

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-110-119](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-110-119)
УДК 615.89; 615.322



Оригинальная статья / Research article

Изучение хронической токсичности земляники садовой (*Fragaria ananassa*) листьев экстракта сухого

О. В. Яборова✉, А. В. Курицын, В. Д. Белоногова, И. В. Алексеева

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России), 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

✉ Контактное лицо: Яборова Ольга Владимировна. E-mail: olyayaborova@mail.ru

ORCID: О. В. Яборова – <https://orcid.org/0000-0002-9995-2989>; А. В. Курицын – <https://orcid.org/0000-0001-8529-1123>;
В. Д. Белоногова – <https://orcid.org/0000-0001-5193-3976>; И. В. Алексеева – <https://orcid.org/0000-0003-4357-5974>.

Статья поступила: 14.10.2022

Статья принята в печать: 05.12.2022

Статья опубликована: 27.12.2022

Резюме

Введение. Земляники садовой листьев экстракт сухой (земляники экстракт) – одна из потенциальных субстанций для получения безопасных лекарственных средств для лечения заболеваний мочевыводящих путей, так как обладает диуретической и противовоспалительной активностью. Исследование хронической токсичности является обязательной ступенью в доклинической оценке безопасности новой фармакологической субстанции.

Цель. Доклинические исследования хронической токсичности субстанции – земляники экстракта.

Материалы и методы. Объектом исследования служил земляники экстракт, полученный на ОАО «Биохиммаш». Исследование хронической токсичности земляники экстракта при длительном введении крысам выполнено в лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ». Лабораторные животные были разделены на три группы по 15 крыс в каждой: I группа – контроль (вода); II группа – земляники экстракт в дозе 72 мг/кг; III группа – земляники экстракт – 720 мг/кг.

Результаты и обсуждение. В результате 3-месячного эксперимента было установлено, что земляники экстракт при внутрижелудочном введении не вызывает гибель животных и не обладает общетоксическим действием. Также земляники экстракт при внутрижелудочном применении показывает устойчивый диуретический эффект и его сохранение в течение трехмесячного эксперимента.

Заключение. Таким образом, была изучена хроническая токсичность земляники экстракта. Установлено, что земляники экстракт не обладает общетоксическим действием. Проведенное исследование показывает перспективность дальнейших исследований по разработке и получению лекарственных средств с земляники садовой листьев экстрактом сухим, обладающих диуретической и противовоспалительной активностью.

Ключевые слова: земляники садовой листьев экстракт сухой, хроническая токсичность, крысы самцы

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. О. В. Яборова, А. В. Курицын – статистическая обработка данных, сбор и обработка материалов, концепция и дизайн исследования. В. Д. Белоногова, И. В. Алексеева – обзор литературы, написание текста.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2022 год.

Для цитирования: Яборова О. В., Курицын А. В., Белоногова В. Д., Алексеева И. В. Изучение хронической токсичности земляники садовой (*Fragaria ananassa*) листьев экстракта сухого. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4–1):110–119. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-110-119](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-110-119)

Study of Chronic Toxicity of Strawberry Garden (*Fragaria ananassa*) Leaves of Dry Extract

Olga V. Yaborova✉, Aleksey V. Kuritsyn, Valentina D. Belonogova, Irina V. Alekseeva

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2, Poleyaya str., Perm, 614990, Russia

✉ Corresponding author: Olga V. Yaborova. E-mail: olyayaborova@mail.ru

ORCID: Olga V. Yaborova – <https://orcid.org/0000-0002-9995-2989>; Aleksey V. Kuritsyn – <https://orcid.org/0000-0001-8529-1123>;
Valentina D. Belonogova – <https://orcid.org/0000-0001-5193-3976>; Irina V. Alekseeva – <https://orcid.org/0000-0003-4357-5974>.

Received: 14.10.2022

Revised: 05.12.2022

Published: 27.12.2022

Abstract

Introduction. Strawberry garden leaf extract dry (strawberry extract) is one of the potential substances for obtaining safe medicines for the treatment of diseases of the urinary tract, as it has diuretic and anti-inflammatory activity. The study of chronic toxicity is a mandatory step in the preclinical assessment of the safety of a new pharmacological substance.

© Яборова О. В., Курицын А. В., Белоногова В. Д., Алексеева И. В., 2022

© Yaborova O. V., Kuritsyn A. V., Belonogova V. D., Alekseeva I. V., 2022

Aim. Preclinical studies of the chronic toxicity of the substance – strawberry extract.

Materials and methods. The object of the study was strawberry extract obtained at JSC "Biohimash". The study of the chronic toxicity of strawberry extract with prolonged administration to rats was carried out in the Laboratory of Medicinal Toxicology of the All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants in accordance with the "Guidelines for Experimental (Preclinical) Study of new pharmacological Substances" [1]. Laboratory animals were divided into three groups of 15 rats each: group I – control (water); group II – strawberry extract at a dose of 72 mg/kg; group III – strawberry extract – 720 mg/kg.

Results and discussion. As a result of a 3-month experiment, it was found that strawberry extract with intragastric administration does not cause the death of animals and does not have a general toxic effect. Also, strawberry extract with intragastric application shows a stable diuretic effect and its preservation during a three-month experiment.

Conclusion. Thus, the chronic toxicity of strawberry extract was studied. It was found that strawberry extract does not have a general toxic effect. The conducted research shows the prospects for further research on the development and production of medicines from strawberry leaves with dry extract, which have diuretic and anti-inflammatory activity.

Keywords: strawberry garden leaf extract dry, chronic toxicity, male rats

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Olga V. Yaborova, Aleksey V. Kuritsyn – statistical data processing, collection and processing of materials, concept and design of the study. Valentina D. Belonogova, Irina V. Alekseeva — literature review, text writing.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2022.

For citation: Yaborova O. V., Kuritsyn A. V., Belonogova V. D., Alekseeva I. V. Study of chronic toxicity of strawberry garden (*Fragaria ananassa*) leaves of dry extract. *Drug development & registration*. 2022;11(4-1):110-119. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-110-119](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-110-119)

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем медицинской науки и практического здравоохранения является профилактика и лечение заболеваний мочевыводящих путей, которые по распространенности занимают второе место после острых респираторных заболеваний в России. Течение таких заболеваний часто имеет хронический характер и требует длительного применения лекарственных препаратов. В связи с этим, поиск и разработка новых эффективных и безопасных лекарственных средств и субстанций из растительного сырья, обладающих малой токсичностью, является актуальной задачей. Согласно данным литературы, экстракты листьев земляники садовой обладают значительной антиоксидантной активностью [1–4]. D. S. Ibrahim с соавторами на экспериментальной модели диабетической нефропатии показано положительное влияние извлечения данного растения на биохимические показатели крови экспериментальных животных [5]. В опытах *in vitro* подтверждены антимикробные свойства метанольного экстракта листьев земляники садовой [6, 7].

Современные данные свидетельствуют об актуальности доклинического изучения новых растительных субстанций и лекарственных форм на их основе. За последние годы изучена хроническая токсичность липофильных экстрактов беломорских бурых водорослей; капсул, созданных на основе винограда листьев красных экстракта сухого; лекарственного средства, созданного на основе лапчатки белой экстракта сухого, водного экстракта подмаренника настоящего, зюзника европейского экстракта сухого и др. [8–11].

В Пермской государственной фармацевтической академии на кафедре фармакогнозии из сырья ли-

стьев земляники садовой был разработан земляники садовой листьев экстракт сухой (земляники экстракт) [12–14] и получена его опытная серия на ОАО «Биохимаш» в г. Москва. Также была изучена фармакологическая активность экстракта земляники и установлено его диуретическое и противовоспалительное действие [13, 14]. Изучение острой токсичности экстракта земляники садовой листьев сухого показало, что его можно отнести к малотоксичным веществам [13]. В связи с этим актуальными являются исследования по изучению хронической токсичности экстракта в рамках доклинических исследований и обоснования применения субстанции для дальнейшей разработки лекарственных средств на его основе.

Цель исследования: изучение хронической токсичности земляники садовой листьев экстракта сухого.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служил земляники садовой листьев экстракт сухой, полученный на ОАО «Биохимаш». Исследование хронической токсичности земляники экстракта при длительном введении крысам выполнено в лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [1]. В связи с тем, что при исследовании «острой» токсичности крысы самцы были более чувствительны к действию субстанции земляники экстракта, изучение хронической токсичности проводилось на животных одного пола – крысах самцах [13].

Исследования проведены на 45 крысах линии Вистар с первоначальной массой тела 200–220 г. Полученные из питомника филиал «Столбовая» ГУ НЦ БМТ Московской области лабораторные животные, размещались в виварии ВНИИ лекарственных и ароматических растений и содержались в соответствии с принятыми санитарными нормами (свободный доступ к воде, гранулированный корм, нормальный температурный и световой режим). Все животные прошли двухнедельный карантин в условиях вивария. Крысы перед началом хронического опыта были здоровы [15].

Подбор животных в группы осуществляли методом случайных чисел, используя в качестве критерия массу тела так, чтобы начальная средняя масса тела не более, чем на 10 % различалась в каждой группе. Лабораторные животные были разделены на три группы по 15 крыс в каждой: I группа – контроль (вода), II группа – земляники экстракт сухой в дозе 72 мг/кг; III группа – земляники экстракт сухой 720 мг/кг. Максимальная из испытанных доз экстракта равнялась $\approx 1/10$ от LD_{50} для крыс при внутрижелудочном способе введения.

Земляники экстракт вводили животным внутрижелудочно зондом в виде 2–10 % водных растворов, приготовленных непосредственно перед введением, в объеме 1,5–5,0 мл на крысу, один раз в сутки, в течение 3 месяцев. Во время эксперимента у крыс отмечали общее состояние, двигательную активность, аппетит, динамику массы тела, состояние шерстяного покрова, реакцию на внешние раздражители. Через 1 и 3 месяца после начала введения экстракта у животных проводили исследование гематологических показателей периферической крови: общее количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, содержание гемоглобина, гематокрит, среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация гемоглобина в эритроците, средний объем эритроцитов, ширина распределения эритроцитов по объему, гемограмм [16]; биохимических показателей сыворотки крови: общий белок, альбумины, общий холестерин, общий билирубин, мочевины, глюкоза, креатинин, а также активность некоторых ферментов сыворотки крови: щелочная фосфатаза, аланин- и аспартаттрансаминазы [17].

Кровь для исследований брали из хвостовой вены в объеме 1,0–1,5 мл.

Гематологические показатели периферической крови животных определяли на полуавтоматическом гематологическом анализаторе Hema-screen 13 фирмы Hospitex Diagnostics S. A. (Италия), гемограммы – на окрашенных по Романовскому – Гимзе мазках крови. Биохимические показатели и активность ферментов сыворотки крови определяли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе крови Screen master Techno фирмы Hospitex Diagnostics S. A. при помощи наборов фирмы Human (Германия).

В конце 1-го и 3-го месяцев для определения состояния сердечно-сосудистой системы крыс на

электрокардиографе Heart Mirror (INNOMED MEDICAL Zrt., Венгрия) снимали электрокардиограммы во II стандартном отведении. О функции почек крыс судили по результатам диуреза в условиях 3 % водной нагрузки, а центральной нервной системы – по тестам поведенческих и ориентировочных реакций в условиях «открытого поля». Эти исследования также проводили через 1 и 3 месяца эксперимента [17].

После 3-месячного введения экстракта животных подвергали эвтаназии в CO_2 камере. У них определяли коэффициенты массы и проводили патогистологическое исследование внутренних органов (срезы окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали световой микроскопией) [18]. Патогистологические исследования проведены в Институте морфологии человека РАМН под руководством член-корр. РАЕН, профессора А.П. Милованова. Все цифровые данные, полученные в эксперименте, обрабатывали методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что, при внутрижелудочном введении земляники экстракта в испытанных дозах 72 мг/кг и 720 мг/кг, не зарегистрировано изменений основных интегральных показателей: крысы имели опрятный внешний вид, нормально реагировали на внешние раздражители, суточное потребление сухого корма и воды во всех группах животных соответствовало норме. Однако необходимо отметить, что в течение всего хронического эксперимента под действием земляники экстракта в обеих испытанных дозах наблюдалось некоторое замедление прибавки массы тела у животных по сравнению с контролем (таблица 1).

Во время эксперимента ни в одной из групп животных не отмечено гибели.

Введение в желудок крысам в течение 3 месяцев земляники экстракта в испытанных дозах не вызвало статистически значимых изменений гематологических показателей периферической крови: количества эритроцитов, среднего объема эритроцитов, ширины распределения эритроцитов по объему, содержания гемоглобина, среднего содержания и концентрации гемоглобина в эритроците, лейкоцитов, тромбоцитов. У животных III группы наблюдали статистически достоверное увеличение гематокрита на 1-м и 3-м месяцах исследования по сравнению с контролем (таблица 2).

При подсчете гемограмм количество различных форменных элементов крови экспериментальных животных – лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов в опытных и в контрольной группах существенно не различалось. В мазках крови не было обнаружено каких-либо патологически измененных клеток (по форме, величине, наличию патологических включений, восприятию краски (таблица 3).

Таблица 1. Динамика массы тела крыс, получавших внутрижелудочно земляники садовой листьев экстракт сухой в хроническом эксперименте

Table 1. Dynamics of body weight of rats receiving intragastric strawberry garden leaf extract dry in a chronic experiment

Периоды наблюдения, недели Observation periods, weeks	Группы животных Animal groups		
	I. Контроль, вода I. Control, water	II. Земляники экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg	III. Земляники экстракт, 720 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg
2	127,4 ± 4,4	119,4 ± 4,1	117,9 ± 4,3
4	138,2 ± 5,1	128,7 ± 4,5	132,4 ± 6,9
6	144,0 ± 3,2	136,2 ± 4,8	137,1 ± 5,5
8	158,6 ± 4,6	144,8 ± 4,4	143,9 ± 5,0
10	164,2 ± 4,7	153,6 ± 5,1	148,4 ± 4,6
12	172,5 ± 5,6	156,8 ± 5,0	151,4 ± 4,9

Таблица 2. Показатели периферической крови крыс, получавших внутрижелудочно земляники садовой листьев экстракт сухой в хроническом эксперименте

Table 2. Indicators of peripheral blood of rats receiving intragastric strawberry garden leaf extract dry in a chronic experiment

№№ животных №№ Animals	Эритроциты, $\times 10^{12}/л$ Erythr., $\times 10^{12}/l$	Средн. объем эритроц., mm^3 Average. volume of erythr., mm^3	Ширина распр. эритроц. по объему, % The width of the distribution. erythr. by volume, %	Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/l	Среднее содерж. Hb в эритроц., г/дл Average content. Hb in erythr., g/dl	Средняя конц. Hb в эритроц., г/дл Average conc. Hb in erythr., g/dl	Гематокрит, % Hematokrit, %	Тромбоциты, $\times 10^9/л$ Platelets, $\times 10^9/l$	Лейкоциты, $\times 10^9/л$ Leukocytes, $\times 10^9/l$
1-й месяц 1st month									
<i>I. Контроль, вода</i> <i>I. Control, water</i>									
<i>M ± m</i>	5,7 ± 0,1	54 ± 1	27,5 ± 0,4	128 ± 1	22,6 ± 0,4	41,8 ± 0,5	30,7 ± 0,4	342 ± 10	13,5 ± 0,9
<i>II. Земляники экстракт, 72 мг/кг</i> <i>II. Strawberry extract, 72 mg/kg</i>									
<i>M ± m</i>	5,8 ± 0,1	53 ± 1	26,9 ± 0,2	126 ± 3	21,7 ± 0,5	40,9 ± 0,4	30,9 ± 0,6	334 ± 13	13,8 ± 1,1
<i>III. Земляники экстракт, 720 мг/кг</i> <i>III. Strawberry extract, 720 mg/kg</i>									
<i>M ± m</i>	6,1 ± 0,2	54 ± 1	26,9 ± 0,4	129 ± 2	21,3 ± 0,7	40,7 ± 0,4	32,4 ± 0,6*	352 ± 17	15,3 ± 1,5
3-й месяц 3rd month									
<i>I. Контроль, вода</i> <i>I. Control, water</i>									
<i>M ± m</i>	6,0 ± 0,1	54 ± 1	27,4 ± 0,4	132 ± 2	22,1 ± 0,5	41,2 ± 0,5	31,2 ± 0,5	352 ± 13	10,7 ± 0,6
<i>II. Земляники экстракт, 72 мг/кг</i> <i>II. Strawberry extract, 72 mg/kg</i>									
<i>M ± m</i>	6,1 ± 0,2	53 ± 1	27,1 ± 0,4	128 ± 3	21,9 ± 0,6	41,0 ± 0,4	30,5 ± 0,7	345 ± 14	12,0 ± 0,9
<i>III. Земляники экстракт, 720 мг/кг</i> <i>III. Strawberry extract, 720 mg/kg</i>									
<i>M ± m</i>	6,3 ± 0,2	53 ± 1	27,2 ± 0,4	131 ± 2	21,4 ± 0,7	40,1 ± 0,5	32,7 ± 0,6*	357 ± 23	12,2 ± 0,7

Примечание. * Достоверность различий с контролем (* $P < 0,05$).

Note. * Significance of differences with control (* $P < 0.05$).

Таблица 3. Показатели гемограмм крыс, получавших интражелудочно земляники садовой листьев экстракт сухой в хроническом эксперименте

Table 3. Indicators of hemograms of rats receiving intragastric strawberry garden leaf extract dry in a chronic experiment

Группы животных Animal groups	№№ животных №№ Animals	Исследуемые показатели Investigated indicators					
		Лейкоциты, ×10 ⁹ /л Leukocytes, ×10 ⁹ /l	Гемограммы (×10 ⁹ /л) Hemograms (×10 ⁹ /l)				
			Лимфоциты lymphocytes	Моноциты monocytes	Нейтрофилы neutrophils		Эозинофилы eosinophils
					с/ядерные с/nuclear	п/ядерные p/nuclear	
1-й месяц 1st month							
I. Контроль, вода I. Control, water	M ± m	13,5 ± 0,9	8,9 ± 0,8	0,8 ± 0,1	3,0 ± 0,4	0,4 ± 0,04	0,4 ± 0,04
II. Земляники экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg	M ± m	13,8 ± 1,1	8,9 ± 0,7	0,8 ± 0,1	3,2 ± 0,4	0,5 ± 0,05	0,4 ± 0,04
III. Земляники экстракт, 720 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg	M ± m	15,3 ± 1,5	9,7 ± 1,2	0,9 ± 0,1	3,6 ± 0,4	0,5 ± 0,07	0,4 ± 0,04
3-й месяц 3rd month							
I. Контроль, вода I. Control, water	M ± m	10,7 ± 0,6	6,7 ± 0,4	0,7 ± 0,08	2,7 ± 0,4	0,3 ± 0,03	0,3 ± 0,03
II. Земляники экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg	M ± m	12,0 ± 0,9	7,8 ± 0,8	0,7 ± 0,09	2,8 ± 0,2	0,4 ± 0,04	0,3 ± 0,04
III. Земляники экстракт, 72 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg	M ± m	12,2±0,7	8,1±0,8	0,8±0,07	2,6±0,5	0,4±0,5	0,3±0,04

При анализе биохимических показателей сыворотки крови крыс, получавших земляники экстракт в испытанных дозах, через 1 и 3-и месяца хронического эксперимента количество различных форменных элементов крови экспериментальных животных – лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов в опытных и контрольной группах существенно не различалось. В мазках крови не было обнаружено каких-либо патологически измененных клеток – по форме, величине, наличию патологических включений, восприятию краски (таблица 4).

Определение активности некоторых ферментов сыворотки крови крыс, проведенное в те же сроки исследования, выявило статистически значимое увеличение активности аспартаттрансаминазы и щелочной фосфатазы через 1 месяц введения земляники экстракта сухого в дозе 720 мг/кг. К концу хронического опыта указанные изменения ферментов нормализовались и во всех экспериментальных группах не имели статистически значимых различий с контролем. Активность аланин-трансаминазы у крыс I–III групп статистически достоверно не различалась в оба срока исследования (таблица 5).

При исследовании влияния земляники экстракта на функциональное состояние почек экспериментальных животных в условиях водной нагрузки на 1 месяце опыта выявлено статистически значимое, по сравнению с контролем, увеличение диуреза у крыс, получавших максимальную дозу препарата, как в динамике, так и суммарно. За 5 часов проведения пробы. Подобная тенденция сохранялась и через 3 месяца эксперимента (таблица 6).

При изучении влияния земляники экстракта на функциональное состояние центральной нервной системы крыс по тестам ориентировочных реакций в условиях «открытого поля» не отмечено каких-либо изменений ни по одному из исследованных показателей (таблица 7).

Введение земляники экстракта крысам в дозах 72 и 720 мг/кг не изменяло функциональное состояние сердечно-сосудистой системы животных всех подопытных групп, о чем свидетельствовали результаты записи электрокардиограмм во II стандартном отведении, проведенной на 1 и 3-м месяце опыта (таблица 8).

После окончания введения экстракта животных подвергали эвтаназии. У них были определены коэффициенты массы внутренних органов. Из таблицы видно, что под действием субстанции препарата у крыс наблюдали увеличение относительной массы тимуса (II и III группы) по сравнению с контролем, что может свидетельствовать о возможном иммуностимулирующем действии земляники садовой листьев экстракта сухого на тимус-зависимый иммунитет. Коэффициенты массы других внутренних органов крыс, представленных в таблице 9, не имели существенных различий с аналогичными показателями в контроле.

Далее проводили изучение внутренних органов крыс, получавших в течение 3-х месяцев земляники садовой листьев экстракт сухой I группа животных, контроль, вода, №№ 1–8; II группа, земляники экстракт сухой, 72 мг/кг, №№ 1–8; III группа, земляники экстракт, 720 мг/кг, №№ 1–8.) макро- и микроскопическими методами [18].

Таблица 4. Биохимические показатели крови крыс, получавших внутрижелудочно земляники садовой листьев экстракт сухой в хроническом эксперименте

Table 4. Biochemical blood parameters of rats receiving intragastric strawberry garden leaf extract dry in a chronic experiment

№№ животных №№ Animals	Исследуемые показатели Investigated indicators							
	Общий белок, г/л Total protein, g/l	Альбумины, г/л Albumines, g/l	Общий холестерин, ммоль/л Total cholesterol, mmol/l	Триглицериды, ммоль/л Triglycerides, mmol/l	Общий билирубин, мкмоль/л Total bilirubin, mmol/l	Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/l	Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/l	Креатинин, Мкмоль/л Creatinine, Mmol/l
1-й месяц 1st month								
<i>I. Контроль, вода I. Control, water</i>								
<i>M ± m</i>	69,5 ± 2,1	33,3 ± 1,0	2,1 ± 0,1	0,4 ± 0,1	1,0 ± 0,2	8,0 ± 0,2	4,4 ± 0,5	67,8 ± 1,9
<i>II. Земляники экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg</i>								
<i>M ± m</i>	66,1 ± 3,9	32,6 ± 1,1	1,6 ± 0,1***	0,4 ± 0,1	1,7 ± 0,4	7,6 ± 0,3	4,4 ± 0,3	64,2 ± 3,3
<i>III. Земляники экстракт, 720 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg</i>								
<i>M ± m</i>	75,8 ± 5,3	33,8 ± 1,3	1,7 ± 0,1*	0,4 ± 0,1	1,8 ± 0,5	6,3 ± 0,4***	4,9 ± 0,4	69,1 ± 2,3
3-й месяц 3rd month								
<i>I. Контроль, вода I. Control, water</i>								
<i>M ± m</i>	69,0 ± 1,6	34,6 ± 1,1	2,5 ± 0,3	0,4 ± 0,1	1,7 ± 0,2	7,6 ± 0,4	4,5 ± 0,4	57,1 ± 4,8
<i>II. Земляники экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg</i>								
<i>M ± m</i>	67,7 ± 2,2	33,0 ± 1,3	1,5 ± 0,2*	0,6 ± 0,1	1,9 ± 0,2	6,0 ± 0,3**	4,6 ± 0,5	60,4 ± 6,1
<i>III. Земляники экстракт, 720 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg</i>								
<i>M ± m</i>	69,9 ± 2,9	34,0 ± 1,0	1,5 ± 0,2*	0,5 ± 0,1	2,0 ± 0,3	5,7 ± 0,2***	4,8 ± 0,4	64,4 ± 4,6

Примечание. * Достоверность различий с контролем (* $P < 0,05$; ** $P < 0,02$; *** $P < 0,01$).

Note. * Significance of differences with control (* $P < 0.05$; ** $P < 0.02$; *** $P < 0.01$).

При визуальном исследовании – внутренние органы крыс всех экспериментальных групп правильно расположены; полости без выпота и спаек. Серозные оболочки гладкие, блестящие. Дыхательные пути свободны; легкие эластичны, воздушны, на разрезе обычной окраски. Сердце, почки, печень, селезенка, тимус, органы желудочно-кишечного тракта, надпочечники, семенники – обычной формы, консистенции, окраски, размеров.

Таким образом, патоморфологическое изучение внутренних органов крыс, получавших в течение 3 месяцев внутрижелудочно земляники экстракт сухой в дозах 72 мг/кг (II группа) и 720 мг/кг (III группа), а также контрольной группы (I) показало отсутствие общетоксического действия экстракта.

Изучение земляники садовой листьев экстракта сухого, проведенное согласно стандартному для доклинических исследований хронической токсичности протоколу [1–3], не выявило закономерных токсических эффектов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований, земляники садовой листьев экстракт сухой не обладает общетоксическим действием. Экстракт не раздражает слизистые желудочно-кишечного тракта экспериментальных животных.

Таким образом, на основании результатов проведенного исследования хронической токсичности экстракта земляники садовой листьев сухого можно сделать вывод о целесообразности дальнейших исследований безопасности и перспективности исследований по разработке и получению лекарственных средств с земляники садовой листьев экстрактом сухим, обладающих диуретической и противовоспалительной активностью, с последующим обоснованием возможности применения их в медицинской практике.

Таблица 5. Показатели активности некоторых ферментов сыворотки крови крыс, получавших внутрижелудочно земляники садовой листьев экстракт сухой в хроническом эксперименте

Table 5. Activity indicators of some serum enzymes of rats receiving intragastric strawberry garden leaf extract dry in a chronic experiment

Группы животных Animal groups	№№ животных №№ Animals	Исследуемые показатели Investigated indicators		
		Аланин-трансаминаза, Е/л Alanine Transaminase, E/L	Аспартат-трансаминаза, Е/л Aspartate Transaminase, E/L	Щелочная фосфатаза, Е/л Alkaline phosphatase, E/l
1-й месяц 1st month				
I. Контроль, вода I. Control, water	$M \pm m$	73,4 ± 5,8	112,2 ± 5	405 ± 28
II. Земляники экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg	$M \pm m$	72,2 ± 6,9	117 ± 8	480 ± 34
III. Земляники экстракт, 720 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg	$M \pm m$	78,7 ± 2,6	128 ± 4*	506 ± 29*
3-й месяц 3rd month				
I. Контроль, вода I. Control, water	$M \pm m$	64,5 ± 6,2	110 ± 7	500 ± 54
II. Земляники экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg	$M \pm m$	61,4 ± 6,4	119 ± 8	473 ± 54
III. Земляники экстракт, 720 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg	$M \pm m$	67,3 ± 4,9	110 ± 11	482 ± 41

Примечание. * Достоверность различий с контролем (* $P < 0,05$).

Note. * Significance of differences with control (* $P < 0.05$).

Таблица 6. Показатели диуреза (в % к водной нагрузке) у крыс, получавших земляники садовой листьев экстракт сухой в хроническом эксперименте

Table 6. Indicators of diuresis (in % to water load) in rats treated with strawberry leaf extract dry in a chronic experiment

Группы животных Animal groups	№№ животных №№ Animals	3 % водная нагрузка, мл 3 % water load, ml	Периоды наблюдения, часы Observation periods, hours					суммарный за 5 total for 5
			1-й first	2-й second	3-й third	4-й fourth	5-й fifth	
1-й месяц 1st month								
I. Контроль, вода I. Control, water	<i>M ± m</i>	6,5 ± 0,2	58,3 ± 3,7	40,0 ± 16,2	7,0 ± 4,5	0	9,7 ± 10,4	114,9 ± 15,0
II. Земляники, экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg	<i>M ± m</i>	6,5 ± 0,2	27,1 ± 5,6	70,6 ± 13,6	20,8 ± 7,8	0	4,6 ± 3,3	123,1 ± 22,8
III. Земляники, экстракт, 720 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg	<i>M ± m</i>	5,8 ± 0,4	69,3 ± 13,8	62,5 ± 8,2	26,6 ± 3,9	4,7 ± 5,0	6,1 ± 3,6	169,2 ± 8,6*
3-й месяц 3rd month								
I. Контроль, вода I. Control, water	<i>M ± m</i>	6,5 ± 0,2	61,7 ± 15,0	38,5 ± 6,7	3,9 ± 3,6	1,1 ± 1,2	3,3 ± 2,0	108,6 ± 11,7
II. Земляники, экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg	<i>M ± m</i>	6,5 ± 0,2	67,3 ± 9,38	46,9 ± 14,6	5,1 ± 1,7	4,2 ± 2,9	1,4 ± 0,9	124,9 ± 12,4
III. Земляники, экстракт, 720 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg	<i>M ± m</i>	5,8 ± 0,4	67,7 ± 7,6	57,5 ± 10,2	5,1 ± 1,8	6,3 ± 2,5	3,5 ± 2,6	140,1 ± 11,6

Примечание. * Достоверность различий с контролем (* $P < 0,05$)

Note. * Significance of differences with control (* $P < 0.05$)

Таблица 7. Показатели функционального состояния ЦНС крыс, получавших земляники садовой листьев экстракт сухой в хроническом эксперименте

Table 7. Indicators of the functional state of the central nervous system of rats treated with strawberry leaf extract dry in a chronic experiment

Исследуемые показатели (за 3 минуты) Investigated indicators (in 3 minutes)	Группы животных		
	I. Контроль, вода I. Control, water	II. Земляники экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg	III. Земляники экстракт, 720 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg
1-й месяц 1st month			
«Норковый» рефлекс The «Mink» Reflex	11,4 ± 2,4	10,4 ± 0,9	11,0 ± 2,8
Вертикальный компонент Vertical component	1,2 ± 0,6	0,6 ± 0,6	0,6 ± 0,2
Число пересекаемых квадратов Number of intersecting squares	26,8 ± 5,8	26,8 ± 1,5	24,6 ± 3,4
Груминг Grooming	2,2 ± 0,9	2,8 ± 1,5	1,6 ± 1,3
Дефекация Defecation	1,4 ± 0,9	0	3,8 ± 0,6
3-й месяц 3rd month			
«Норковый» Рефлекс The «Mink» Reflex	12,5 ± 2,1	11,1 ± 1,6	10,7 ± 1,5
Вертикальный компонент Vertical component	1,5 ± 0,8	0,5 ± 0,5	0,4 ± 0,2
Число пересекаемых квадратов Number of intersecting squares	22,0 ± 4,5	25,2 ± 3,2	21,8 ± 3,4
Груминг Grooming	2,0 ± 6,9	2,5 ± 1,5	1,2 ± 1,0
Дефекация Defecation	1,8 ± 0,5	1,0 ± 0,5	2,6 ± 1,0

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. Изучение «хронической» токсичности. М.: Медицина; 2005. С. 41–122.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия лекарственных средств. Изучение хронической токсичности. М.: Гриф и К; 2012. С. 17–24
3. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том I. М.: Гриф и К; 2013. 24 с.
4. Lee D. S., Kim, K. H., Yook, H. S. Cosmetic effects of the fractional extracts from strawberry (*Fragaria ananassa* var. 'Seolhyang') leaf. *Journal of The Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2018;47(3):271–278.
5. Ibrahim D. S., Abd El-Maksoud M. A. E. Effect of strawberry (*Fragaria ananassa*) leaf extract on diabetic nephropathy in rats. *International Journal of Experimental Pathology*. 2015;96(2):87–93.
6. El-Mesallamy A. M. D., Hussein S. A. M., El. Gerby M., Abd El Azim M. H. M. Phenolic composition and biological activities of methanolic extract of strawberry leaves (*Fragaria ananassa*). *Natural Products: An Indian Journal*. 2013;9(6):251–257.
7. Олешко Г. И., Петухова О. В., Юшков В. В., Блинова О. А., Марченко С. Д. Способ получения средства, обладающего диуретической и противовоспалительной активностью. Патент РФ № 2342945. 2009. Бюл. № 1. Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2342945C1/ru>. Ссылка активна на 14.10.2022.
8. Подосиновикова Н. П., Краснов К. А., Бондаренко А. А., Александрова М. Л., Зайцева М. А., Халаман В. В. Изучение токсичности и безопасности липофильных экстрактов беломорских бурых водорослей – фукуса пузырчатого и ламинарии сахаристой на модели *Daphnia magna* straus. *Токсикологический вестник*. 2020;4:49–55.
9. Крепкова Л. В., Бортникова В. В., Кузина О. С., Боровкова М. В., Джавахян М. А. Доклиническое изучение безопасности капсул, созданных на основе винограда листьев красных экстракта сухого. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2018;21(11):45–50.
10. Лемасева С. В., Бабенко, А. Н., Боровкова М. В., Кузина О. С. Доклиническое изучение безопасности лекарственного средства, созданного на основе лапчатки белой экстракта сухого. В сб.: Сборник тезисов докладов Шестой Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии». Нижний Новгород: МОБИ-ХимФарма. 2020. С. 61.
11. Демидова О. А., Архипов В. В., Журавлева М. В., Александрова Т. В., Александров А. А. Безопасность лекарственных растительных препаратов: клинико-фармакологические аспекты. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2020;8(4):165–177.
12. Яборова О. В., Соснина С. А., Турышев А. Ю. Выбор оптимальной технологии получения экстракта листьев земляники садовой сухого. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2021;23(1):60–65.
13. Яборова О. В., Соснина С. А., Турышев А. Ю. Изучение диуретической и противовоспалительной активности настоя и экстракта сухого листьев земляники садовой. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2021;23(6):136–142.
14. Яборова О. В., Курицын А. В., Кылосова И. А., Гуляев Д. К. К вопросу изучения возможностей применения листьев и экстракта сухого земляники садовой в медицине. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2020;22(11):132–136.
15. Колик Л. Г., Жуков В. Н., Серединин С. Б. Характер проявления антиноцицептивных и анксиолитических свойств соединения ГБ-115 в аспекте взаимодействия холецистокининовой и опиоидергической систем. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2007;70(2):8–11.

Таблица 8. Параметры ЭКГ крыс, получавших внутрижелудочно землянично садовой листьев экстракт сухой в хроническом эксперименте

Table 8. ECG parameters of rats receiving intragastric strawberry garden leaf extract dry in a chronic experiment

Группы животных Animal groups	№№ животных №№ Animals	Параметры ЭКГ ECG parameters								
		R-R, сек. R-R, sec.	P-Q, сек. P-Q, sec.	QRS, сек. QRS, sec.	ST, сек. ST, sec.	TP, сек. TP, sec.	P, сек. P, sec.	R, сек. R, sec.	T, сек. T, sec.	ЧСС×в мин. Heart rate× in min.
1-й месяц 1st month										
I. Контроль, вода I. Control, water	$M \pm m$	0,122 ± 0,006	0,032 ± 0,002	0,034 ± 0,002	0,010 ± 0,001	0,017 ± 0,003	0,084 ± 0,015	0,225 ± 0,017	0,125 ± 0,011	494 ± 24
II. Земляники экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg	$M \pm m$	0,115 ± 0,001	0,032 ± 0,002	0,032 ± 0,003	0,011 ± 0,001	0,013 ± 0,001	0,093 ± 0,007	0,269 ± 0,020	0,122 ± 0,007	520 ± 6
III. Земляники экстракт, 720 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg	$M \pm m$	0,118 ± 0,001	0,033 ± 0,001	0,030 ± 0,002	0,010 ± 0,002	0,012 ± 0,001	0,095 ± 0,008	0,249 ± 0,029	0,112 ± 0,008	510 ± 6
3-й месяц 3rd month										
I. Контроль, вода I. Control, water	$M \pm m$	0,120 ± 0,006	0,031 ± 0,001	0,032 ± 0,002	0,007 ± 0,001	0,017 ± 0,003	0,074 ± 0,015	0,210 ± 0,017	0,132 ± 0,011	503 ± 25
II. Земляники экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg	$M \pm m$	0,112 ± 0,001	0,030 ± 0,002	0,031 ± 0,003	0,009 ± 0,001	0,011 ± 0,001	0,083 ± 0,007	0,260 ± 0,025*	0,119 ± 0,008	534 ± 6
III. Земляники экстракт, 720 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg	$M \pm m$	0,116 ± 0,001	0,033 ± 0,001	0,029 ± 0,002	0,010 ± 0,002	0,010 ± 0,001	0,095 ± 0,008	0,250 ± 0,030	0,109 ± 0,011	519 ± 6

Примечание. * Достоверность различий с контролем (* P < 0,05).
Note. * Significance of differences with control (* P < 0.05).

Таблица 9. Коэффициенты массы внутренних органов крыс (в г на 100 г массы тела), получавших земляники садовой листьев экстракт сухой в хроническом эксперименте

Table 9. Coefficients of the mass of the internal organs of rats (in g per 100g of body weight) who received strawberry leaf extract dry in a chronic experiment

Исследуемые органы Examined organs	Группы животных Animal groups		
	I. Контроль, вода I. Control, water	II. Земляники экстракт, 72 мг/кг II. Strawberry extract, 72 mg/kg	III. Земляники экстракт, 720 мг/кг III. Strawberry extract, 720 mg/kg
Сердце Heart	0,35 ± 0,04	0,34 ± 0,01	0,39 ± 0,01
Легкие Lungs	1,15 ± 0,19	0,90 ± 0,05	0,90 ± 0,07
Печень Liver	5,54 ± 0,44	5,72 ± 0,17	6,07 ± 0,34
Почки Kidneys	0,84 ± 0,04	0,95 ± 0,02	0,96 ± 0,06
Селезенка Spleen	0,72 ± 0,08	0,86 ± 0,06	0,84 ± 0,03
Надпочечники Adrenal glands	0,037 ± 0,005	0,044 ± 0,001	0,048 ± 0,003
Тимус Thymus	0,19 ± 0,02	0,36 ± 0,05*	0,30 ± 0,02*
Семенники Testes	1,12 ± 0,05	1,09 ± 0,02	1,10 ± 0,03

Примечание. * Достоверность различий с контролем (* $P < 0,05$).

Note. * Significance of differences with control (* $P < 0.05$).

- Козинец Г. И., Арустамян Ю. С., Ашууров Г. Д. Исследование системы крови в клинической практике. М.: Триада-Х; 1997. 480 с.
- Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Медгиз; 1963. 146 с.
- Сапожников А. Г., Доросевич А. Е. Гистологическая и микроскопическая техника. Смоленск: САУ; 2000. 475 с.
- Бузикашвили Н. Е., Самойлова Д. В., ред. Медико-биологическая статистика. Москва: Практика; 1999. 459 с.

REFERENCES

- Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Methodological guidelines for the study of the general toxic effect of pharmacological substances. The study of «chronic» toxicity. Moscow: Medicine; 2005. P. 41–122. (In Russ.)
- Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part one. Methodological recommendations for the study of the general toxic effect of medicines. The study of chronic toxicity. Moscow: Vulture and K; 2012. P. 17–24. (In Russ.)
- Guidelines for the examination of medicines. Volume I. Moscow: Vulture and K; 2013. 24 p. (In Russ.)
- Lee D. S., Kim, K. H., Yook, H. S. Cosmetic effects of the fractional extracts from strawberry (*Fragaria ananassa* var. 'Seolhyang') leaf. *Journal of The Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2018;47(3):271–278.
- Ibrahim D. S., Abd El-Maksoud M. A. E. Effect of strawberry (*Fragaria ananassa*) leaf extract on diabetic nephropathy in rats. *International Journal of Experimental Pathology*. 2015;96(2):87–93.
- El-Mesallamy A. M. D., Hussein S. A. M., El. Gerby M., Abd El Azim M. H. M. Phenolic composition and biological activities of methanolic extract of strawberry leaves (*Fragaria ananassa*). *Natural Products: An Indian Journal*. 2013;9(6):251–257.
- Oleshko G. I., Petukhova O. V., Yushkov V. V., Blinova O. A., Marchenko S. D. A method for obtaining a drug with diuretic and anti-inflammatory activity. Patent RUS No. 2342945. 2009. Byul. No. 1. Available at: <https://patents.google.com/patent/RU2342945C1/ru>. Accessed: 14.10.2022. (In Russ.)
- Podosinovikova N. P., Krasnov K. A., Bondarenko A. A., Alexandrova M. L., Zaitseva M. A., Halaman V. V. Study of toxicity and safety of lipophilic extracts of White Sea brown algae – *Fucus vesiculata* and *laminaria saccharum* on the model of *Daphnia magna* straus. *Toxicological Bulletin*. 2020;4:49–55. (In Russ.)
- Krepkova L. V., Bortnikova V. V., Kuzina O. S., Borovkova M. V., Javakhyan M. A. Preclinical study of the safety of capsules created on the basis of grape leaves of red extract of dry. *Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2018;21(11):45–50. (In Russ.)
- Lemyaseva S. V., Babenko A. N., Borovkova, M. V., Kuzina O. S. Pre-clinical study of the safety of a medicinal product created on the basis of white lapchatka extract of dry. In: Collection of Abstracts of the Sixth Interdisciplinary Conference "Molecular and Biological Aspects of Chemistry, Pharmaceutics and Pharmacology". Nizhny Novgorod: MOBI-ChemPharma. 2020. P. 61. (In Russ.)
- Demidova O. A., Arkhipov V. V., Zhuravleva M. V., Alexandrova T. V., Alexandrov A. A. Safety of medicinal herbal preparations: clinical and pharmacological aspects. *Safety and risk of pharmacotherapy*. 2020;8(4):165–177. (In Russ.)
- Yaborova O. V., Sosnina S. A., Turyshev A. Yu. The choice of optimal technology for obtaining dry strawberry leaf extract. *Medico-pharmaceutical journal "Pulse"*. 2021;23(1):60–65. (In Russ.)
- Yaborova O. V., Sosnina S. A., Turyshev A. Yu. Study of diuretic and anti-inflammatory activity of infusion and extract of dry strawberry leaves. *Medical and pharmaceutical journal "Pulse"*. 2021;23(6):136–142. (In Russ.)
- Yaborova O. V., Kuritsyn A. V., Kylosova I. A., Gulyaev D. K. On the issue of studying the possibilities of using leaves and extract of dried strawberry in medicine. *Medico-pharmaceutical journal "Pulse"*. 2020;22(11):132–136. (In Russ.)
- Kolik L. G., Zhukov V. N., Seredenin S. B. Manifestations of the antinociceptive and anxiolytic properties of short peptide antagonist of CCK₂ receptors GB-115: the interaction of cholecystokinin and opioid systems. *Experimental and clinical pharmacology*. 2007;70(2):8–11. (In Russ.)
- Kozinets G. I., Arustamyan Yu. S., Ashurov G. D. Investigation of the blood system in clinical practice. Moscow: Triad-X; 1997. 480 p. (In Russ.)
- Belenky M. L. Elements of quantitative assessment of pharmacological effect. Leningrad: Medgiz; 1963. 146 p. (In Russ.)
- Sapozhnikov A. G., Dorosevich A. E. Histological and microscopic techniques. Smolensk: SAU; 2000. 475 p. (In Russ.)
- Buzikashvili N. E., Samoylova D. V., editors. Medical and biological statistics. Moscow: Praktika; 1999. 459 p. (In Russ.)