

УДК 615.322: 582.751: 615.273

М. О. Остапець¹, В. А. Волковой¹, А. В. Березняков², Г. П. Фоміна¹¹ Національний фармацевтичний університет² Харківський медичний університет

ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ

На сьогоднішній день вивчення фармакологічних властивостей лікарських рослин є актуальною проблемою медицини. Метою наших досліджень було проведення фармакологічного скринінгу біологічно активних речовин сухого екстракту з трави герані болотної. З урахуванням фітохімічного складу нами було вивчено гемостатичну, протизапальну та анальгетичну дію. Гемостатичну активність вивчали методом Альтгаузена, і в дозі 3 мг/кг сухий екстракт проявив найбільш виражену активність. Комплекс БАР виявив протизапальну дію на рівні референс-препарату диклофенаку натрію. Анальгетичну активність даний екстракт проявив у незначній мірі.

Ключові слова: герань болотна; біологічно активні речовини; гемостатична активність; протизапальна дія; анальгезуючий ефект

ВСТУП

Досвід багатьох поколінь доводить, що рослинний світ – це невичерпне джерело лікарських засобів, які здавна використовуються в народній медицині для лікування різних захворювань. До таких цінних рослин належить герань болотна (*G. palustre*) роду Geraniaceae. За літературними даними відомо, що сировина цієї рослини містить значну кількість біологічно активних речовин, а саме: фенольні сполуки, флавоноїди, хінони та аскорбінову кислоту [5].

Багатий хімічний склад герані болотної свідчить про багатогранність фармакологічної дії даної рослини. У Національному фармацевтичному університеті на кафедрі фармакогнозії під керівництвом доц. Крючкової Т. М. було отримано сухий екстракт з трави герані болотної. До її складу входять: сума дубильних речовин 19,75 % (гало- та елаготаніни, конденсовані таніни, вільний катехін), сполуки флавоноїдної природи 1,42 % (кемпферол, кверцетин та їх глікозиди – рутин та гіперозид), що суттєво перевищує вміст БАР у лікарської рослини з гемостатичною дією – екстрактом грициків звичайних.

Як відомо, фенольні сполуки впливають на проникність судинно-тканинних бар'єрів. Рутин, елагова кислота зменшують тривалість кровотечі, збільшують кількість Ca^{2+} в крові. Дубильні речовини, в свою чергу, викликають часткове згортання білків слизової оболонки та призводять до утворення плівки, яка захищає чутливі нервові закінчення оточую-

чих тканин, знижують поріг больової чутливості, місцево звужують судини, а також безпосередньо ущільнюють клітинні мембрани, що призводить до зменшення запальної реакції [3].

Різноманітний хімічний склад трави герані болотної може зумовлювати багатоплановість її застосування.

Мета нашої роботи – вивчення гемостатичної, протизапальної, анальгетичної активності сухого екстракту з трави герані болотної.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Протягом дослідження сухого екстракту з трави герані болотної проводилась оцінка гемостатичної, протизапальної та анальгетичної дії.

Визначення гемостатичної активності проводили за методом Альтгаузена, який базується на визначенні часу появи перших ниток фібрину. Досліди проводили на 60 нелійних щурах масою 180-205 г (в кожній групі по 6 тварин). Досліджуваний екстракт вводили перорально у вигляді водного розчину, стабілізованого твіном-80. Дію екстракту вивчали в дозах 3, 5, 7, 10 мг/кг [1].

Через 1 годину у фіксованої тварини забиравась 1 крапля крові із хвостової вени на предметне скло. Через кожні 15-20 с голкою проводили по краплі крові, фіксуючи появу перших ниток фібрину (час спонтанного згортання крові) [2, 6]. В якості препаратів порівняння вводились перорального 5 % амінокапронова кислота в дозі 100 мг/кг («Амінокапронова кислота» 5 % р-н 100 мл, Юрія-Фарм) зі стабілізатором твіном-80 та дистильованою водою в кількості

Таблиця 1

ГЕМОСТАТИЧНА АКТИВНІСТЬ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ (n = 60)

Досліджувана сполука	Доза, мг/кг	Час згортання крові, с	Скорочення часу згортання крові (% до контролю)
Контроль (очищена вода)	–	217,16 ± 1,85	100
Сухий екстракт з трави герані болотної	3	106,66 ± 0,88	49,11
	5	125,50 ± 1,26*/**/**	59,79
	7	143,17 ± 1,08*/**/**	65,93
	10	159,20 ± 1,25*/**/**	73,31
ε-Амінокапронова кислота	100	109,33 ± 1,05*	50,34
Екстракт грициків звичайних	3	186,5 ± 0,96*	85,88
	5	172,5 ± 1,26*	79,43
	7	164,50 ± 1,26*	75,75
	10	168,33 ± 1,30*	77,74

Примітки: * – достовірність результатів у відношенні контрольної групи, $p < 0,001$; ** – достовірність результатів у відношенні до препарату порівняння грициків звичайних, $p < 0,001$; *** – достовірність результатів у відношенні препарату порівняння ε-амінокапронової кислоти, $p < 0,001$.

1 мл, а також водний розчин екстракту грициків звичайних в дозах 3, 5, 7, 10 мг/кг маси.

Розрахунок гемостатичної активності проводили за формулою:

$$A = [(T_{\text{інт}} - T_{\text{експ}}) / (T_{\text{інт}} - T_{\text{пр.пор}})] \times 100\%$$

де: A – гемостатична активність, %;

$T_{\text{інт}}$ – час спонтанного згортання крові в інтактній групі тварин, с;

$T_{\text{експ}}$ – час спонтанного згортання крові в експерименті (досліджуваний екстракт в різних дозах), с;

$T_{\text{пр.пор}}$ – час спонтанного згортання крові тварин, які отримували препарат порівняння, с.

Протизапальну (антиексудативну) активність екстракту герані болотної вивчали на експериментальній моделі гострого ексудативного запалення у щурів, індукованого флогогенним агентом – карагеніном. Три серії дослідів було поставлено на 90 нелінійних щурах масою 200-230 г [4].

Сухий екстракт з трави герані болотної вводили внутрішньошлунково однократно у вигляді водного розчину за 1 годину до індукції запалення у дозі 10, 20, 30 мг/кг маси тварин. Як препарат порівняння був обраний диклофенак натрію – стандартний препарат порівняння, класичний інгібітор циклооксигенази, який вводили в його ефективній дозі 8 мг/кг («Диклофенак натрію» табл. 0,025 мг № 30 Дарниця). Інтактні тварини одержували дистильовану воду у відповідних дозах [10].

Гостре асептичне запалення відтворювали флогогеном – 1 % розчином карагеніну, який вводили субплантарно в задню стопу щура в об'ємі 0,1 мл.

Вимір об'єму стопи у щурів проводили за допомогою механічного онкометра по А. С. Захаревському: до початку дослідів, через 2 і 4 години після введення карагеніну [7].

Антиексудативну активність речовин виражали у відсотках і визначали за здатністю зменшувати на-

бряки у дослідних тварин у порівнянні з контрольними. Розрахунок проводили за формулою:

$$A = (V_k - V_d) / V_k \times 100 \%$$

де: A – антиексудативна активність;

$(V_k - V_d)$ – різниця об'ємів між ненабряклою та набряклою стопою в контролі та досліді.

Наступним етапом нашого дослідження було вивчення аналгетичної активності екстракту на 90 нелінійних щурах масою 200-220 г на моделі «оцтових корчів», в основі якої лежить хімічне больове подразнення [8].

Сухий екстракт герані болотної вводили одноразово перорально (внутрішньошлунково) у вигляді водного розчину, стабілізованого твіном-80 у дозах 20, 30, 40 мг/кг. Аналіз отриманих експериментальних даних проводили у порівнянні з препаратом анальгіном у дозі 50 мг/кг («Анальгін» табл. 0,5 мг № 10, Дарниця). Корчі викликали внутрішньоочеревинним введенням 0,6 % розчину оцтової кислоти в дозі 0,1 мл на 10 г маси. Підрахунок числа корчів вели через 15 хв після введення оцтової кислоти впродовж 30 хв. Зменшення кількості корчів у тварин у порівнянні з контролем – показник аналгетичної активності препарату [9].

Розрахунок проводили за формулою:

$$AA = ((C_k - C_o) / C_o) \cdot 100 \%$$

де: AA – аналгетична активність у %;

C_k – середня кількість корчів в контрольній групі;

C_o – середня кількість корчів у дослідній групі.

Математична обробка результатів проводилася з розрахунком t-критерію Стьюдента. Достовірною вважалася різниця показників при $p < 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження гемостатичної активності сухого екстракту з трави герані болотної представлені в табл. 1.

Таблиця 2

**АНТИЕКСУДАТИВНА АКТИВНІСТЬ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ
НА МОДЕЛІ КАРАГЕНІНОВОГО НАБРЯКУ (n = 90)**

Об'єкт дослідження	Доза, мг/кг	Приріст об'єму лапки через 2 год	У % до контролю	Протизапальна активність	Приріст об'єму лапки через 4 год	У % до контролю	Протизапальна активність
Контроль	–	12,67 ± 1,09	100,00	–	32,83 ± 1,94	100,00	–
Екстракт з трави герані болотної	10	12,33 ± 0,71*	59,70	40,30	17,00 ± 0,89*	51,78	48,22
	20	13,17 ± 0,98*	63,72	36,28	18,83 ± 1,56*/**	57,97	42,13
	30	14,17 ± 0,54*/**	68,55	31,34	20,33 ± 0,62*/**	61,93	38,08
Диклофенак натрію	8	10,50 ± 0,85*	50,80	49,20	14,67 ± 0,71*	45,65	55,35

Примітки: * – достовірність результатів у відношенні контрольної групи, $p < 0,001$; ** – достовірність результатів у відношенні препарату порівняння диклофенаку натрію, $p < 0,001$.

Таблиця 3

АНАЛГЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ

Об'єкт дослідження	Доза мг/кг	Кількість корчів за 30 хв (M ± m)	% від контролю	Аналгетична активність
Контроль	–	57,00 ± 1,07	100	–
Екстракт з трави герані болотної	20	40,70 ± 1,33*	70,70	29,53
	30	41,50 ± 1,54*	72,93	27,07
	40	44,30 ± 2,50*	77,90	22,10
Анальгін	50	29,15 ± 1,15**	50,96	49,04

Примітки: *, ** – достовірність результатів при $p < 0,05$ і $p < 0,01$ відповідно у порівнянні з контрольною групою.

Аналіз даних табл. 1 свідчить про те, що сухий екстракт з трави герані болотної викликає активацію процесу згортання крові: у дозі 3 мг/кг скорочує час згортання крові на 111 с; 5 мг/кг – на 92 с; 7 мг/кг – на 74 с; 10 мг/кг – на 58 с у порівнянні з контролем.

Встановлена гемостатична активність може бути обумовлена комплексом біологічно активних речовин, які впливають на різні ланки гемостазу та сприяють нормалізації гемокоагуляції шляхом зменшення тривалості кровотечі, збільшення іонів Ca^{2+} (за рахунок флавоноїдів). Також фенольні сполуки захищають адреналін (викликає утворення кров'яних згустків) від інактивації у кров'яному руслі.

Результати дослідження протизапальної активності сухого екстракту з трави герані болотної представлені в табл. 2.

У контрольній групі тварин, яким вводили тільки карагенін, максимум набряку стопи щурів відмічено на четвертій годині після його введення. Як показали дослідження, через 4 год після досліду антиексудативну активність виявив екстракт з трави герані болотної у дозі 10 мг/кг – 48,22 %; 20 мг/кг – 42,13 %; 30 мг/кг – 38,07 %; диклофенак натрію – 55,35 % у порівнянні з контролем.

Відомо, що карагенін як індуктор гострої фази запалення сприяє виділенню серотоніну, гістаміну (у перші 30-90 хв), кінінінів (1,5-2,5 год) та простагландинів (2,5-5,5 год). Оскільки дубильні речовини мають здатність звужувати судини, ущільнювати клі-

тинні мембрани, що, як наслідок, призводить до зменшення запальної реакції, можна припустити, що екстракт з трави герані болотної виступає як інгібітор циклооксигеназного метаболізму арахідонової кислоти.

Результати дослідження аналгетичної дії наведені в табл. 3.

Дані таблиці свідчать про слабку аналгетичну активність сухого екстракту з трави герані болотної. Досліджуваний екстракт зменшує кількість «оцтових корчів» на 29,5 %. Препарат порівняння анальгін знижує чутливість ноцицепторів на хімічний подразник на 49,04 %. Можна припустити, що механізм аналгетичної дії сухого екстракту з трави герані болотної пов'язаний зі здатністю дубильних речовин знижувати кількість простагландинів (профакторів запалення). За рахунок цього зменшується набряк і, відповідно, стискання чутливих нервових закінчень.

ВИСНОВКИ

1. Ефективна доза сухого екстракту з трави герані болотної за гемостатичною активністю складає 3 мг/кг. У цій дозі досліджуваний засіб перевищує препарат порівняння – амінокапронову кислоту в 1,03 рази, екстракт грициків звичайних в 1,54 рази.
2. Найкращу протизапальну активність на моделі карагенінового набряку (48,22 %) проявив сухий екстракт з трави герані болотної у дозі 10 мг/кг по відношенню до диклофенаку натрію.

3. Экстракт герани болотной проявил незначную анальгетичну активність (29,5 %) відповідно до препарату порівняння анальгіну (49,09 %).
- ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**
1. Долгов В. В. Лабораторная диагностика нарушенный гемостаза / В. В. Долгов, П. В. Свирич. – М., Тверь: ООО Изд-во «Триада», 2005. – 227 с.
 2. Межнева В. В. Экспериментальные исследования гемостатической активности жидких кровоостанавливающих средств / [В. В. Межнева, Н. Н. Самсонова, М. Г. Плющ и др.] // Бюл. НЦССХ. – 2007. – Т. 8, № 1. – С. 71-75.
 3. Рибак Л. М. Дослідження поліфенольних комплексів деяких видів герани флори України методом ВЕРХ / Л. М. Рибак // VII Національний з'їзд фармацевтів України: [Фармація України. Погляд у майбутнє]. Тез. доп. Харків 15-17 вересня 2010. – Т. 1. – С. 331-332.
 4. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів / О. В. Стефанов. – К.: Авіценна, 2001. – С. 292-307.
 5. Andersen Q. M. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications / Q. M. Andersen, K. R. Markham. – London: Press Taylor & Francis group, 2006. – 1197 p.
 6. Mora S. Physical activity and reduced risk of cardiovascular events potential mediating mechanism / S. Mora, N. Cook, J. Buring // Circulation. – 2007. – Vol. 116. – P. 2110-2118.
 7. Perianayagam J. B. Anti-inflammatory activity of trichodesma indicum root extract in experimental animals / J. B. Perianayagam, S. K. Sharma, K. K. Pillai // J. of Ethnopharmacol. – 2006. – Vol. 104 (3). – P. 410-414.
 8. Perianayagam J. B. Evaluation of antipyretic and analgesic activity of Emblica officinalis / J. B. Perianayagam, S. K. Sharma // J. of Ethnopharmacol. – 2004. – Vol. 95 (1). – P. 83-85.
 9. Randall L. O. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue / L. O. Randall, J. J. Sellitto // Archives International. – 2007. – № 111 (4). – P. 409-419.
 10. Shim J. U. Anti-inflammatory activity of ethanol extract from Geranium sibiricum Linne / J. U. Shim, P. S. Oh, K. T. Lim // J. of Ethnopharmacol. – 2009. – Vol. 126. – P. 5-90.

УДК 615.322: 582.751: 615.273**М. А. Остапец, В. А. Волковой, А. В. Березняков, Г. П. Фомина****ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ТРАВЫ ГЕРАНИ БОЛОТНОЙ**

На сегодняшний день изучение фармакологических свойств лекарственных растений является актуальной проблемой в медицине. Целью наших исследований было проведение фармакологического скрининга биологически активных веществ сухого экстракта травы герани болотной. С учетом фитохимического состава было изучено гемостатическое, противовоспалительное и анальгезирующее действие. Гемостатическую активность изучали методом Альтгаузена, и в дозе 3 мг/кг сухой экстракт проявил наиболее выраженную активность. Комплекс БАВ проявил противовоспалительное действие на уровне референс-препарата диклофенака натрия. Анальгетическую активность данный экстракт проявил в незначительной степени.

Ключевые слова: герань болотная; биологически активные вещества; гемостатическая активность; противовоспалительное действие; анальгезирующий эффект

UDC 615.322: 582.751: 615.273**М. А. Ostapets, V. A. Volkovoy, A. V. Bereznyakov, G. P. Fomina****STUDYING OF THE PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF DRY EXTRACT FROM THE HERB OF GERANIUM PALUSTRE**

Nowadays, studying of the pharmacological properties of medicinal plants is actual problem in medicine. The purpose of our research was pharmacological screening of biologically active substances from dry extract of geranium palustre. In view of phytochemical composition was studied haemostatic, anti-inflammatory and analgesic effect. Haemostatic activity studied by method of Althauzena and dose 3 mg/kg of dry extract showed the most pronounced activity. Complex BAS showed anti-inflammatory effect on the level of the reference drug diclofenac sodium. Analgesic activity extract showed in minor degree.

Key words: geranium palustre; biologically active substances; hemostatic activity; anti-inflammatory action; analgesic effect

Адреса для листування:
Тел. (050) 9652296.
E-mail: marina.ostapets.22@mail.ru.
М. А. Остапец

Надійшла до редакції
29.12.2014 р.