

ФАРМАЦІЯ

УДК: 615.322.076:615.276:615.218.3:582.682.8

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИЕКСУДАТИВНОЇ ДІЇ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЛІПОФІЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ ГАРБУЗА

**К. О. Дегтярьова, Л. І. Вишневська, С. В. Гарна,
Н. М. Кононенко, О. Ю. Ткачук**

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Вступ. Доброякісна гіперплазія передміхурової залози сьогодні є поширеним захворюванням сечостатевої системи чоловіків середнього та похилого віку, що потребує своєчасного якісного та сучасного лікування. Найпоширенішими препаратами для лікування цього захворювання є фітопрепарати, які володіють широким діапазоном терапевтичної дії, водночас з невеликим спектром побічних ефектів порівняно з їх синтетичними аналогами. Актуальним є пошук та дослідження фармакологічної активності, нової сировини рослинного походження з перспективою створення лікарських засобів на їх основі.

Мета. Дослідження антиексудативної дії та оцінка протизапальної активності ліпофільних екстрактів насіння та м'якоті гарбуза на моделях карагенінового та зимозанового набряків у щурів.

Матеріали і методи. Об'єктами наших досліджень були ліпофільні екстракти з насіння та м'якоті гарбуза *Cucurbita pepo* (L.) родини *Cucurbitaceae*, отримані різними екстрагентами: гексаном і фреоном-22. Для визначення антиексудативної дії було використано моделі гострого карагенінового (використовували 1 % розчин карагеніну, як рефренс-препарат був обраний фітопрепарат з простатопротекторними властивостями «Тиквеол») та зимозанового (використовували 2 % суспензію зимозану, препарат порівняння — кверцетин) набряків. Оцінку інтенсивності запального процесу проводили за методом А. С. Захаревського.

Результати і висновки. В результаті експерименту, максимальну протизапальну активність виявив зразок екстракту м'якоті гарбуза, який екстрагували гексаном. Антиексудативна активність на експериментальній моделі гострого карагенінового набряку склала 78,4 % відносно контрольної патології; на моделі зимозанового набряку — 41,0 % відносно контрольної патології. Ліпофільний екстракт м'якоті

гарбуза можна вважати перспективною субстанцією для отримання лікарських засобів з протизапальною дією.

Ключові слова: фітопрепарати, ліпофільний екстракт гарбуза, фармакологічні дослідження, антиексудативна дія, протизапальна активність.

Вступ. Фармацевтична галузь в наш час характеризується попитом на фітопрепарати, що в свою чергу зумовлює необхідність розширення рослинної сировинної бази, пошуку нових видів лікарської рослинної сировини, вивченню їх складу, розробки методик контролю якості та сучасних схем технології отримання лікарських препаратів на їх основі. В Україні більше 50 % лікарських препаратів отримують з лікарської рослинної сировини. Тенденція до зростання попиту на лікарські препарати рослинного походження спостерігається також у всьому світі. За даними Всесвітньої Організації охорони Здоров'я, близько 80 % населення світу застосовують лікарські рослини для лікування різноманітних захворювань [5, 6].

Вітчизняні та зарубіжні дані наукової літератури свідчать про достатньо широке вивчення рослинної сировини гарбуза *Cucurbita pepo* (L.) родини *Cucurbitaceae*, а саме насіння гарбуза. Однак, м'якоть гарбуза залишається майже не дослідженою з точки зору фармаконостичного, фармакологічного аналізу тощо [8, 9].

Відомо, що насіння гарбуза входить до складу фітопрепаратів, що використовують для лікування доброякісної гіперплазії передміхурової залози (ДГПЗ), наприклад, таких, як: «Пепонен» (капс., виробник: Teva pharmaceutical industries LTD, Угорщина) і Тиквеол (олія 100 мл, виробник ЗАО НПО «Європа-Біофарм», Росія). Ці препарати мають виражену протизапальну, протинабрякову і цитостатичну дію по відношенню до гіперплазованих клітин, а також гальмівний вплив на тканинні фактори росту. Пепонен знижує симптоми ДГПЗ (болі при сечовипусканні, часте нічне сечовипускання). Тривале застосування препарату зменшує рівень ліпідів у крові та уповільнює процес атеросклерозу. До того ж наявність жирних кислот в олії гарбуза сприятливо впливає на підтримку нормального функціонування нервової системи.

Запалення лежить в основі більшості захворювань передміхурової залози (ПЗ). За даними літератури, у вузлах гіперплазії ПЗ у 62–100 % зустрічаються ознаки хронічного запалення [7, 10]. У зв'язку з цим доцільним було вивчення протизапальної активності досліджуваних зразків екстрактів. В експериментальній фармакології карагеніновий набряк є загально визнаною моделлю для прогнозування

протизапальних властивостей досліджуваних сполук та механізму їх дії [2, 4].

Мета. З урахуванням вищенаведеного, метою нашої роботи було дослідження антиексудативної дії та оцінка протизапальної активності ліпофільних екстрактів насіння та м'якоті гарбуза на моделях карагенінового та зимозанового набряків у щурів.

Матеріали та методи дослідження. Нами були отримані ліпофільні екстракти з насіння та м'якоті гарбуза *Cucurbita pepo* (L.) родини *Cucurbitaceae*, такими екстрагентами: гексан та дифлуорохлорометан (хладон-22). Екстрагування хладоном-22 здійснювали методом неперервної циркуляції у замкнутому циклі, використовуючи установку для екстрагування зрідженими газами. Екстрагування гексаном проводили в лабораторних умовах в апараті Сокслету методом циркуляційного екстрагування [1].

У роботі використовували такі досліджувані зразки екстрактів: ліпофільний екстракт насіння гарбуза — екстракція хладоном-22 (№ 1); ліпофільний екстракт насіння гарбуза — екстракція гексаном (№ 2); ліпофільний екстракт м'якоті гарбуза — екстракція хладоном-22 (№ 3); ліпофільний екстракт м'якоті гарбуза — екстракція гексаном (№ 4).

Для проведення експерименту були обрані білі нелінійні щури масою 180–220 г різної статі, вирощені у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ, яких утримували в стандартних умовах: температура повітря 20–22 °С, вологість не більше 60–70 %, обсяг повітрообміну (витяжка–приплив) 8:10, світловому режимі день/ніч, у стандартних алюмінієвих клітках, не більше 5 тварин у кожній (Directive 2010/63/EU of European Parliament and Council on the protection of animals used for scientific purposes). При роботі з тваринами дотримувалися Міжнародного кодексу медичної етики (Венеція, 1983), «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986), а також «Загально етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Для визначення антиексудативної дії було використано моделі гострого карагенінового та зимозанового набряків.

Для вивчення антиексудативної активності на експериментальній моделі гострого карагенінового набряку субплантарно вводили у задню лапу дослідних тварин 0,05 мл 1 % розчину карагеніну (виробництва фірми «Sigma-Aldrich», Німеччина). Досліджувані зразки екстрактів вводили внутрішньошлунково разово в дозі 1 мл на 1 кг маси тіла тварини. Як рефренс-препарат був обраний фітопрепарат

(аналог за діючими речовинами) з простатопротекторними властивостями «Тиквеол» (Tucveolum) виробництва «Європа-Біофарм» (коди АТХ: А05АХ). Контрольна група тварин отримувала очищену воду у відповідному об'ємі. Ефект кожної речовини досліджували на 10 тваринах.

Оцінку інтенсивності запального процесу проводили за величиною набряку, яку визначали у динаміці через 1, 2, 3 години (момент його максимального прояву), 6 та 24 години після уведення флогогену за методом А. С. Захаревського [3] й обчислювали у відсотках відносно контрольної патології за формулою:

$$A = 100\% - \frac{(V_{\text{нд}} - V_{\text{зд}})}{V_{\text{нд}} - V_{\text{зд}}} \cdot 100,$$

де А — антиексудативна активність, %;

$V_{\text{нд}}$ — об'єм набряклої лапи в експерименті;

$V_{\text{зд}}$ — об'єм здорової лапи в експерименті;

$V_{\text{нк}}$ — об'єм набряклої лапи в контролі;

$V_{\text{зк}}$ — об'єм здорової лапи в контролі.

Для встановлення впливу досліджуваних препаратів на гальмування ліпооксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти використовували асептичне ексудативне запалення у щурів. Зимозановий набряк у щурів викликали субплантарним введенням в задню лапу 0,1 мл 2 % суспензії зимозану (Sigma-Aldrich, США). Зимозан — структурний полісахарид клітинної оболонки дріжджів, який викликає місцеву запальну реакцію. Згідно з даними літератури, розвиток цього запалення на 3–5 годину ініціюють простагландини, а в перші 2 години — лейкотрієни.

Як препарат порівняння використовували кверцетин (ЗАТ НПЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна) у середній ефективній дозі 12,8 мг/кг. Відомо, що механізм протизапальної дії кверцетину пов'язаний із вираженою здатністю гальмувати 5-ліпоксигеназу — ключовий фермент біотрансформації арахідонової кислоти за ліпоксигеназним шляхом метаболізму.

Об'єм лапи вимірювали до уведення і через 0,5 (момент його максимального прояву), 1, 2 та 3 години після уведення флогогену за методом А. С. Захаревського й обчислювали у відсотках відносно контрольної патології за вищенаведеною формулою.

Результати. При дослідженні антиексудативної активності на моделі карагенінового набряку у щурів встановлено, що запальний процес у лапі щура супроводжувався характерним збільшенням її

об'єму, який зберігався в контрольній групі тварин протягом усього терміну експерименту. На 3 годину після введення карагеніну у групі контрольної патології зафіксовано максимальний набряк лапи щурів, який через 24 години зменшувався і об'єм лапи щура повертався до норми. Усі досліджувані зразки екстрактів виявляли виражену антиексудативну активність і достовірно зменшували набряк лапи в порівнянні з контрольною групою тварин з 1 по 6 години експерименту, за винятком 24 години. Пік антиексудативної активності препаратів спостерігався на 2-гу годину експерименту. Максимальну антиексудативну активність проявив зразок екстракту м'якоті гарбуза (№ 4), який екстрагували гексаном. Протизапальна активність складала 78,4 % відносно контрольної патології.

Враховуючи результати здатності препаратів пригнічувати набряк стоп щурів на моделі карагенінового запалення можна припустити, що механізм протизапальної активності полягає у пригніченні циклооксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти. Результати протизапальної антиексудативної активності ліпофільних екстрактів у порівнянні з контрольною патологією на моделі карагенінового набряку у щурів представлені у табл. 1.

При дослідженні антиексудативної активності на моделі зимозанового набряку у щурів встановлено, що досліджувані об'єкти затримують появу запальної реакції протягом усього експерименту, виявляючи різні показники протизапальної активності. Максимальна антиексудативна активність препаратів спостерігалася на 2 годину експерименту. При цьому під час вивільнення при запаленні простагландинів максимальну протизапальну активність виявив зразок екстракту м'якоті гарбуза (№ 4), який екстрагували гексаном (41,0 % відносно контрольної патології). Отже, антиексудативна активність препаратів на цій моделі запалення була менш виражена в перші години, тобто в період високої активності лейкотрієнів. Максимальний ефект відмічено на 2 годину (фаза синтезу простагландинів), що дає змогу припустити відсутність гальмівної дії на ліпооксигеназний шлях перетворення арахідонової кислоти.

Результати протизапальної антиексудативної активності ліпофільних екстрактів у порівнянні з контрольною патологією на моделі зимозанового набряку у щурів представлені у табл. 2.

Таблиця 1
Антиексудативна активність на моделі карагенинового набряку у щурів ($X \pm Sx$, $n=10$).

Умови досліджу	Протизапальна активність (%) через					
	1 год		2 год		3 год	
	Приріст об'єму лапи, мм	A, %	Приріст об'єму лапи, мм	A, %	Приріст об'єму лапи, мм	A, %
Контрольна патологія	1,15±0,07	—	1,90±0,08	—	2,36±0,03	—
№ 1	0,48±0,03*	58,3	0,67±0,02*	64,7	1,1±0,10*	53,4
№ 2	0,45±0,02*	60,9	0,63±0,03*	66,8	1,07±0,10*	54,7
№ 3	0,37±0,02*	67,8	0,43±0,01*	77,4	0,80±0,04*	66,1
№ 4	0,34±0,02*	70,4	0,41±0,02*	78,4	0,72±0,05*	69,5
Тиквеол	0,4±0,03*	65,2	0,39±0,01*	79,5	0,74±0,02*	68,6
					0,63±0,02*	38,2
					0,11±0,02	8,3

Примітка: * — $p < 0,05$ відносно контрольної патології.

Таблиця 2
Антиексудативна активність на моделі зимозанового набряку у щурів ($X \pm Sx$, $n=10$).

Досліджувана субстанція	Протизапальна активність (%) через					
	0,5 год		1 год		2 год	
	Приріст об'єму лапи, мм	A, %	Приріст об'єму лапи, мм	A, %	Приріст об'єму лапи, мм	A, %
Контрольна патологія	1,79±0,02	—	2,11±0,07	—	2,10±0,10	—
№ 1	1,32±0,06*	26,3	1,50±0,08*	28,9	1,41±0,08*	32,9
№ 2	1,39±0,09*	22,3	1,52±0,08*	28,0	1,33±0,08*	36,7
№ 3	1,4±0,02*	21,8	1,42±0,08*	32,7	1,3±0,07*	38,1
№ 4	1,3±0,07*	27,4	1,35±0,08*	36,02	1,24±0,08*	41,0
Тиквеол	1,51±0,05*	15,6	1,4±0,06*	33,6	1,35±0,05*	35,7
					1,41±0,03*	32,5

Примітка: * — $p < 0,05$ відносно контрольної патології.

Висновки:

Проведено фармакологічні дослідження антиексудативної дії та протизапальної активності зразків ліпофільних екстрактів насіння та м'якоти гарбуза.

Максимальну протизапальну активність проявив зразок екстракту м'якоти гарбуза, який екстрагували гексаном. Антиексудативна активність на експериментальній моделі гострого карагенінового набряку складала 78,4 % відносно контрольної патології; на моделі зимозанового набряку — 41,0 % відносно контрольної патології.

Результати проведеного дослідження дозволяють встановити відповідну закономірність відносно антиексудативної дії досліджуваних зразків та дає підстави продовжувати подальші фармакологічні дослідження з вивчення простатопротекторної активності ліпофільного екстракту гарбуза.

Враховуючи отримані експериментальні данні, ліпофільний екстракт м'якоти гарбуза можна вважати перспективною субстанцією для отримання лікарських засобів з протизапальною дією.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гарна С. В. Оптимізація технології екстракції ліпофільних комплексів з лікарської рослинної сировини. Повідомлення І. Вибір екстрагенту. / С. В. Гарна С. В., Ветров П. П., Русинов О. І., Георгиянц В. А. // Запорозький медичний журнал. — 2010. — № 3. — С. 92–94.
2. Експериментальне вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби / С. М. Дрогвоз, І. А. Зупанець, М. А. Мохорт [та ін.] // Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек.; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — С. 292–295.
3. Захаревский А. С. Влияние некоторых производных индола на нервную систему: автореф. дис. ... канд. мед наук / Захаревский А. С. — Минск, 1969. — 78–80 с.
4. Калашников В. С. Справочник по клинко-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Калашников. — Мн.: Беларусь, 2000. — 422 с.
5. Махия Л. М. Стан та перспективи використання лікарських рослин в офіційній медицині України / Л. М. Махия, В. М. Мінарченко, О. М. Струменська // Science and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences. — 2017. — Т. 14. — С. 14–16.
6. Никитюк Ю. А. Фінансово-економічні аспекти розвитку органічного лікарського рослинництва в Україні / Ю. А. Никитюк, Ю. О. Сологуб // Теорія і практика природокористування. — 2015. — № 2. — С. 23–28.
7. Яковлева Л. В. Доброякісна гіперплазія передміхурової залози, діагностика і лікування (Огляд літератури). / Л. В. Яковлева, Н. Я. Музика // Клінічна фармація. — 2009. — Т. 3, № 4. — С. 65–70.
8. A review on the ethnobotany, phytochemistry, pharmacology and nutritional composition of Cucurbita pepo L. / M. Adnan, S. Gul, S. Batool [et al.] // The Journal of Phytopharmacology. — 2017. — Vol. 6, № 2. — P. 133–139.
9. John C. Leffingwell. Identification of the Volatile Constituents of Raw Pumpkin (Cucurbita pepo L.) by Dynamic Headspace Analyses / John C. Leffingwell, E. D. Alford, D. Leffingwell // Leffingwell Reports. — 2015. — Vol. 7, № 1. — P. 1–14.
10. Manal K. Abdel-Rahman. Effect of Pumpkin Seed (Cucurbita pepo L.) Diets on Benign Prostatic Hyperplasia (BPH): Chemical and Morphometric Evaluation in Rats. / K. A. Manal // World Journal of Chemistry. — 2006. — Vol. 1, № 1. — P. 33–40.

Исследование антиэкссудативного действия и противовоспалительной активности липофильного экстракта тыквы

Е. А. Дегтярева, Л. И. Вишневская, С. В. Гарная,
Н. Н. Кононенко, О. Ю. Ткачук

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Введение. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы сегодня является распространенным заболеванием мочеполовой системы мужчин среднего и пожилого возраста, что требует своевременного качественного и современного лечения. Наиболее распространенными препаратами для лечения этого заболевания являются фитопрепараты, которые обладают широким диапазоном терапевтического действия, одновременно с небольшим спектром побочных эффектов по сравнению с их синтетическими аналогами. Актуальным является поиск и исследование фармакологической активности, нового сырья растительного происхождения с перспективой создания лекарственных средств на их основе.

Цель. Исследование антиэкссудативного действия и оценка противовоспалительной активности липофильных экстрактов семян и мякоти тыквы на моделях карагенинового и зимозанового отеков у крыс.

Материалы и методы. Объектами исследований были липофильные экстракты из семян и мякоти тыквы *Cucurbita pepo* (L.) семейства *Cucurbitaceae*, полученные разными экстрагентами: гексаном и фреоном-22. Для определения антиэкссудативного действия были использованы модели острого карагенинового (использовали 1 % раствора карагенина, как рефренс-препарат был выбран фитопрепарат с простатопротекторным свойством «Тыквеол») и зимозанового (использовали 2 % суспензию зимозана, препарат сравнения — кверцетин) отеков. Оценку интенсивности воспалительного процесса проводили по методу А. С. Захаревского.

Результаты и выводы. В результате эксперимента максимальную противовоспалительную активность проявил образец экстракта мякоти тыквы, который экстрагировали гексаном. Антиэкссудативная активность на экспериментальной модели острого карагенинового отека составила 78,4 % относительно контрольной патологии; на модели зимозанового отека — 41,0 % относительно контрольной патологии. Липофильный экстракт мякоти тыквы можно считать перспективной субстанцией для получения лекарственных средств с противовоспалительным действием.

Ключевые слова: фитопрепараты, липофильный экстракт тыквы, фармакологические исследования, антиэкссудативное действие, противовоспалительная активность.

The study of antiexudative action and anti-inflammatory activity of pumpkin lipophilic extract

**E. A. Dehtiarova, L. I. Vyshnevskaya, S. V. Harna, N. M. Kononenko,
O. Yu. Tkachuk**

National University of Pharmacy, Kharkiv

Introduction. Benign prostatic hyperplasia is wide-spread disease of urogenital system in middle aged and elderly men today which require well-timed qualitative and modern treatment. The most used drugs for treatment of this pathology are herbal medicines which have a wide therapeutic index along with small range of side effects in comparison with their synthetic analogs. The searching and study most notably the pharmacological activity of new materials of plant origin with perspective of drug development is still essential problem.

Aim. To study of antiexudative action and evaluation of anti-inflammatory activity of lipophilic extract of pumpkin seeds and pulp in carrageenin and zymosan-induced edema model in rats.

Materials and methods. The objectives of our study were lipophilic extracts of pumpkin seeds and pulp (*Cucurbita pepo* (L.), *Cucurbitaceae* family) obtained by various extracting solvents, including hexane and freon-22. For the determination of anti-exudative action there were employed models of acute carragenine (1 % solution of carragenine, and Tykveol herbal medicine with prostate protective effects as a reference drug) and zymosan (2 % suspension and quercetin as a reference drug) edema. The intensity of the inflammatory process was evaluated by A. C. Zaharevsky method.

Results and conclusion. The sample of extract of pumpkin pulp extracted by hexane has shown the maximum anti-inflammatory effect. As compared with a control pathology, the values of anti-exudative activity in experimental models of acute carragenine and zymosan-induced edema were 78.4 % and 41.0 %, respectively.

Lipophilic extract of pumpkin pulp can be considered a promising substance for obtaining drugs with anti-inflammatory activity.

Key words: herbal medicines, lipophilic pumpkin extracts, pharmacological research, anti-inflammatory activity.

Відомості про авторів:

Дегтярьова Катерина Олександрівна — кандидат фармацевтичних наук, старший викладач кафедри якості стандартизації і сертифікації ліків Національного фармацевтичного університету. Адреса: м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

Вишневська Лілія Іванівна — доктор фармацевтичних наук, професор, завідувача кафедри аптечної технології ліків Національного фармацевтичного університету. Адреса: м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

Гарна Світлана Василівна — доктор фармацевтичних наук, професор, завідувача кафедри якості стандартизації і сертифікації ліків Національного фармацевтичного університету. Адреса: м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

Кононенко Надія Миколаївна — доктор медичних наук, професор, завідувача кафедри патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету. Адреса: м. Харків, вул. Куликовська, 12.

Ткачук Олеся Юріївна — кандидат фармацевтичних наук, асистент кафедри фармації Вищого державного учбового закладу України «Буковинський державний медичний університет». Адреса: м. Чернівці, Театральна площа, 2.

УДК 615.454.1:616.14–007.64].011/.014

РОЗРОБКА СКЛАДУ І ТЕХНОЛОГІЇ КРЕМУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ВАРИКОЗНОГО РОЗШИРЕННЯ ВЕН

О. І. Єзерська

**Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, м. Львів**

Вступ. Варикозне розширення вен — широко розповсюджене захворювання з високим рівнем ризику небезпечних ускладнень, що є не лише важливою медичною, а й серйозною соціальною проблемою. Асортимент лікарських засобів для лікування варикозного розширення вен досить великий, проте багато запропонованих засобів іноземного виробництва, що мають високу вартість. Тому актуальним є розробка нових лікарських засобів для лікування варикозного розширення вен, ефективних за дією та доступних за ціною.

Метою нашої роботи є опрацювання оптимального складу і раціональної технології крему для лікування варикозного розширення вен.