissue culture

Конфлікт інтересів відсутній.

---

---

*Джерела фінансування.* Дослідження виконано в рамках проекту № 0120U104577 «Розробка засад біотехнологічного виробництва нових гіпотензивних і протиаритмічних алкалоїдів раувольфії зміїної *Rauwolfia serpentina* Benth.» за конкурсом «Наука для безпеки людини та суспільства» Національного фонду досліджень України на 2020–2021 рр.

---

Надійшла: 16 червня 2022 р.

Прийнята до друку: 30 серпня 2022 р.

---

**Контактна особа:** Конвалюк Ірина Іванівна, кандидат біологічних наук, науковий співробітник відділу генетики клітинних популяцій, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, буд. 150, вул. Акад. Заболотного, м. Київ. Тел.: + 38 0 44 526 07 98. Електронна адреса: konvalyuk.i.i@gmail.com