

УДК 615.21

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.93.24.002>

ОЦЕНКА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО

Е.Н. Курманова, научный сотрудник отдела экспериментальной фармакологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

Е.В. Ферубко, доктор мед. наук, зав. отделом экспериментальной фармакологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

Т.Д. Даргаева, доктор фарм. наук, профессор, главный научный сотрудник отдела химии природных соединений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР), г. Москва

В ФГБНУ ВИЛАР разработан способ получения экстракта сухого из травы володушки золотистой и проведено его доклиническое фармакологическое изучение. Изучена острая фармакологическая токсичность экстракта володушки, его противовоспалительная активность при различных фазах острого воспалительного процесса. Установлено, что володушки золотистой (*Viburnum aureum* L.) травы экстракт сухой относится к практически нетоксичным веществам по действующей классификации. Экстракт проявляет достоверно выраженную противовоспалительную активность: антиэкссудативное действие, снижая степень экссудации, индуцированной формалином, антипролиферативную активность, а также оказывает антиальтеративное действие, ограничивая повреждение тканей флогогенным агентом и ускоряя процессы регенерации. Одним из механизмов реализации противовоспалительных свойств экстракта является его влияние на ингибирование циклооксигеназной реакции.

Ключевые слова: володушки золотистой травы экстракт сухой, острая токсичность, противовоспалительная активность,

экссудативная фаза воспаления, острое асептическое воспаление, пролиферативная активность, циклооксигеназа

Лекарственные препараты из субстанций растительного происхождения могут применяться практически во всех направлениях медицины, а создание новых лекарственных средств на основе сухих экстрактов в соответствии с современными требованиями является перспективным своевременным направлением науки.

В настоящее время препараты растительного происхождения имеют большое значение в профилактике и лечении заболеваний органов пищеварения. Известно, что, в отличие от синтетических, лекарственные растительные средства обладают, как правило, малой токсичностью и лучшей переносимостью, проявляя при этом заметную фармакологическую активность. Это позволяет гораздо шире использовать их для симптоматического, профилактического и восстановительного лечения, а также противорецидивной терапии заболеваний органов пищеварения [1].

В связи с этим разработка и внедрение новых эффективных и безопасных лекарственных препаратов из растительного сырья, предназначенных для профилактики и лечения заболеваний органов пищеварения, является актуальной задачей современной фармакологии.

В последние годы повысился интерес к изучению лекарственных растений рода Волoduшка (*Vupleurum*) семейства сельдерейные (*Apiaceae*) [2]. Большой интерес представляет володушка золотистая (длиннолистная) – *Vupleurum aureum* (Fisch.) *seu longifolium* L. [3].

Согласно данным литературы, володушка золотистая имеет доказанную желчегонную, гепатозащитную, Р-витаминную активность. Возможность разработки лекарственных средств из володушки золотистой продиктована достаточной обеспеченностью сырьевой базы этого растения и возможностью введения володушки в культуру [4].

Создание лекарственных средств растительного происхождения, применяемых при заболеваниях органов пищеварения, включает обязательный этап исследования – изучение противовоспалительной активности.

В этой связи **целью** нашего исследования являлось изучение противовоспалительных свойств володушки золотистой травы экстракта сухого.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ФГБНУ ВИЛАР разработан способ получения экстракта сухого из травы володушки золотистой [5]. В исследуемом объекте присутствуют флавоноиды, дубильные вещества, сапонины. Содержание суммы флавоноидов в экстракте регламентируется не менее 7% в пересчете на рутин-стандарт.

Фармакологические исследования выполняли согласно решению Совета ЕЭК от 03.11.2016 №81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики ЕАЭС»,

национальному стандарту Российской Федерации ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г.) и в соответствии с федеральными законами от 12.04.2010 №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и от 22.12.2014 №429-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств».

Производитель животных – филиал «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская область). Мышей и крыс содержали в виварии ФГБНУ ВИЛАР на стандартном рационе, животные перед экспериментальными исследованиями находились на карантине 14 дней. Конкретные процедуры с использованием животных были утверждены биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР.

Изучена острая фармакологическая токсичность володушки золотистой травы экстракта сухого. Определение острой токсичности экстракта по методу Кербера [6] осуществляли на нелинейных мышах-самцах с массой тела 18,0–22,0 г при однократном внутрижелудочном введении в дозах 200 мг/кг, 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 1500 мг/кг, 2000 мг/кг. В каждую группу входило по 10 особей. Все испытуемые дозы экстракта растворяли в воде очищенной (ФС.2.2.0020.18). Контрольной группе животных однократно вводили внутрижелудочно воду очищенную.

Токсический эффект экстракта оценивали по результатам наблюдения за общим состоянием животных с момента введения. Критериями оценки острой токсичности служили картина интоксикации и выживаемость животных. Длительность наблюдения за лабораторными животными составила 14 суток.

Противовоспалительную активность володушки золотистой травы экстракта сухого изучали по влиянию на различные фазы острого воспалительного процесса: экссудацию, альтерацию и пролиферацию в условиях соответ-

ствующих экспериментальных моделей. Острую антиэкссудативную активность володушки золотистой травы экстракта сухого на модели формалинового отека изучали с использованием 40 белых нелинейных мышей-самцов массой 18,0–22,0 г. Животных делили на 4 группы по 10 особей. Первая группа – контрольная, вторая, третья и четвертая – опытные.

Животным в апоневроз вводили 0,1 мл 1% формалина. Исследование противовоспалительной активности экстракта в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг (2-я и 3-я группы) проводили при введении его внутривентрально в течение пяти дней до введения формалина и через 1 час после [7], препарат сравнения индометацин в дозе 5 мг/кг суспендировали в крахмальном геле и вводили по аналогичной схеме (4-я группа). Контрольным животным вводили воду очищенную по аналогичной схеме в эквивалентном объеме. Через три часа на пике воспаления животных выводили из эксперимента в CO₂ камере и регистрировали прирост объема экссудата ампутированных конечностей мышей (мг), судили по разнице в массе у контрольных и опытных животных и рассчитывали противозекссудативный эффект по формуле:

$$\% \text{ угнетения отека} = \frac{P_k - P_o}{P_k} \times 100,$$

где P_к – разность масс лапок с отеком и без отека у животных контрольной группы; P_о – разность масс лапок с отеком и без отека.

Изучение влияния на процессы альтерации и регенерации в очаге воспаления проводили на нелинейных крысах-самцах с массой тела 180–200 г. Животные были разделены на три группы. Первая группа – контрольная, вторая и третья – опытные. Альтеративную фазу воспалительной реакции у крыс моделировали путем подкожного введения 0,5 мл 9% раствора уксусной кислоты в область спинки (Шварц, Сябаев, 2012). Одновременно вводили раствор декстрана внутривентрально в дозе 300 мг/кг. Экстракт в дозах 10 и 100 мг/кг (1-я

и 2-я группы) вводили животным внутривентрально за 1 час до введения раствора уксусной кислоты, а затем ежедневно один раз в сутки в течение 28 дней. Животные контрольной группы получали воду очищенную по аналогичной схеме в эквивалентном объеме. Антиальтеративное действие экстракта определяли планиметрическим методом по степени развития некроза и регенерации тканей на 7-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки.

Изучено влияние володушки золотистой травы экстракта сухого на течение хронической пролиферативной фазы воспаления у мышей на модели «*cotton pellet*». В эксперименте использовали нелинейных мышей-самцов массой 18,0–22,0 г в количестве 30 особей, их делили на три группы: 1-я – контрольная, 2-я и 3-я – опытные. Исследование противовоспалительной активности экстракта проводили при введении его внутривентрально в дозах 10 и 100 мг/кг (2-я и 3-я группы). Контрольным животным вводили в эквивалентном объеме воду очищенную.

Стерильные ватные шарики массой 4,0±1,0 мг имплантировали под кожу мышей в подмышечную и паховую области. Операцию выполняли под легким эфирным наркозом в асептических условиях. Исследуемые вещества вводили внутрь после имплантации и в течение последующих 7 дней.

На 8-е сутки мышей выводили из эксперимента с помощью углекислого газа. Затем производили извлечение гранул. Гранулемы взвешивали сначала во влажном состоянии, а затем в высушенном до постоянного веса при температуре 80°C. Пролиферативную активность исследуемых веществ высчитывали по разнице между массой сухой и влажной гранулемы.

Для выявления предполагаемого механизма противовоспалительного действия проведено изучение влияния экстракта володушки на скорость циклооксигеназной реакции *in vitro*. Скорость реакции определяли

полярографически по методу Вейна, на полярографе с защищенным электродом Кларка. Скорость циклооксигеназной реакции определяли по убыли кислорода при окислении арахидоновой кислоты, взятой в качестве субстрата. В экспериментах использовали циклооксигеназу и арахидоновую кислоту фирмы Sigma (США) [6].

Статистическую обработку результатов провели с помощью пакета программ статистического анализа Statistica 10,0 (StatSoft, США). Для оценки значимости отличий между выборками с распределением, приближающимся к нормальному, использован t-критерий Стьюдента. Критический уровень значимости Р при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение параметров острой токсичности экстракта володушки по методу Кербера выявило, что в течение срока наблюдения (14 дней) не было отмечено гибели мышей. Животные были активны, охотно поедали корм, адекватно реагировали на внешние раздражители. Мыши контрольной группы также оставались клинически здоровыми.

Таким образом, при изучении острой токсичности экстракта володушки не установлены

показатели ЛД50, так как введенные дозы экстракта в желудок мышам не вызывали гибели животных. Володушки золотистой травы экстракт сухой является практически нетоксичным веществом по действующей классификации [8].

Результаты влияния экстракта на течение экссудативной фазы воспаления у мышей при пятидневном введении представлены в табл. 1.

Полученные данные свидетельствуют о достоверно выраженной антиэкссудативной активности экстракта в дозе 100 мг/кг. Экстракт при пятидневном введении в дозе 100 мг/кг достоверно подавляет развитие экссудативной фазы воспаления, вызванной формалином, на 36% – по сравнению с контрольной группой животных.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что володушки золотистой травы экстракт сухой в дозе 100 мг/кг оказывает достоверно выраженное антиэкссудативное действие.

Изучение влияния володушки золотистой травы экстракта сухого на процессы альтерации и регенерации в очаге воспаления с использованием модели острого асептического воспаления проведено на 30 нелинейных крысах-самцах массой 180–200 г, животные были разделены на группы: контрольные животные, получавшие воду очищенную, и 2 группы опытных животных, получавших изучаемый

Таблица 1

РЕЗУЛЬТАТЫ ВЛИЯНИЯ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО НА ТЕЧЕНИЕ ЭКССУДАТИВНОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ У МЫШЕЙ, М±m

Группа животных, n=10	Доза, мг/кг	Прирост объема экссудата, мг	Противовоспалительный эффект, %
Контрольная	–	38,3±4,65	–
1-я опытная, экстракт володушки	10	34,1±5,52	11
2-я опытная, экстракт володушки	100	24,6±1,6*	36
3-я опытная, индометацин	5	20,80±1,2*	46

Примечание, здесь и далее: * – достоверные отклонения (p<0,05)

Таблица 2

ВЛИЯНИЕ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО НА ТЕЧЕНИЕ АЛЬТЕРАТИВНОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ У КРЫС, $M \pm m$

Группы животных, n=10	Площадь альтерации, мм ² 7-е сутки	Площадь альтерации, мм ² 14-е сутки	Площадь альтерации, мм ² 21-е сутки	Площадь альтерации, мм ² 28-е сутки
Контрольная	717,9±21,2	421,9±8,3	268,1±10,2	35,9±2,4
Опытная-1, экстракт володушки 10 мг/кг	660,1±1,4*	343,8±7,5*	207,2±5,3*	26,1±1,5*
Опытная-2, экстракт володушки 100 мг/кг	620,8±13,2*	316,2±11,2*	171,1±11,0*	19,6±1,8*

экстракт в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг соответственно.

Результаты эксперимента представлены в табл. 2.

При введении крысам экстракта в дозе 10 мг/кг снижается степень деструкции ткани: на 7-е сутки – на 8%, в последующие сроки – на 19%, 23%, 27% по сравнению с данными контрольной группы. На фоне введения изучаемого экстракта в дозе 100 мг/кг животным выявлялись достоверные отличия – на 14%, 25%, 36% и 44% на 7-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки опыта соответственно по сравнению с показателями крыс контрольной группы.

Таким образом, установлено, что володушки золотистой травы экстракт сухой оказывает достоверно выраженное дозозависимое антиальтеративное действие.

Изучено влияние володушки золотистой травы экстракта сухого на течение хронической пролиферативной фазы воспаления у мышей на модели «cotton pellet».

Результаты проведенного исследования представлены в табл. 3.

Как видно из табл. 3, экстракт володушки при семидневном введении внутрь в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг проявляет антипролиферативную активность, тормозит процесс

Таблица 3

ВЛИЯНИЕ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО НА ФАЗУ ПРОЛИФЕРАЦИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ У БЕЛЫХ МЫШЕЙ, $M \pm m$

Группа животных, n=10	Масса влажных гранулем, мг	Масса сухих гранулем, мг	Степень угнетения образования гранулем, %
Контрольная	44,95±1,60	13,61±0,15	–
Опытная-1, экстракт володушки 10 мг/кг	36,68±0,33*	9,57±0,07*	13
Опытная-2, экстракт володушки 100 мг/кг	33,09±0,85*	9,00±0,12*	31

Таблица 4

ВЛИЯНИЕ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО НА СКОРОСТЬ ЦИКЛООКСИГЕНАЗНОЙ РЕАКЦИИ IN VITRO, M±m

Вариант опыта	Скорость реакции, нмоль/мин на мг белка	Соотношение скоростей реакции опыт/контроль, %
Контроль	3,2±0,04	100
Экстракт володушки 7 нг/мл пробы	0,60±0,01*	18,0
Экстракт володушки 30 нг/мл пробы	0,30±0,02*	10,1

образования фиброзно-грануляционной ткани на фоне модели «cotton pellet» у мышей на 13% и 31% по сравнению с контролем.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что экстракт володушки в дозе 100 мг/кг оказывает достоверно выраженное антипролиферативное действие.

Проведено изучение влияния володушки золотистой травы экстракта сухого на скорость циклооксигеназной реакции *in vitro* для выяснения возможных механизмов противовоспалительного действия изучаемого экстракта. Полученные результаты представлены в табл. 4.

Как видно из табл. 4, экстракт володушки оказывает ингибирующее влияние на активность ЦОГ арахидоновой кислоты, угнетая скорость циклооксигеназной реакции на 82–90% в зависимости от концентрации экстракта в пробе.

Результаты, полученные в условиях *in vitro*, подтвердили данные исследования противовоспалительной активности экстракта на животных и свидетельствуют в пользу того, что одним из механизмов реализации противовоспалительных свойств экстракта володушки является его прямое влияние на ингибирование циклооксигеназной реакции. Выявленное противовоспалительное действие изучаемого экстракта обусловлено содержанием в нем фенольных соединений, в частности кумаринов,

флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, ингибирующих свободнорадикальные стадии синтеза простагландинов и лейкотриенов, катализируемых циклооксигеназой и липооксигеназой, а также посредством блокирования специфических рецепторов медиаторов воспаления [9].

ВЫВОДЫ

Володушки золотистой (*Bupleurum aureum* L.) травы экстракт сухой относится к практически нетоксичным веществам по действующей классификации. Экстракт проявляет противовоспалительную активность: антиэкссудативное действие, снижая степень экссудации, индуцированной формалином, антипролиферативную активность, а также оказывает антиальтеративное действие, ограничивая повреждение тканей флогогенным агентом и ускоряя процессы регенерации. Одним из механизмов реализации противовоспалительных свойств экстракта является его прямое влияние на ингибирование циклооксигеназной реакции.

По результатам исследования можно заключить, что сухой экстракт володушки золотистой является перспективным объектом для создания современных инновационных форм лекарственных препаратов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кукес В.Г. Клиническая фармакология и фармакотерапия / В.Г. Кукес, А.К. Стародубцев, Е.В. Ших. – М.: Издательская группа «Гэотар-Медиа», 2020. – 873 с.
2. Баширова Р.М. Володушка золотистая – местный источник гепатопротекторных и капилляроукрепляющих веществ. Природные факторы здоровья, профилактики и лечения болезней / Р.М. Баширова, Ю.И. Усманов // Сб. докладов республиканской межведомственной научно-практической конференции. – Уфа, РИО ГУП «Иммунопрепарат». – 2001. – С. 38–42.
3. Абрамчук А.В. Лекарственные растения Урала / А.В. Абрамчук, Г.Г. Карташева. – Екатеринбург, 2010. – 510 с.
4. Мингажаева А.М. Опыт введения володушки золотистой в культуру / А.М. Мингажаева, В.А. Ложкин // Итоги биологических исследований Башкирского государственного университета. – 2002. – С. 220–223.
5. Способ получения сухого экстракта володушки золотистой. Джавахян М.А., Канунникова Ю.С. Патент на изобретение RU 2568586 С1, 20.11.2015. Заявка №2014122799/15 от 05.06.2014.
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
7. Тринус Ф.Н. Методы скрининга и фармакологического изучения противовоспалительных, анальгезирующих и жаропонижающих веществ / Ф.Н. Тринус. – Киев. 1974. – 28 с.
8. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения / И.В. Березовская // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – 37(3). – С. 32–34.
9. Akram M. Anti-coagulant activity of plants: mini review / M. Akram, A. Rashid // Journal of Thrombosis and Thrombolysis. – 2017. – №44. – P. 406–411.

EVALUATION OF THE ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES OF BUPLEURUM AUREUM GRASS DRY EXTRACT

E.N. Kurmanova, E.V. Ferubko, T.D. Dargaeva

All-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants, Moscow, Russia

*The VILAR State Medical University has developed a method for obtaining a dry extract from the golden volodushka herb and conducted its preclinical pharmacological study. The acute pharmacological toxicity of volodushka extract and its anti-inflammatory activity in various phases of acute inflammatory process have been studied. It has been established that the golden volodushka (*Bupleurum aureum* L.) herb dry extract refers to practically non-toxic substances according to the current classification. The extract exhibits significantly pronounced anti-inflammatory activity: anti-exudative effect, reducing the degree of exudation induced by formalin, antiproliferative activity, and also has an antialterative effect, limiting tissue damage by a phlogogenic agent and accelerating regeneration processes. One of the mechanisms for the realization of the anti-inflammatory properties of the extract is its effect on the inhibition of the cyclooxygenase reaction.*

Keywords: *Bupleurum aureum* grass extract dry, acute toxicity, anti-inflammatory activity, exudative phase of inflammation, acute aseptic inflammation, proliferative activity