

**Е. Р. Гарсия<sup>1</sup>, Д. И. Поздняков<sup>2</sup>, А. А. Шамилов<sup>1</sup>, Д. А. Коновалов<sup>1</sup>**

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолгГМУ,

<sup>1</sup> кафедра фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов,

<sup>2</sup> кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии

## ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ И АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ТРАВЫ ТАТАРНИКА КОЛЮЧЕГО

УДК 582.998.1:615.322:615.276

В работе описаны результаты оценки острой токсичности, противовоспалительной активности на моделях острого и хронического воспаления, анальгетической активности водно-спиртовых извлечений и сока из травы татарника колючего *Onopordum acanthium* L. Извлечения и сок можно отнести к 5-му классу химической опасности по GSH-классификации. Установлена выраженная противовоспалительная активность водно-спиртового (экстрагент – спирт этиловый 40%-й) и водного извлечений, а также сока из свежей травы татарника колючего [уменьшение каррагинан-индуцированного отека конечности крыс на 33,2 % ( $p < 0,05$ ); 22,3 % ( $p < 0,05$ ) и 29,5 % ( $p < 0,05$ ) соответственно]. Те же объекты снижали выраженность фаз экссудации [на 57,3 % ( $p < 0,05$ ); 54,3 % ( $p < 0,05$ ) и 48,9 % ( $p < 0,05$ ) соответственно] и пролиферации [на 52,7 % ( $p < 0,05$ ); 38,7 % ( $p < 0,05$ ) и 43,8 % ( $p < 0,05$ ) соответственно]. В условиях формалиновой гипералгезии у крыс на фоне применения водно-спиртового (экстрагент – спирт этиловый 40%-й), водного извлечений и сока татарника отмечено повышение порога болевой чувствительности.

*Ключевые слова:* токсичность, противовоспалительная и активность, трава татарника колючего.

**E. R. Garsiya, D. I. Pozdnyakov, A. A. Shamilov, D. A. Konovalov**

## ANTI-INFLAMMATORY AND ANALGESIC ACTIVITIES OF EXTRACTS FROM ONOPORDUM ACANTHIUM HERB

The paper describes the results of assessing acute toxicity, anti-inflammatory activity on models of acute and chronic inflammation, antioxidant activity of water-alcohol extracts and juice from the herb of *Onopordum acanthium* L. Extracts and juice can be attributed to the 5th class of chemical hazard according to the GSH classification, there is a pronounced anti-inflammatory activity of 40 % of alcohol and water extracts, as well as juice from fresh herb of the *Onopordum acanthium* (reduction of carrageenan-induced edema of the limb of rats by 33,2 % ( $p < 0,05$ ); 22,3 % ( $p < 0,05$ ) and 29,5 % ( $p < 0,05$ ), respectively). The same objects reduced the severity of exudation phases (by 57,3 % ( $p < 0,05$ ); 54,3 % ( $p < 0,05$ ) and 48,9 % ( $p < 0,05$ ), respectively) and proliferation (by 52,7 % ( $p < 0,05$ ); 38,7 % ( $p < 0,05$ ) and 43,8% ( $p < 0,05$ ), respectively). At the model of modulation of formalin-evoked hyperalgesia water-alcohol extracts (40 % ethanol), water extract and juice were increased pain threshold.

*Key word:* toxicity, anti-inflammatory and activity, *Tartarus prickly grass*.

В медицинской практике лекарственные растения используют самостоятельно или в виде сборов, получая водные извлечения. Отвары или настои из лекарственного растительного сырья (ЛРС) содержат комплекс биологически активных веществ (БАВ), таких как полисахариды, дубильные вещества, органические кислоты, а также фенольные и терпеновые соединения. Надземная часть татарника колючего *Onopordum acanthium* L. из семейства *Asteraceae* используется в народной медицине как противовоспалительное средство, известны противоопухолевые свойства этого растения. Исследования *in vitro* доказывают способность извлечений из надземной части, полученных экстракцией сырья органическими растворителями, оказывать ингибирующее действие на

ферменты воспаления (ЦОГ-1 и ЦОГ-2, НО-синтазу, 5-ЛОГ) [7]. Предложено использование спиртовой настойки, полученной с помощью спирта этилового 70%-го из травы татарника колючего, в качестве иммуномодулирующего и противоопухолевого средства [7]. Противоопухолевая активность может быть связана с влиянием на ферменты апоптоза, такие как каспаза-3 и каспаза-9 [6]. N. M. Abuharfeil с соавт. [2] показали активность водного извлечения листьев и стеблей татарника колючего в отношении клеток лимфомы YAC. Обезболивающий эффект сухого остатка из бутанольного извлечения проявлялся на 76,57 % при введении животным дозы 400 мг/кг в сравнении с аспирином (86,29 % ингибирования спазмов в дозе 500 мг/кг) [3].

Таким образом, комплексное исследование основных видов активности, известных для наземной части татарника колючего, может способствовать увеличению терапевтического потенциала данного лекарственного растения.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести фармакологический скрининг водного, водно-спиртовых извлечений и свежего сока из травы татарника колючего.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали воздушно-сухую траву татарника колючего, собранную в фазу массового цветения на перевале Гумбаши (Карачаевский район, Карачаево-Черкесская Республика, август 2019 г.). Около 15,0 г (точная навеска) ЛРС с размером частиц, проходящих сквозь сита с диаметром отверстий 1 мм, экстрагировали спиртом этиловым 95-, 70-, 40 %-м и водой очищенной, беря каждый раз новую навеску сырья. Экстракцию проводили на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 2 часов при соотношении сырье : экстрагент 1 : 50. Охлажденные до комнатной температуры извлечения фильтровали через бумажный фильтр «желтая лента» и концентрировали при пониженном давлении на ротационном испарителе Qyre-2A (Qiyu Industrial (Shanghai) Co., Ltd.) до получения сухого остатка. Далее эти остатки обозначены как ЭТ95, ЭТ70, ЭТ40 и ЭТВ соответственно. Свежий сок получали из свежесобранной травы согласно ОФС.1.5.3.0013.18 «Определение содержания сока в свежем лекарственном растительном сырье» [1]. Его обозначили как СТ.

Эксперимент проводили на 30 мышам-самцах линии Balb/c весом 20–22 г и 230 крысах-самцах линии Wistar массой 220–240 г (питомник лабораторных животных «Рапполово», Ленинградская область), которые предварительно прошли карантин в течение 14 дней. Содержание и проводимые с животными манипуляции соответствовали международным стандартам экспериментальной этики Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the council on the protection of animals used for scientific purposes, September 22, 2010.

Оценка токсичности изучаемых извлечений в остром эксперименте осуществлялась с применением метода «Up and Down» на мышам-самцах линии Balb/c (OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS № 425, 17 December, 2001). Согласно данному руководству извлечения и сок вводили в дозе 2000 мг/кг *per os* (тест предельно переносимой дозы).

Противовоспалительная активность определялась в условиях острой и хронической воспалительной реакции на крысах линии Wistar. Было сформировано 8 равных экспериментальных групп крыс по 10 особей. Первая группа животных – интактные крысы. Вторая группа животных – негативный контроль (НК), с воспроизведенным патологическим процессом, но лишенная фармакологической поддержки (вводили бидистиллированную воду в эквивалентном количестве). Третья группа крыс получала референтный препарат диклофенак («Ортофен», Татхимфармпрепараты, РФ) в дозе 6,8 мг/кг [9]. Группы животных № 4 – 8 получали исследуемые объекты в дозе 1/100 от LD<sub>50</sub>.

Противовоспалительную активность исследуемых извлечений и сока татарника оценивали на модели каррагинанового отека лапы у крыс [8, 12].

Хроническое пролиферативное воспаление моделировали методом фетровой гранулемы. При этом оценивали выраженность экссудативной и пролиферативной фаз воспаления [10].

Анальгетические свойства изучали на модели формалиновой гипералгезии у крыс [5, 11].

Статистическую обработку полученных результатов производили с применением программного пакета STATISTICA 6.0 (StatSoft, США). Данные выражали в виде  $M \pm SEM$ . Статистически значимые отличия между группами в *in vivo* тестировании определяли методом однофакторного дисперсионного анализа с пост-тестом Ньюмена – Кейсла.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке «острой токсичности» исследуемых извлечений и сока татарника было установлено, что при введении животным изучаемых объектов в дозе 2 000 мг/кг последовательной гибели 3 мышей отмечено не было. В связи с этим согласно рекомендациям OECD № 425 за величину LD<sub>50</sub> для изучаемых извлечений принимали значение 2 000 мг/кг.

Таким образом, исследуемые водно-спиртовые (экстрагент – спирт этиловый 95-, 70-, 40%-й), водное извлечения и сок татарника можно отнести к 5-му классу химической опасности по GSH-классификации (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) Part 3 Health Hazards, United Nations, 2017).

Результаты оценки снижения воспаления в опыте острой воспалительной реакции представлены на рис. 1.

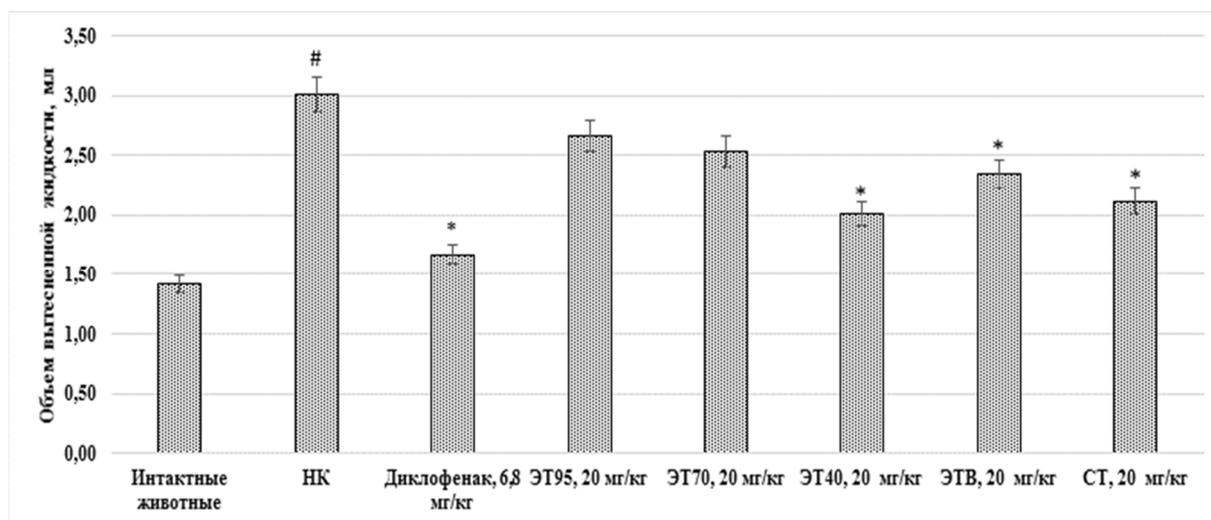


Рис. 1. Влияние исследуемых извлечений татарника и диклофенака на течение острого каррагинан-индуцированного воспаления:

# – статистически значимо относительно интактных животных ( $p < 0,05$ , критерий Ньюмена – Кейсла); \* – статистически значимо относительно НК группы крыс ( $p < 0,05$ , критерий Ньюмена – Кейсла). НК – контрольная группа мышей; ЭТ95 – спиртовое извлечение (экстрагент – спирт этиловый 96%-й) татарника; ЭТ70 – водно-спиртовое извлечение (экстрагент – спирт этиловый 70%-й) татарника; ЭТ40 – водно-спиртовое извлечение (экстрагент – спирт этиловый 40%-й) татарника; ЭТВ – водное извлечение татарника; СТ – сок татарника

Применение диклофенака способствовало уменьшению интенсивности острой воспалительной реакции у крыс на 44,5 % ( $p < 0,05$ ) относительно НК группы животных. На фоне ведения крысам изучаемых сухих остатков из извлечений татарника ЭТ40 и ЭТВ отмечено снижение объема вытесненной жидкости в онкометрическом тесте по отношению к группе животных, лишенных фармакологической поддержки, на 33,2 % ( $p < 0,05$ ) и 22,3 % ( $p < 0,05$ ) соответственно; при применении сока татарника отмечено снижение острой воспалительной реакции на 29,5 % ( $p < 0,05$ ). При этом статистически значимых отличий между группами

крыс, получавших диклофенак и исследуемый сухой остаток из извлечения ЭТ40 в дозе 20 мг/кг, установлено не было, в то время, как на фоне применения сухих остатков из извлечений ЭТ95, ЭТ70, ЭТВ и сока татарника воспалительный отек конечности был выше аналогичного у животных, получавших диклофенак, на 59,2 % ( $p < 0,05$ ); 51,5 % ( $p < 0,05$ ); 40,1 % ( $p < 0,05$ ) и 26,9 % ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Результаты оценки противовоспалительного действия изучаемых сухих остатков из извлечений татарника в условиях хронической воспалительной реакции представлены в таблице.

#### Влияние исследуемых сухих остатков из извлечений татарника и диклофенака на течение экссудативной и пролиферативной фаз в условиях хронического воспаления

Группа	Экссудация, мг $\pm$ SEM	Пролиферация, мг $\pm$ SEM
Интактные животные	–	–
НК	668 $\pm$ 0,026	58,4 $\pm$ 7,781
Диклофенак, 6,8 мг/кг	217,21 $\pm$ 8,955*	24,12 $\pm$ 2,063*
ЭТ95, 20 мг/кг	551,37 $\pm$ 9,765	50,17 $\pm$ 1,432
ЭТ70, 20 мг/кг	512,25 $\pm$ 7,939	59,54 $\pm$ 1,704
ЭТ40, 20 мг/кг	285,28 $\pm$ 9,828*	27,61 $\pm$ 2,311*
ЭТВ, 20 мг/кг	305,23 $\pm$ 9,261*	35,78 $\pm$ 2,217*
СТ, 20 мг/кг	341,12 $\pm$ 8,467*	32,83 $\pm$ 1,283*

Примечание: \* – статистически значимо относительно НК группы крыс ( $p < 0,05$ , критерий Ньюмена – Кейсла). Обозначение экспериментальных групп аналогичны рис. 1.

В группе крыс, получавших диклофенак, отмечено снижение экссудативной и пролиферативной фаз воспалительной реакции по отношению к НК группе животных на 67,5 % ( $p < 0,05$ ) и 58,7 % ( $p < 0,05$ ) соответственно. При этом, введение крысам сухих остатков из спиртового (экстрагент – спирт этиловый 95%-й) и водно-спиртового (экстрагент – спирт этиловый 70%-й) извлечений из татарника значимого влияния на течение хронического воспалительного процесса не оказало. Применение сухого остатка из водно-спиртового (экстрагент – спирт этиловый 40%-й) и водного извлечений татарника у животных отмечено сниже-

ние экссудации по отношению к группе крыс, лишенных фармакологической поддержки, на 57,3 % ( $p < 0,05$ ) и 54,3 % ( $p < 0,05$ ), при этом пролиферативная фаза воспаления у данных групп животных уменьшилась на 52,7 % ( $p < 0,05$ ) и 38,7 % ( $p < 0,05$ ) соответственно. При применении сока татарника отмечено снижение (относительно НК группы крыс) интенсивности экссудативной и пролиферативной фаз воспаления на 48,9 % ( $p < 0,05$ ) и 43,8 % ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Результаты оценки анальгетической активности изучаемых извлечений татарника представлены на рис. 2.

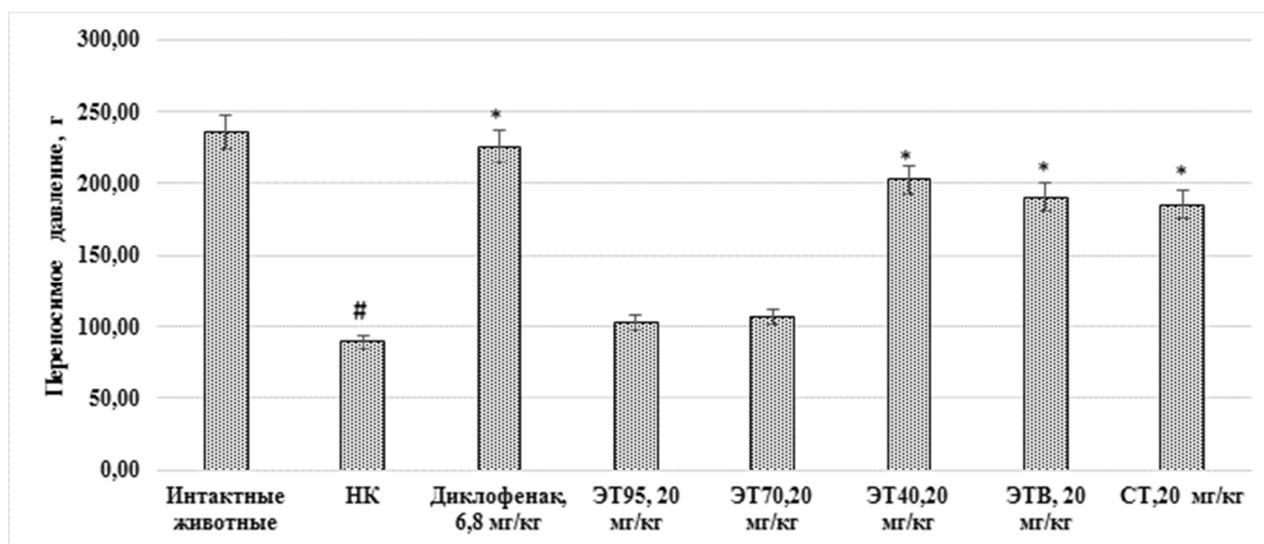


Рис. 2. Влияние исследуемых извлечений татарника и диклофенака на изменение порога болевой чувствительности у крыс в условиях формалиновой гипералгезии:

# – статистически значимо относительно интактных животных ( $p < 0,05$ , критерий Ньюмена – Кейсла); \* – статистически значимо относительно НК группы крыс ( $p < 0,05$ , критерий Ньюмена – Кейсла). Обозначение экспериментальных групп аналогичны рис. 1

У НК группы крыс, в сравнении с интактными животными, установлено снижение порога болевой чувствительности в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ). На фоне введения крысам диклофенака отмечено увеличение (по сравнению с НК группой крыс) порога болевого восприятия у животных в 2,3 ( $p < 0,05$ ). В то же время применение сухого остатка из водно-спиртового (экстрагент – спирт этиловый 40%-й), водного извлечений, а также сока татарника способствовало повышению переносимости животными болевого раздражения по отношению к группе животных, лишенных фармакологической поддержки в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ); 2,1 раза ( $p < 0,05$ ) и 2,08 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно. При этом при введении крысам сухих остатков из извлечений ЭТ96 и ЭТ70 статистически значимого изменения болевого порога у животных относительно НК группы крыс отмечено не было, но болевое

восприятие у крыс было выше аналогичного у животных, получавших диклофенак – в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ) и 2,1 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно. Также порог болевой чувствительности у крыс при применении сухих остатков из извлечений ЭТ96 и ЭТ70 был выше такового у животных, которым вводили сухие остатки из извлечения ЭТ40, в 2,0 раза ( $p < 0,05$ ) и 1,9 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты экспериментов *in vivo* с извлечениями из травы татарника колючего свидетельствуют о выраженной противовоспалительной и анальгетической активности водно-спиртового (экстрагент – спирт этиловый 40%-й) и водного извлечений, а также сока из свежего сырья. Извлечения уменьшали воспалительный процесс как в модели острого воспаления, так и

хронического пролиферативного воспаления. Полученные данные свидетельствуют о перспективе дальнейшего изучения механизмов действия извлечений из татарника колючего, в том числе полученных из свежего сырья.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Патент № 2356566 Российская Федерация: МПК7 А 61 К 36/28, А 61 Р 35/00, А 61 Р 37/02. Лекарственное средство, обладающее противоопухолевым и иммуномодулирующим действием : № 2008108161/15 ; заявл. 04.03.08 ; опубл. 27.05.09, / В. И. Михайлов, А. Г. Одинец, В. Г. Сбежнева. – Бюл. № 15. – 6 с. – Текст : непосредственный.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. В 4 т. – 14 изд. – М. : МЗ РФ, 2018. Текст : электронный. – URL : <http://femb.ru/femb/pharmacosrea.php>.
3. *Передерий Е. А., Юнусова И. А.* // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2018. – Т. 17, № 3. – С. 26 – 30.
4. *Abuharfeil N. M., Maraqa A., Von Kleist S.* // J. Ethnopharmacol. – 2000. – Vol. 71. – P. 55 – 63. – Direct text.
5. *Deuis J. R., Dvorakova L. S., Vetter I.* // Front Mol Neurosci. – 2017. – Vol. 10. – P. 284. – Direct text.
6. *Habibatni S., Zohra A. F., Khalida H. [et al.]* // Int. J. Phytomed. – 2017. – Vol. 9. – P. 92 – 100. – Direct text.
7. *Lajter I.; Pan S. P., Nikles S. [et al.]* // Planta Med. – 2015. – Vol. 81. – P. 1270 – 1276. – Direct text.
8. *Meir R., Schuler W., Desaulles P.* // Experientia. – 1950. – Vol. 6. – P. 469–471. – Direct text.
9. *Molnár J., Szebeni G. J., Csupor-Löffler B. [et al.]* // Int. J. Mol. Sci. – 2016. – Vol. 17. – P. 83. – Direct text.
10. *Nakamura H, Shimizu M* // Eur J Pharmacol. – 1974. – Vol. 27(2). – P. 198-205. – Direct text.
11. *Santos-Nogueira E., Redondo Castro E., Mancuso R., Navarro X.* // J Neurotrauma. – 2012. – Vol. 29, № 5. – P. 898 – 904. – Direct text..
12. *Zouari Bouassida K, Makni S, Tounsi A. [et al.]* // Biomed Res Int. – 2018. – Vol. 2018. – 11 p. – Direct text.