

УДК 615.451

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НАСТОЙКИ ПОБЕГОВ ВЕРЕСКА ОБЫКНОВЕННОГО И ЕЕ ОСНОВНОГО КОМПОНЕНТА

О. А. Веремчук, Д. В. Моисеев

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»
Поступила в редакцию 23.03.2016 г.

Аннотация. Внутривентрикулярное введение настойки побегов вереска обыкновенного в дозах 80, 160 и 240 мг/кг массы тела приводит к угнетению воспалительного процесса при моделировании каррагинанового отека лапы крыс как в группе самцов, так и в группе самок. Полученные результаты значительно отличаются от группы контроля ($p=0.001$). Влияние настойки побегов вереска обыкновенного на процент угнетения отека носит дозозависимый характер. Фармакологический эффект изокверцитрина, основного флавоноида побегов вереска обыкновенного, составляет примерно 60% от противовоспалительного действия биологически активных соединений в настойке. Прием исследуемой настойки оказывает одинаковое действие ($p=0.05$) и не вызывает раздражения желудка по сравнению с ацетилсалициловой кислотой.

Ключевые слова: вереск, *Calluna vulgaris*, противовоспалительная активность, каррагинановый отек, изокверцитрин.

Abstract. Intra-gastric administration of heather shoots tincture in doses of 80, 160 and 240 mg/kg of body mass leads to inflammation reduction on carrageenan-induced rat paw edema model both in males and females groups. The obtained results significantly differ from control group ($p=0.001$). The association between heather shoots tincture dose and edema inhibition percent is dose-dependent. The effect of predominant flavonoid of heather shoots, isoquercitrin, comprises 60% of the tincture anti-inflammatory activity. Intake of the tested tincture shows the same effect ($p=0.05$) and does not cause gastric irritation in comparison with acetylsalicylic acid.

Keywords: heather, *Calluna vulgaris*, anti-inflammatory activity, carrageenan-induced edema, isoquercitrin.

От воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата, в частности артритов, страдает около 1% населения Европы [1]. В целом, лечение таких заболеваний представляет собой довольно длительный процесс, требующий внимательного выбора соответствующей терапии. Нестероидные противовоспалительные средства присутствуют в клинических протоколах лечения воспалительных заболеваний суставов различной этиологии, при этом курс лечения может превышать несколько недель, что увеличивает риск возникновения побочных реакций.

Для снижения дозы нестероидных противовоспалительных средств и уменьшения риска возникновения побочных реакций целесообразно рассматривать комбинированную терапию с применением препаратов растительного происхождения.

В настоящее время среди лекарственных средств растительного происхождения (в том числе гомеопатических), которые по анатомо-терапевтико-химической классификации относятся к группе M02AX (прочие препараты для местного применения при суставной и мышечной боли), можно выделить следующие: «Алором», «Гэв-камен» и «Ревма-гель». К группе M09AX (про-

чие препараты для лечения заболеваний костно-мышечной системы) относятся «Траумель С», «Цель-Т», «Ваньтун артиплас», «Дискус композитум», «Зинаксин», «Пиаскледин 300», «Реписан», «Румалайя», «Румалайя крим» и др. Перечисленные лекарственные средства являются комбинированными, большинство содержит более 4 компонентов растительной природы [2].

Среди галеновых препаратов для лечения воспалительных и дегенеративных заболеваний опорно-двигательного аппарата, зарегистрированных в Российской Федерации, следует отметить настойка сабельника, которая оказывает анальгезирующее и противовоспалительное действие [3].

Изучение фармакологической активности вереска обыкновенного (*Calluna vulgaris* (L.) Hull.), в том числе как противовоспалительного средства, представляет несомненный интерес. С давних времен это растение использовали в народной медицине для лечения различных заболеваний костно-мышечной системы. Химический состав растения достаточно разнообразен и включает в себя следующие группы соединений: флавоноиды (от 0.5% до 5.5%), катехины, проантоцианидины (до 7-8%), фенольные кислоты (от 5% до 9%), органические кислоты, аминокислоты (до 17%), полисахариды (около 5%) и др. [4, 5]. Известно, что флавоноиды вереска оказывают выраженную антиоксидантную активность [6]. При воспалении в поврежденных тканях усиливаются процессы образования свободных радикалов, избыток которых может негативно воздействовать на здоровые клетки и ткани. В этом случае применение антиоксидантов может снизить риск окислительного поражения.

При создании лекарственного средства важную роль играет выбор лекарственной формы, в том числе обоснование экстрагента. Важно, чтобы при приготовлении такой лекарственной формы, как настойка, максимально извлекались действующие вещества. При экстракции побегов вереска обыкновенного спиртом этиловым в извлечение переходят главным образом кверцетин и его гликозиды [7]. Deliorman-Orhan D. [et al.] связывают противовоспалительные свойства побегов вереска обыкновенного, заготовленного на территории Турции, с кемпферол-3-β-D-галактозидом. Это соединение преобладало в этилацетатной фракции этанольного экстракта из надземной части растения [8].

Ранее нами было установлено, что настойка побегов вереска обыкновенного является безопас-

ной при длительном применении в эксперименте на крысах [9].

Целью данного исследования было установление характера связи доза-эффект для настойки побегов вереска обыкновенного на модели *in vivo*, а также оценка противовоспалительной активности ее основного компонента, кверцетин-3-β-D-глюкозида.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе были использованы следующие реактивы: λ-каррагинан (1% в 0.2 М КСl), изокверцитрин (кверцетин-3-β-D-глюкозид), ацетилсалициловая кислота – производитель «Sigma Aldrich».

Настойку вереска обыкновенного (1:10) получали методом мацерации. Навеску измельченного сырья заливали спиртом этиловым 60% (об/об) в соотношении 1:10 и настаивали в течение семи дней с периодическим перемешиванием. Сливали полученную вытяжку, промывали и отжимали сырье небольшим количеством экстрагента. Вытяжки объединяли и фильтровали через бумажный фильтр. Полученную настойку доводили до необходимого объема экстрагентом. Стандартизацию настойки проводили с учетом рекомендаций Государственной фармакопеи Российской Федерации (13-го изд.) и по разработанной ранее методике количественного определения флавоноидов в побегах вереска обыкновенного [7, 10] (таблица 1).

Таблица 1

Показатели качества настойки побегов вереска обыкновенного

Показатель качества	Значение
Плотность	0.9063 г/см ³
Сухой остаток	22.3 г/л
Содержание изокверцитрина	0.26 мг/мл
Содержание суммы флавоноидов	1.90±0.04 мг/мл

Для дальнейшего исследования получали сухой остаток путем упаривания и диспергировали его в воде очищенной до получения суспензии (далее исследуемая суспензия).

Исследование проводили на здоровых, беспородных, половозрелых белых крысах обоих полов массой 260±30 г на модели каррагинанового отека лапы [11]. Животные были воспроизведены в виварии УО «ВГМУ» из маточного поголовья, полученного из питомника «Рапполово» РАМН (Ленинградская область, Всеволожский район). Содержание животных и постановка эксперимента проводились в соответствии с общепринятыми рекомендациями [12]. В работе соблюдены

требования гуманного обращения с экспериментальными животными [13]. Животные были распределены по следующим группам по 10 особей (5 самцов и 5 самок):

контрольная группа (животным вводили эквивалентный объем воды очищенной);

интактная группа (животные содержались на стандартном рационе со свободным доступом к пище);

исследуемая группа, получавшая исследуемую суспензию в дозе 40 мг сухого остатка на кг массы тела животного (группа 1);

исследуемая группа, получавшая исследуемую суспензию в дозе 80 мг/кг массы тела животного (группа 2);

исследуемая группа, получавшая исследуемую суспензию в дозе 160 мг/кг массы тела животного (группа 3);

исследуемая группа, получавшая исследуемую суспензию в дозе 240 мг/кг массы тела животного (группа 4);

группа изокверцитрина, получавшая раствор изокверцитрина в дозе 2.6 мг/кг массы тела животного (группа 5);

группа препарата сравнения, получавшая раствор ацетилсалициловой кислоты в дозе 200 мг/кг массы тела животного (группа 6).

Дозу изокверцитрина подбирали с учетом его содержания в настойке, что эквивалентно 220 мг/кг сухого остатка. В день эксперимента животным интактной группы в правую заднюю лапку осуществляли инъекцию 0.1 мл 0.9% раствора натрия хлорида. У животных остальных групп вызывали острое экссудативное воспаление путем введения 0.1 мл 1% в правую заднюю лапку раствора каррагинана. Через три часа (максимум развития отека) после инъекции каррагинана животных выводили из эксперимента путем декапитации под местной анестезией шейной области. Величину отека определяли по разности масс воспаленной и невоспаленной лапок, ампутированных на

уровне голеностопных суставов. В качестве показателя интенсивности воспаления рассчитывали процент прироста массы (ПП), а для сравнительной оценки противовоспалительной активности – процент угнетения отека (ПУО). После декапитации животных проводили их вскрытие и исследовали желудки.

Статистическую обработку данных проводили при помощи компьютерной программы Statistica 10.0 и Excel из пакета Microsoft Office 2010. Для выявления различий между исследуемыми группами и контролем использовали однофакторный дисперсионный анализ, для попарного сравнения групп параметрический критерий Стьюдента; для установления характера влияния исследуемого средства на процесс воспаления использовали регрессионный анализ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Животные, получавшие исследуемую суспензию, не проявляли признаков токсического воздействия. В последний день эксперимента у животных вызывали острое экссудативное воспаление. При этом подкожное введение раствора каррагинана в подошвенный апоневроз задней лапы крысы вызывало развитие выраженной отеочной реакции у животных обоих полов в группе контроля. Среднее значение прироста массы лапки составило 91% и 64% в группах самцов и самок соответственно. У животных интактной группы разница масс задних лапок не превышала 1.5%. Таким образом, можно судить о достаточной флогогенной активности используемого образца каррагинана.

Внутрижелудочное введение исследуемой суспензии во всех дозах приводило к угнетению воспалительного отека, при этом процент прироста массы лапок варьировал от 7.2% до 32.5% (таблица 2).

Препарат сравнения – ацетилсалициловая кислота, также вызывал значительное снижение

Таблица 2.

Процент прироста массы лап животных в исследуемых группах и контроле.

Группа животных	ПП, %	
	Самцы	Самки
Контроль	89.4-92.5	58.4-74.8
Группа 1 (40 мг/кг)	10.8-29.9*	20.0-31.3*
Группа 2 (80 мг/кг)	7.4-26.2*	17.5-32.5*
Группа 3 (160 мг/кг)	11.1-22.1*	10.5-22.3*
Группа 4 (240 мг/кг)	7.2-18.7*	13.0-22.0*
Группа 5	40.7-56.9*	29.5-33.0*
Группа 6	6.5-15.7*	2.8-17.0*

* - данные статистически значимо отличаются от контроля при $p=0.001$.

отека (до 2.8-17.0%), что статистически значимо отличается от контроля ($p=0.001$). Достоверных отличий в значениях процента прироста массы у самцов и самок шести исследуемых групп не установлено, что указывает на отсутствие влияния полового фактора на проявляемую активность.

При анализе связи процента угнетения отека от дозы исследуемой суспензии было установлено, что она носит дозозависимый характер и ее можно описать при помощи полиномиального уравнения второй степени (рисунок 1).

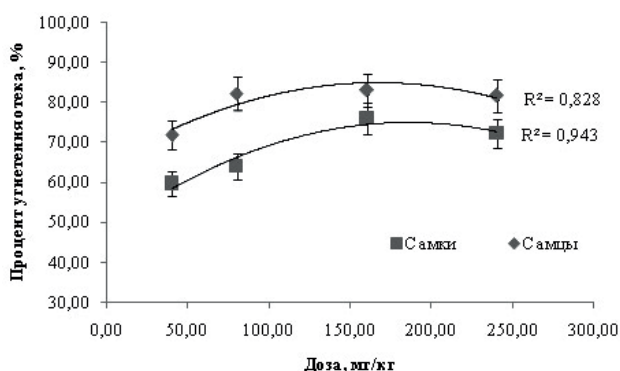


Рис. 1. Зависимость процента угнетения отека от дозы исследуемой суспензии в группах самцов и самок

Для сравнения эффективности настойки побегов вереска обыкновенного в дозах 160 и 240 мг/кг и препарата сравнения в дозе 200 мг/кг рассчитывали процент угнетения отека. Настойка побегов вереска обыкновенного в указанных дозах проявляла эффект, сравнимый с ацетилсалициловой кислотой ($p>0.05$). Статистически значимых отличий не наблюдалось как в группе самцов, так и в группе самок (рисунок 2).

Несмотря на достаточно высокую эффективность нестероидных противовоспалительных

средств, их прием может вызвать развитие нежелательных реакций, которые встречаются в 25% случаев. Наиболее вероятными реакциями являются расстройства желудочно-кишечного тракта [14]. Нами обнаружено, что в группе ацетилсалициловой кислоты на слизистой желудков лабораторных животных были видны покраснения, что свидетельствует о раздражающем действии препарата сравнения. При обследовании слизистой желудка животных, получавших исследуемую суспензию и раствор изокверцитрина, было установлено отсутствие раздражающего влияния. Желудок имел обычную форму и размеры, просвет был заполнен кашицеобразным пищевым содержимым. При внешнем осмотре желудка четко видна граница между кардиальным и железистыми отделами. Слизистая оболочка тела желудка бледно-розовая, блестящая, складчатая, без признаков повреждений.

В настоящем исследовании было установлено наличие противовоспалительных свойств у изокверцитрина. Прирост массы лапок в группе животных, получавших 2.6 мг/кг изокверцитрина был меньше по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе ($p=0.001$). При этом средние значения процента угнетения отека составили 46,6% и 51,1% в группах самцов и самок, соответственно. Выбранная доза изокверцитрина (2.6 мг/кг) эквивалентна 220 мг/кг сухого остатка. Таким образом, фармакологическая активность индивидуального вещества составляет более 60% от активности исследуемой суспензии.

В качестве дополнительного эффекта снижения отека можно отметить наличие у изокверцитрина диуретических свойств. Изокверцитрин увеличивает суточный объем мочи, при этом не вызывает нарушения электролитного баланса и не обладает нефротоксичностью [15].

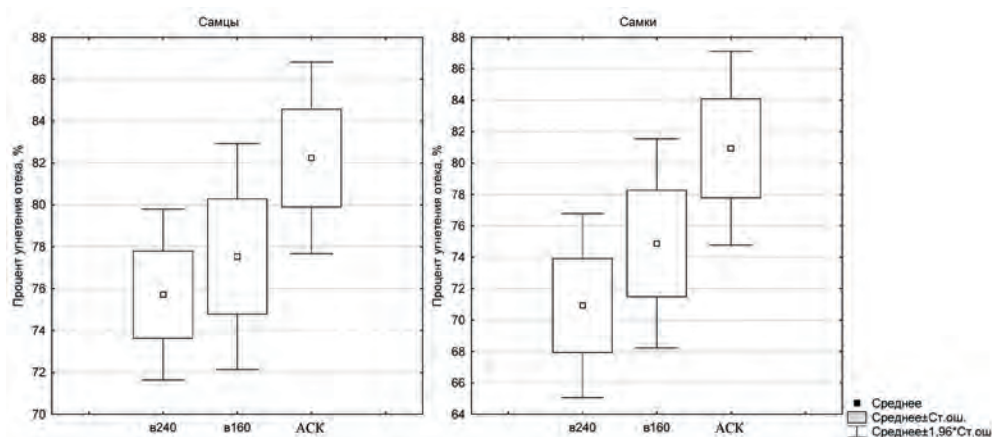


Рис. 2. Диаграммы размаха процента угнетения отека в группах животных 3, 4 и 6

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что влияние настойки побегов вереска обыкновенного на процент угнетения каррагинанового отека носит дозозависимый характер. Максимальный эффект проявляется в дозах 160 мг/кг и 240 мг/кг. Настойка вереска обыкновенного обладает схожим противовоспалительным эффектом и является более безопасной по сравнению с ацетилсалициловой кислотой. Доминирующий флавоноид побегов вереска обыкновенного также оказывает противовоспалительное действие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Choy E. Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis / E. Choy // *Rheumatology*. — 2012. — №51. — P. 3-11.
2. Vidal: Справочник лекарственных средств [Электронный ресурс] / Справочник Видаль «Лекарственные препараты в России». — Режим доступа: <http://www.vidal.ru> — дата доступа: 01.10.2015.
3. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения России. — Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru> — дата доступа: 01.10.2015.
4. Phytochemistry of heather (*Calluna vulgaris* (L.) Hull) and its altitudinal alteration / M. Monschein [et al.] // *Phytochem Rev.* — 2010. №9. — P. 205-215.
5. Онегин С.В. Фармакогностическое изучение вереска обыкновенного (*Calluna vulgaris* (L.) Hull): дис...канд. фарм. наук: 15.00.02 / С.В. Онегин. — Ярославль, 2008. — 118 с.
6. Assessment of antiradical potential of *Calluna vulgaris* (L.) Hull and its major flavonoids / D. Deliorman-Orhan [et al.] // *J Sci Food Agric.* — 2009. №89. — P. 809-814.
7. Веремчук О.А. Валидация методики количественного определения флавоноидов в побегах вереска обыкновенного / О.А. Веремчук, Д.В. Моисеев // *Вестник ВГМУ.* — 2015. — Т.14. №1. — С. 128-135.
8. Bioassay-guided isolation of kaempferol-3-O- β -d-galactoside with anti-inflammatory and antinociceptive activity from the aerial part of *Calluna vulgaris* L. / I. Orhan [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology* — 2007. — Vol. 114. — P. 32-37.
9. Веремчук О.А. Изучение профиля безопасности настойки вереска обыкновенного / О.А. Веремчук, Д.И. Моисеев // *Вестник ВГМУ.* — 2015. — Т.14, №3. — С. 98-106.
10. Государственная фармакопея Российской Федерации: в 3 т. — 13-изд. [Электронный ресурс] / Федеральная электронная медицинская библиотека отека. — Режим доступа: 193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_2/HTML/. — Дата доступа: 25.10.2015.
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых веществ / под общ. ред. Члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. — 2-е изд. перераб. и доп. — М: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. — 832 с.
12. Надлежащая лабораторная практика GLP = Good Laboratory Practice GLP : ГОСТ Р-53434-2009. — Введ. 01.03.10 — Москва: Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии: Стандартинформ, 2010. — 17 с.
13. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals for Experimental and Other Scientific Purposes / Council of Europe. — Strasbourg, 18.03.1986. — 51 p.
14. Журавлева М.В. Актуальные вопросы повышения безопасности применения нестероидных противовоспалительных препаратов: значение фармакогенетических исследований / М.В. Журавлева, А.Ю. Обжерина // *Ведомости НЦЭСМП.* — 2011. №2. — С. 31-34.
15. Diuretic and potassium-sparing effect of isoquercitrin An active flavonoid of *Tropaneolium majus* L. / G.J. Arquimenes [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology.* — 2011. №134. — P. 210-215

УО «Витебский государственный ордена дружбы народов медицинский университет»

Веремчук О.А., аспирант кафедры стандартизации лекарственных средств с курсом ФПК и ПК
E-mail: veremchuk.oa@gmail.com

Моисеев Д. В., к.ф.н., доцент, заведующий кафедрой стандартизации лекарственных средств с курсом ФПК и ПК

E-mail: ussr80@ya.ru

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University

Veremchuk O. A., post-graduate student of the drugs standardization chair
E-mail: veremchuk.oa@gmail.com

Moiseev D. V., Ph.D., associate professor, head of the drugs standardization chair

E-mail: ussr80@ya.ru