

**Ю. А. Бойко, И. А. Кравченко, М. Аят**

*Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, 65026 Одесса*

## **ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *CAPSICUM ANUUM L.* ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВОСПАЛЕНИИ**

*(Представлена акад. НАМН Украины Н. Я. Головенко)*

В опытах на крысах были изучены противовоспалительные свойства геля, содержащего экстракт перца однолетнего (*Capsicum annuum L.*), с применением различных моделей асептического воспаления стопы. Развитие воспалительного процесса оценивалось по изменению объема и ширины воспаленной стопы. Применение геля на основе спиртового экстракта *Capsicum annuum L.* при каррагинининдуцированном воспалении приводило к 20 % снижению ширины и объема воспаленной стопы уже после 1 часа лечения. Нормализация этих показателей наступала на 5-е сут лечения. В отличие от опытной группы, в контрольной группе ширина и объем воспаленной конечности на 40-60 % превосходили значения до индуцирования воспаления. Нами было показано, что использование данного геля является эффективным в случае острых воспалительных процессов.

**Ключевые слова:** гель, капсаицин, воспаление, горький перец.

Воспаление является универсальной реакцией организма на действие разнообразных эндогенных и экзогенных повреждающих факторов. Несмотря на приспособительный характер воспалительного процесса, многие проявления воспаления имеют слишком выраженный, альтерирующий характер [11], в связи с этим уменьшение интенсивности воспалительной реакции является важным элементом патогенетической и симптоматической терапии.

Среди противовоспалительных препаратов наиболее широкое распространение получили средства, влияющие непосредственно на активность медиаторов воспаления, их биосинтез, накопление, выделение и биодegradацию, а также на связывание с соответствующими клеточными рецепторами [3]. Подобное патогенетическое лечение является весьма эффективным для купирования острой воспалительной реакции. Однако последующая нормализация физиологических процессов в зоне воспаления с восстановлением функциональной активности тре-

бует симптоматической терапии, для которой часто используют лекарственные средства природного происхождения. Это могут быть как препараты на основе животного сырья (например, прополиса) [17], так и растительного происхождения [4, 10], причем последние получили особо широкое распространение. Следует отметить, что препараты растительного происхождения могут использоваться не только в качестве индивидуальных лекарственных средств, но и как специфические биоусилители синтетических противовоспалительных агентов [8].

Среди противовоспалительных веществ растительного происхождения особо следует выделить группу капсаициноидов. Данные алкалоиды в больших количествах содержатся в стручковых плодах *Capsicum annuum L.* (горьком перце), что делает данное растительное сырье наиболее перспективным в плане источника их получения [7].

В настоящий момент на территории Украины существуют три компании-производители фарма-

---

### **Кафедра фармацевтической химии**

Ю. А. Бойко — зав. лаб. кафедры, к.б.н. (yuriyalex@gmail.com)

И. А. Кравченко — профессор кафедры, д.б.н., профессор

М. Аят — аспирант

© Ю. А. Бойко, И. А. Кравченко, М. Аят, 2014.

цветических препаратов на основе горького перца — ПрАТ ФФ “Биола”, “Фитофарм” и Люботинский завод “Продтовары”. Все препараты, выпускаемые данными компаниями, являются спиртовыми настойками. Подобная лекарственная форма не является удобной в практическом применении при лечении местных воспалительных процессов. Более эффективными и удобными представляются гели и мази на основе спиртовых экстрактов горького перца. В связи с вышесказанным мы посчитали актуальным разработку и изучение противовоспалительного средства для местного применения, представляющего собой гель с экстрактивными веществами горького перца.

Для изучения возможных механизмов действия использованного препарата нами были использованы различные модели воспалительного отека: каррагинановая, трипсиновая, гистаминовая и овальбуминовая.

Группа каррагинанов, являясь по своей химической природе полисахаридами, при попадании в организм способна вызывать яркую воспалительную и аллергическую реакции. Механизм биологического действия каррагинана основан на повышении выброса медиаторов воспаления (гистамина, серотонина, брадикинина) и простагландинов, в особенности простагландина  $E_2$  [16]. Будучи мощным вазодилататором, простагландин  $E_2$  наряду с гистамином и брадикинином вызывает расширение сосудов, усиление местного кровотока и повышение проницаемости сосудистой стенки. Все это приводит к ярко выраженным отекам и сопровождается повышенным выходом лейкоцитов из сосудистого русла как в связи с увеличенной проницаемостью сосудов, так и в связи с явлениями хемотаксиса.

В случае использования трипсина происходит активация протеиназактивируемых 2-рецепторов, приводящая к активному синтезу циклооксигеназы-2 [5]. Следует отметить, что активация данного типа рецепторов является одним из факторов развития артрита воспаления [5].

Введение яичного альбумина вызывает появление и резкий рост концентрации С-реактивного белка — патологического протеина, отсутствующего в норме. Взаимодействуя с мембранным фосфатидилхолином, С-реактивный белок образует структуру с которой взаимодействуют белки системы комплемента, приводя к образованию  $C1q$ -комплекса, способствующего разрушению клетки [12].

Гистамин, являясь одним из основных медиаторов воспаления, расширяет капилляры и увеличивает их проницаемость, что сопровождается отеками проявлениями и миграцией лейкоцитов в ткани. Он также участвует в запуске каскада биохимических реакций ответственных за развитие воспалительного процесса.

Таким образом, использование моделей воспалительного отека с различными биохимическими механизмами развития позволяет выделить возможные точки приложения противовоспалительного действия капсаицина — основного действующего вещества экстракта горького перца.

Целью данного исследования была разработка новой лекарственной формы, содержащей экстрактивные вещества горького перца, и изучение ее фармакологической активности на разных моделях воспаления.

**Материал и методы.** Исследование проведено на белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-220 г, которые содержались на стандартном рационе вивария со свободным доступом к пище и воде. Все исследования соответствовали правилам “Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях” (Страсбург, 1986) [9] и принципам Национального конгресса Украины по биоэтике (Киев, 2003 г.) [1].

Воспаление является сложным многостадийным процессом, в котором задействованы различные типы клеток и молекулярных систем. В связи с этим для понимания механизмов действия новых противовоспалительных препаратов необходимо установить, на какой именно этап воспалительной реакции, а также на какой молекулярный комплекс оказывает воздействие использованное лекарственное вещество. На практике для решения этой задачи используют различные экспериментальные модели воспаления, в которых преимущественно реализуется одно из многочисленных звеньев воспалительной цепи [2].

В проведенных исследованиях, нами были преимущественно использованы модели острого асептического воспаления с выраженной отеком реакцией. Воспалительную реакцию вызывали введением различных растворов флогенов: 0,2 мл 0,2 % водного раствора каррагинана, 0,1 мл 0,1 % водного раствора гистамина, 0,1 мл 0,1 % водного раствора трипсина и 0,1 мл 0,2 % овальбумина. Все флогены вводились в мягкие ткани вентральной поверхности плюсны [2, 15].

Для каждой модели воспаления были созданы две группы животных — контрольная и опытная (по 10 крыс в каждой). Лечение проводили в альтернирующую фазу воспаления нанесением мази на воспаленный участок конечности.

Гель для лечения получали смешиванием 7 частей коммерческого геля производства фирмы “ЭХО” (основа — редкосшитый сополимер акриловой кислоты и полиалиловый эфир пентаэритрита) и 3 частей 70 % водно-спиртового экстракта из

*Capsicum anuum L.* сорта “Украинский горький”, содержащего 0,082 % капсаицина. Для получения водно-спиртового экстракта 1 весовую часть высушенных мелкоизмельченных плодов перца заливали 2 частями 70° этилового спирта. Смесь выдерживали в течение 7 суток, после чего экстракт сливали. Конечная концентрация капсаицина в используемом геле составляла 0,025 %. Соответствие концентрации капсаицина в использованных экстрактах перца фармакопейным стандартам определяли по классической методике [14]. Все использованное в работе растительное сырье отвечало фармакопейным стандартам и содержало 0,41 % и более капсаицина.

Выраженность воспаления определяли в процентах изменений ширины и объема стопы относительно исходных значений до введения флогенов электронным штангенциркулем УТ-7201 (фирма YATO, Польша), изменение объема стопы определяли с помощью цифрового плетизмометра 37140 (*Ugo Basile*, Китай).

Активность холинэстеразы в плазме крови определяли с помощью стандартного тест-набора реактивов производства ТОВ НВП “Филисит-Диагностика”, Украина.

При статистической обработке достоверность различий между группами оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** При использовании в качестве лекарственного агента мази на основе экстракта горького перца в случае каррагинининдуцированного воспаления достоверное отличие от контрольной группы животных наблюдается уже после однократного применения препарата, через 1 час после введения флогена. В даль-

нейшем значения объема поврежденной стопы были в среднем на 30 % меньшими в опытной группе по сравнению с группой контроля (рис. 1).

Подобные благоприятные изменения наиболее вероятно объясняются влиянием капсаицина, содержащегося в экстракте перца, на ванилоидные рецепторы. Данное семейство рецепторов расположено на капсаицинчувствительных нервных окончаниях, а также на некоторых лейкоцитарных клетках [6]. Активация данного подтипа рецепторов в лейкоцитарных клетках способствует выбросу хемокинов, цитокинов, простагландинов, брадикинина; в случае нервных волокон наблюдается выброс субстанции P [13, 16]. В норме данные эффекты сопровождаются классическими признаками, свойственными воспалению — покраснением, локальным увеличением температуры, болевой реакцией. Однако при уже развившейся воспалительной реакции активация ванилоидных рецепторов приводит к так называемым парадоксальным проявлениям — уменьшению болевой чувствительности и увеличению скорости репарации тканей. Это связано с сенситизацией нервных окончаний, а также с локальными изменениями кровотока — усилением капиллярной микроциркуляции, что наряду с уменьшением сосудистой проницаемости способствует снижению отечности тканей. Таким образом, наиболее вероятным объяснением уменьшения воспалительных явлений при применении геля, содержащего капсаицин, является его специфические эффекты в условиях каррагинанового воспаления, связанные с активацией ванилоидных рецепторов.

Динамика изменений ширины и объема стопы при трипсиновом воспалении приведена на рис. 2.

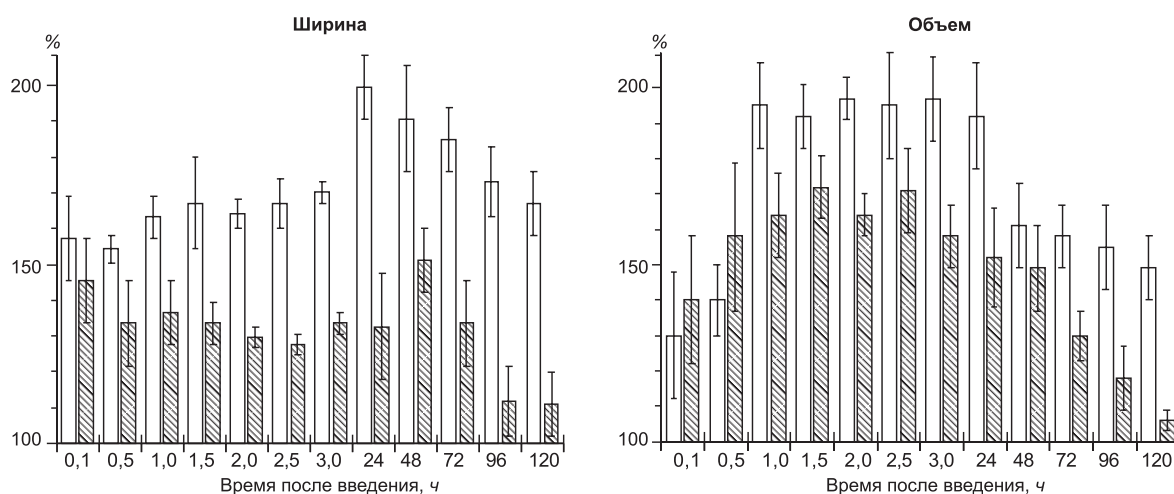


Рис. 1. Влияние геля на основе экстракта *Capsicum anuum L.* на изменения ширины и объема поврежденной стопы при каррагиновом воспалении (в % до введения флогена). Светлые столбики — контроль, заштрихованные — нанесение геля.

Трипсиновое воспаление, как и воспаление, вызванное введением каррагинана, является быстроразвивающимся острым процессом. Использование при данном виде воспаления геля с экстрактом *Capsicum anuum L.* вызывало уменьшение объема воспаленной конечности уже через 1 час лечения. После 3 часов с момента введения флогогена в группе контроля объем поврежденной конечности возвращался к значениям показателей, близким к нормальным. В опытной группе (после 3 часов) объем поврежденной конечности был 2 раза больше, чем до введения воспалительного агента. В связи с быстрым затуханием проявлений воспалительного процесса на фоне введения трипсина использование геля, содержащего этиловый спирт и капсаицин, приводит к раздражающему эффекту, который поддерживает воспалительные явления без видимых уменьшений. Основным раздражающим эффектом в используемой композиции соответствовал капсаицину. Для подтверждения этого предположения отдельной контрольной группе животных с трипсиновым воспалением наносили основу геля, не содержащую экстрактивных веществ перца. Нанесе-

ние геля с интервалами и продолжительностью такими же, как у соответствующей опытной группы, не выявляло как раздражающего, так и терапевтического эффекта.

Для гистаминового воспаления, как и для трипсинового, использование геля на основе спиртового экстракта перца приводило к поддержанию воспалительной реакции (рис. 3).

Овальбуминовое воспаление, как и предыдущие виды воспалений (за исключением каррагинанового), относится к быстропотекающему, самопроходящему типу. Использование опытного геля при овальбуминовом воспалении практически не меняло картину его протекания (рис. 4).

Отсутствие положительных эффектов при использовании геля на основе экстракта *Capsicum anuum L.* в случае гистаминового, трипсинового и овальбуминового воспаления можно объяснить быстрым затуханием воспалительной реакции, вызываемой данными флогогенами. При этом капсаицин действует на мягкие ткани стопы в условиях затухания или полного прекращения воспалительной реакции. В этом случае наблюдается провоспалительное действие капсаицина, связан-

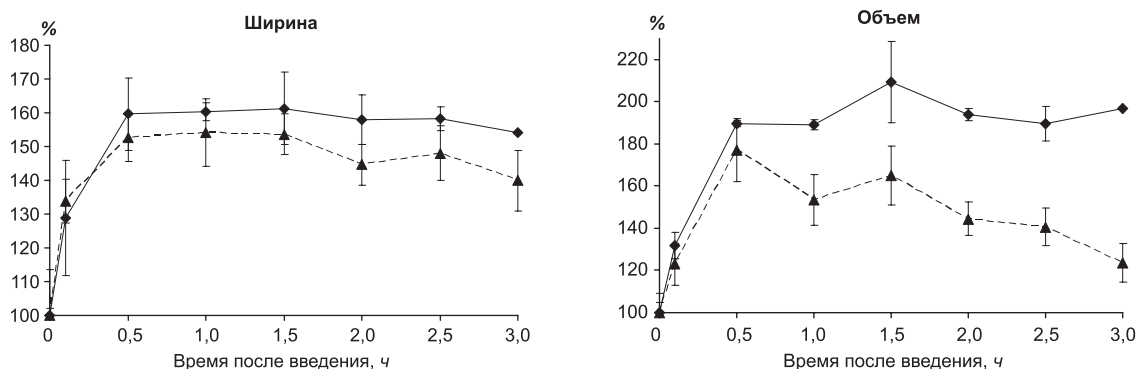


Рис. 2. Влияние геля на основе экстракта *Capsicum anuum L.* на изменения ширины и объема поврежденной стопы при трипсиновом воспалении (в % до введения флогогена). Здесь и на рис. 3-4: штриховая линия — контроль, сплошная линия — нанесение геля.

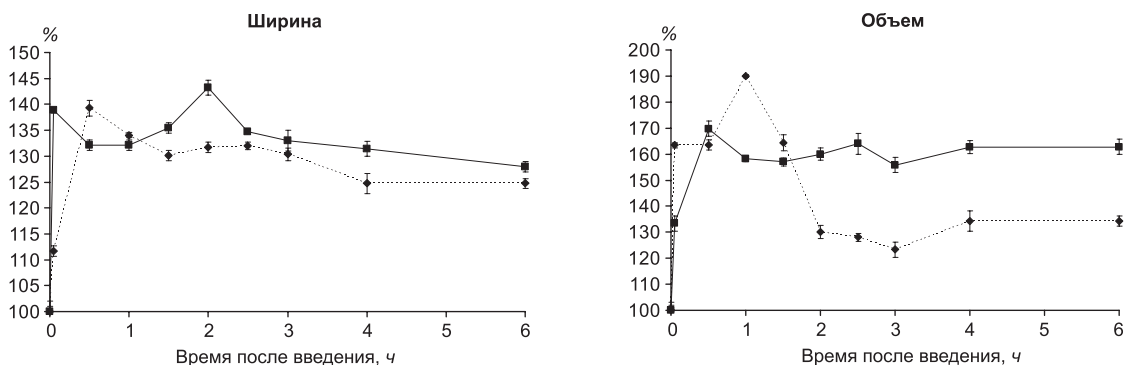


Рис. 3. Влияние геля на основе экстракта *Capsicum anuum L.* на изменения ширины и объема поврежденной стопы при гистаминовом воспалении (в % до введения флогогена).

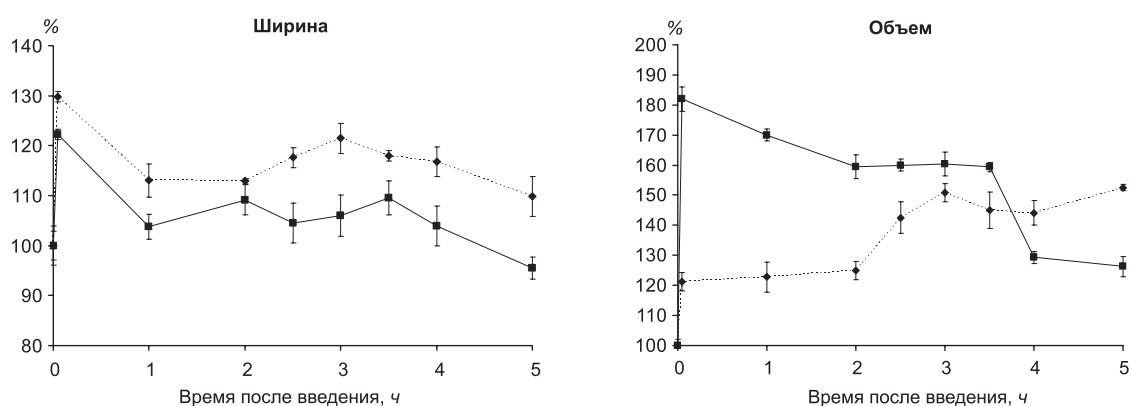


Рис. 4. Влияние геля на основе экстракта *Capsicum anuum L.* на изменения ширины и объема поврежденной стопы при овальбуминовом воспалении (в % до введения флогогена).

ное с особенностями его действия на ванилоидные рецепторы в условиях физиологической нормы [16]. Следует отметить, что в отличие от каррагинанового воспаления видимые проявления трипсинового, гистаминового и овальбуминового воспалений проходят через 24 часа.

В случае каррагинановой модели воспаления, как наиболее продолжительной из рассмотренных, были проведены исследования активности холинэстеразы плазмы крови. Полученные данные приведены в таблице.

Влияние геля на основе экстракта *Capsicum anuum L.* на активность холинэстеразы плазмы крови при каррагинановом воспалении, мкмоль/(с·л)

Группа	Исходн.	День после введения каррагинана				
		1	2	3	4	5
Контроль	31,82	27,38	19,98	8,88	13,32	14,8
Лечение	31,82	30,34	24,42	14,06*	19,98*	25,16*

Примечание: \* —  $P \leq 0,05$  по сравнению с соответствующим контролем.

Холинэстеразы являются уникальной группой ферментов, активность которых уменьшается при ряде патологических состояний, в том числе при воспалительных явлениях в мышцах, коже и соединительных тканях. Введение каррагинана вы-

зывало снижение активности холинэстеразы в 3,5 раза в контрольной группе животных на 3-и сутки после введения флогогена. В то же время, в опытной группе снижение активности фермента было не столь значительно, а на 5-е сутки лечения приближалось к исходному уровню до индукции воспалительной реакции.

Использование в работе моделей воспаления различного типа позволяет сделать определенные предположения о возможных механизмах действия использованного геля на основе экстракта *Capsicum anuum L.* Влияние капсаицина на ванилоидные рецепторы в условиях развития воспалительного процесса приводит к нормализации состояния пораженных тканей, что связано с изменением нервной рецепции, улучшением капиллярной микроциркуляции, уменьшением выраженности реакции лейкоцитов. Подобные положительные явления наблюдаются в случае каррагинаниндуцированного воспаления, патологические эффекты которых сохраняются более 24 часов. Для воспалительной реакции кратковременного типа, вызванной введением гистамина, трипсина и овальбумина, наблюдается противоположное действие используемого геля, связанное с противовоспалительным эффектом капсаицина в условиях физиологической нормы.

### Список использованной литературы

1. Загально-етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринолог. — 2003. — 8, № 1. — С. 142-145.
2. Стефанов О. В. Доклинические исследования лекарственных препаратов. — К.: Авиценна, 2001. — 528 с.
3. Харкевич Д. А. Фармакология: 9-е изд. — М.: Изд-во ГЭОТАР-медиа, 2006. — 664 с.
4. Bellik Y., Boukraa L., Alzahrani H. A. et al. Molecular mechanism underlying anti-inflammatory and anti-allergic activities of phytochemicals: an update // Molecules. — 2013. — 18. — P. 322-353.
5. Chen T.-L., Lin Y.-F., Cheng C.-W. Anti-inflammatory mechanism of proteinase-activated receptor 2-inhibiting peptide in human synovial cell // J. Biomed. Sci. — 2011. — 18. — doi: 10.1186/1423-0127-18-43.
6. Devesa I., Planells-Cases R., Fernandez-Ballester G. et al. Role of transient receptor potential vanilloid I in

- inflammation and sepsis // *J. Inflamm. Res.* — 2011. — 4. — P. 67-81.
7. Dray A. Mechanism of action of capsaicin-like molecules on sensory neurons // *Life Sci.* — 1992. — 51. — P. 1759-1765.
  8. Dudhatra G. B., Mody S. K., Awale M. M. et al. A comprehensive review on pharmacotherapeutics of herbal bioenhancers // *Scientific World J.* — 2012. — doi: 10.1100/2012/637953.
  9. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.* — Strasbourg: Council of Europe, 1986. — № 123. — 51 p.
  10. Gryniewicz G., Slifirski P. Curcumin and curcuminoids in quest for medical status // *Acta Biochimica Polonica.* — 2012. — 59, № 2. — P. 201-212.
  11. Izuhara K., Holgate S. T., Wills-Karp M. Inflammation and allergy drug design. — Wiley-Blackwell, 2011. — 344 p.
  12. Jolayemi A. T., Ojewole J. A. O. Comparative anti-inflammatory properties of Capsaicin and ethyl acetate extract of *Capsicum frutescens* Linn. [Solanaceae] in rats // *African Hel. Sci.* — 2013. — 13, № 2. — P. 357-361.
  13. Kwicien S., Konturek P. C., Sliwowski A. et al. Interaction between cyclooxygenase inhibitors and capsaicin-sensitive afferent sensory nerves in pathogenesis of stress-induced gastric lesion. Role of oxidative stress // *J. Physiol. Pharmacol.* — 2012. — 63, № 2. — P. 143-151.
  14. Pankar D. S., Magar N. G. New method for the determination of the capsaicin by using multi-band thin-layer chromatography // *J. Chromatogr.* — 1977. — 144. — P. 149-152.
  15. Peter-Szabo M., Kekesi G., Nagy E. et al. Quantitative characterization of a repeated acute joint inflammation model in rats // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* — 2007. — 34, № 5-6. — P. 520-526.
  16. Rao B. G., Rao P. U., Rao E. S. et al. Evaluation of *in vitro* antibacterial anti-inflammatory activity for different extracts of *Rauvolfia tetraphylla* L. root bark // *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* — 2012. — 2, № 10. — P. 818-821.
  17. Sawicka D., Car H., Borawska M. H., Niklinski J. The anticancer activity of propolis // *Folia Histochemica.* — 2012. — 50, № 1. — P. 25-37.

Получено 1.12.2013

## ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧНА АКТИВНІСТЬ ГЕЛЮ НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТИВНИХ РЕЧОВИН *CAPSICUM ANNUUM L.* ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЗАПАЛЕННІ

Ю. О. Бойко, І. А. Кравченко, М. Аят

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, 65026 Одеса

У досліджах на щурах були вивчені протизапальні властивості гелю, що містить екстракт перцю однолітнього (*Capsicum annuum L.*), із застосуванням різних моделей асептичного запалення стопи. Розвиток запального процесу оцінювали за змінами об'єму та ширини запаленої стопи. Застосування гелю на основі спиртового екстракту *Capsicum annuum L.* при каррагінаніндукованому запаленні приводило до 20 % зниження ширини й об'єму запаленої стопи вже після 1 години лікування. Нормалізація цих показників наставала на 5-у добу лікування. На відміну від дослідної групи, у контрольній групі ширина та об'єм запаленої кінцівки на 40-60 % перевершували значення до індукування запалення. Нами було показано, що використання даного гелю є ефективним у випадку гострих запальних процесів.

## PHARMACOTHERAPEUTICAL ACTIVITY OF OINTMENT BASED ON EXTRACTIVES OF *CAPSICUM ANNUUM L.* AT EXPERIMENTAL INFLAMMATION

Yu. A. Boyko, I. A. Kravchenko, M. Ayat Mohammed

I. I. Mechnikov Odessa National University, 65026 Odessa

Anti-inflammatory properties of the gel based on the extract of one-year *Capsicum annuum L.* was studied in the rats using different models of inflammation of foot. The development of inflammatory process was assessed by changes in the volume and width of the inflamed foot. The use of gel based on ethanol extract of *Capsicum annuum L.* for treatment of carrageenan-induced inflammation resulted in a 20 % decrease of the width and volume of the inflamed foot following one-hour treatment. Normalization of these indices occurred on day 5 of treatment. In control vs. experimental animals the width and volume of the inflamed foot exceeded the pre-inflammation values by 40-60 %. The use of gel was shown to be effective for treatment of acute inflammatory processes.