Рекомендована д.м.н., професором А.І.Березняковою

УДК 615.254.1:615.28:616-089.811:577.127.4:581.45:582.734.3

НОВІ ВИДИ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ФЛАВОНОЇДІВ ІЗ ЛИСТЯ ГЛОДУ ЗІГНУТОЧАШЕЧКОВОГО

С.Ю.Штриголь, А.А.Титова, І.Л.Дикий, Л.Ф.Силаєва

Національний фармацевтичний університет

У дослідах на щурах встановлено, що сума флавоноїдів із листя глоду зігнуточашечкового володіє виразною діуретичною дією, пов'язаною в основному з підвищенням швидкості клубочкової фільтрації. На моделі глобальної церебральної ішемії досліджуваний препарат не проявляє інтегральної захисної дії, але вдвічі зменшує ранню летальність. Виявлена антимікробна дія суми флавоноїдів глоду до культур Staphylococcus aureus, Esherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Klebsiella pneumonia, Proteus mirabilis і Candida albicans.

Препарати рослин роду Глід, як правило плодів і квітів, застосовуються головним чином при серцево-судинних захворюваннях [3, 6, 12]. У народній, а також науковій медицині використовуються й інші частини глоду — листя, кора, молоді пагони [4-6], причому коло показань значно ширше: лихоманка, жовчно-кам'яна хвороба з жовтухою, захворювання печінки та нирок. Триває відкриття нових видів цієї рослини [10], удосконалюються методи її фармакохімічних досліджень [11].

З фармакологічних ефектів препаратів глоду добре відомі кардіотонічний та антиаритмічний. Окрім того, водні та спиртові витяжки з квітів, листя і плодів ряду видів глоду, які містять велику кількість біологічно активних речовин [2], виявляють антимікробну активність [8].

У наших попередніх дослідженнях [7] встановлена кардіопротекторна та антиаритмічна дія екстракту з листя глоду зігнуточашечкового, який являє собою суму С-моноглікозидів і С-О-біозидів флавонів, а також О-глікозидів флавонолів. Беручи до уваги притаманний флавоноїдам широкий спектр біологічної активності, який передбачає антибактеріальну дію, можна припустити, що сумарний флавоноїдний екстракт із листя глоду володіє й іншими фармакологічними властивостями.

Мета теперішньої роботи — з'ясувати вплив суми флавоноїдів із листя глоду зігнуточашечкового на видільну функцію нирок, на виживання в умовах моделі церебральної ішемії у щурів, а також розширити спектр даних про антимікробні властивості досліджуваного препарату.

Матеріали та методи

Досліди здійснені на 40 безпородних щурах-самцях масою 250-300 г. Ренальні ефекти флавоноїдів із листя глоду вивчали в дослідах на 6 інтактних щурах з використанням методу водного діурезу. Тваринам вводили через зонд у шлунок водопровідну воду (3% від маси тіла), розміщували їх у обмінні (метаболічні) клітки і збирали сечу протягом 2 годин, з'ясовуючи вихідний стан видільної функції нирок. Потім щоденно протягом 5 днів вводили у шлунок досліджуваний екстракт із листя глоду у вигляді 0,4% водного розчину у дозі 20 мг/кг [7], після чого повторювали дослідження функції нирок і забивали щурів. Для евтаназії використовували летальні дози етамінал-натрію. У пробах сечі і сироватки крові визначали вміст креатиніну на колориметрі-нефелометрі КФК-2МП (реакція Яффе), натрію і калію на аналізаторі рідини ПАР-3 (фотометрія полум'я). Розраховували показники швидкості клубочкової фільтрації (за ендогенним креатиніном), канальцевої реабсорбції, а також екскрецію електролітів [9].

Глобальну церебральну ішемію моделювали перев'язуванням обох спільних сонних артерій (наркоз — етамінал-натрій 40 мг/кг) [9]. Напередодні операції 10 щурам вводили екстракт із листя глоду за вищеописаним протоколом. Контрольну групу склали 24 щури, котрим замість досліджуваного екстракту вводили у шлунок воду у відповідному об'ємі.

Статистичну важливість внутрішньогрупових відмінностей показників (до і після експериментальної дії) визначали за парним критерієм t Вілкоксона; для оцінки результатів, виявлених в альтернативній формі (виживання — загибель), застосовували критерій χ^2.

Антибактеріальну активність сумарного флавоноїдного препарату з листя глоду зігнуточашечкового оцінювали методом дворазових розведень у бульйоні Хоттінгера (pH 7,2-7,4, вміст амінного нітрогену — 120 мг%). У пробірки з відповідними розведеннями досліджуваних зразків вносили бактеріальні драглі, які отримували змивом агарової однодобової культури 0,9% фізіологічним розчином з наступною стандартизацією за оптичним

Таблиця 1

Вплив флавоноїдів із листя глоду зігнуточашечкового на видільну функцію нирок у щурів (M±m, n=6)

Показники	Вихідний стан	Після введення флавоноїдів із листя глоду
Діурез, мл / 100 г за 2 год	1,75±0,39	3,14±0,20*
Виведення водного навантаження, %	59,0±12,0	105,0±7,0*
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/хв на 100 г	0,78±0,07	1,20±0,18*
Реабсорбція води, %	98,10±0,37	97,60±0,24
Фільтраційний заряд натрію, мкмоль/хв на 100 г	113,0±11,1	149,0±13,8*
Реабсорбція натрію, %	98,30±0,42	96,90±0,36*
Екскреція натрію, мкмоль/100 г за 2 год	22,5±6,9	69,8±16,1*
Екскреція калію, мкмоль/100 г за 2 год	36,7±7,4	80,8±13,6*
Коефіцієнт Na/K у сечі	0,62±0,19	0,91±0,18*

Примітка.* — вірогідні ($p<0,05$) відмінності з вихідним станом

стандартом каламутності на 5 ОД. Мікробне навантаження склало 10^5-10^6 мікробних клітин у 1 мл середовища. Пробірки інкубували при 37°С протягом 18 годин, після чого визначали рівень бактеріостатичної дії зразків. Максимальне розведення зразка у пробірці з відсутністю росту культури оцінювали як мінімальну пригнічуючу ріст мікроба концентрацію (МПК). При визначенні антигрибкової активності використовували той же метод, але замість бульйону Хоттінгера використовували бульйон Сабуро. Посіви інкубували протягом доби у термостаті при 37°С для визначення антибактеріальної активності і при 27°С — для визначення антигрибкової активності. Паралельно проводили дослідження с галеновою спиртовою настойкою, настоєм (напаром), а також настойкою з листя глоду зігнуточашечкового і відваром із плодів глоду, отриманих із лікарської рослинної сировини за методикою ДФ XI [1].

Як тест-культуру використовували Staphylococcus aureus ATCC 25923; Esherichia coli ATCC 25922; Pseudomonas aeruginosa ATCC 97853; Bacillus subtilis ATCC 6633; Klebsiella pneumoniae клін. 18146; Proteus mirabilis клін. 18163; Candida albicans ATCC 885-653.

Результати та їх обговорення

Сума флавоноїдів із листя глоду зігнуточашечкового свідчить про виразну діуретичну дію (табл. 1). Об'єм сечовиведення та ефективність виведення водного навантаження статистично значно зростали в середньому на 78-79%. Діуретичний ефект обумовлений значним (у середньому на 54%) зростанням швидкості клубочкової фільтрації у всіх експериментальних тварин, що пов'язано з вазоактивними властивостями флавоноїдів і посиленням кровопостачання нирок. Участь канальцевого механізму у гідроуретичному ефекті була менш виразною і постійною (реабсорбція води зменшувалась на 0,5-1,5% тільки у 3 щурів з 6, в інших випадках вона залишалась незмінною, і різниці з вихідним рівнем виявились невірогідними). Екскреція натрію зростала у середньому у 3,1 рази, калію — у 2,2 рази. Натрійуретична дія обумовлена не тільки достовірним зростанням фільтраційного заряду натрію у середньому на 32%, але і гальмуванням його канальцевого транспорту (на відміну від води, реабсорбція натрію зменшувалась більш виразно). Привертає увагу зростання коефіцієнта Na/K у сечі, що, можливо, вказує на послаблення мінералокортикоїдного контролю дистальних канальців.

На моделі церебральної ішемії профілактичне введення флавоноїдної суми листя глоду не мало інтегральної захисної дії, про що свідчить відсутність збільшення виживання щурів (табл. 2). Але рання летальність тварин, які отримували екстракт глоду, зменшувалась у порівнянні з контролем (за першу добу — з 58% до 30%, тобто у 2 рази, за другу — з 62% до 50%, тобто у 1,2 рази, надалі різниця нівелювалась). Даний ефект може зумовлюватися зменшенням виразності ішемії і набряком головного мозку, що потребує спеціального вивчення. Він, можливо, залишає більше шансів на успіх лікувального застосування цереброваскулярних і нейрометаболічних препаратів, а також засобів для зменшення набряку головного мозку, а у ранньому періоді порушення мозкового кровообігу. Однак дане припущення потребує експериментальної перевірки.

Як видно з табл. 3, сумарний флавоноїдний препарат із листя глоду виявив антибактеріальну

Таблиця 2

Вплив профілактичного введення флавоноїдів із листя глоду зігнуточашечкового на виживання щурів із моделлю глобальної церебральної ішемії

Умови досліду	Кількість щурів	Виживання				
		1-ша доба	2-га доба	3-тя доба	4-та доба	5-6-та доба
Контроль	24	10 (42%)	9 (38%)	8 (33%)	7 (29%)	7 (29%)
Флавоноїди із листя глоду	10	7 (70%)	5 (50%)	4 (40%)	4 (40%)	3 (30%)

Таблиця 3

Порівняльна антибактеріальна активність сумарного флавоноїдного і екстемпоральних препаратів із листя глоду

Тест-штам	МПК, мг/мл		
	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3
S. aureus ATCC 25923	10	12	12
E. coli ATCC 25922	80	25	12
P. aeruginosa ATCC 97853	80	не активний	не активний
B. subtilis ATCC 6633	20	25	25
K. pneumonia клін. 18146	10	не активний	не активний
P. mirabilis клін. 18163	20	не активний	не активний
C. albicans ATCC 885-653	20	не активний	не активний

Примітка. МПК — мінімальна пригнічуюча концентрація, зразок 1 — сумарний флавоноїдний екстракт із листя глоду зігнуточашечкового, зразок 2 — настій із листя глоду зігнуточашечкового, виготовлений за методикою ДФXI, зразок 3 — настій (напар) із листя глоду зігнуточашечкового.

активність по відношенню до використаних тест-штамів. При цьому рівень антибактеріальної активності коливався у широких межах: від більш виразної у відношенні культур S. aureus і K. pneumoniae (10 мг/мл) до незначної щодо культур E. coli, P. aeruginosa (80 мг/мл). Настій, виготовлений за методикою ДФ XI, і настій (напар) із листя глоду зігнуточашечкового були активними лише по відношенню до культур S. aureus, E. coli і B. subtilis. Галеновий препарат — настойка з плодів і відвар із плодів глоду не виявляв антибактеріальної активності по відношенню до використаних у дослідах тест-штамів.

ВИСНОВКИ

1. Доведено, що сумарний флавоноїдний препарат із листя глоду зігнуточашечкового володіє виразною діуретичною дією, у механізмі якої важливу роль відіграє зростання швидкості клубочкової фільтрації.

2. У дослідах на щурах з моделлю глобальної церебральної ішемії показано, що досліджуваний препарат глоду не підвищує загальне виживання, але знижує ранню летальність.

3. Встановлена антимікробна дія суми флавоноїдів із листя глоду зігнуточашечкового по відношенню до культур Staphylococcus aureus, Esherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis і Candida albicans.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.*
2. *Даудова Т.Н., Абдуллатипова Д.М., Ахмедов М.Э. и др. // Хранение и переработка сельхозсырья. — 1999. — №7. — С. 34-35.*
3. *Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2-х т. — Т.1. — М.: ООО "Изд-во Новая Волна", 2001. — 408 с.*
4. *Пат. 19740509 Германия, МПК^6 А 61 К 35/78 / Belz G., Berndt D., Hempel B. — №19740509.6 — Заявл.: 15.09.1997. Опубл.: 18.03.1999.*
5. *Пат. 6910308 США, МПК^6 А 61 К 35/78, А 61 К 9/20 / D'Jang A.H.K. — №08/905128. — Заявл.: 01.08.1997. Опубл.: 08.06.1999.*
6. *Су Сон Ге // Флора и растительные ресурсы Забайкалья: Матер. междунар. конф. — Чита, 1997. — Т. 2. — С. 217-218.*
7. *Титова А.А., Зупанець І.А., Батюк В.С., Матлахова Л.А. // Вісник фармації. — 1995. — №1-2. — С. 90-93.*
8. *Чхве Тхесоп. Лекарственные растения. — М.: Медицина, 1987. — 608 с.*
9. *Штрыголь С.Ю. Исследование модуляции фармакологических эффектов при различных солевых режимах: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2000. — 37 с.*
10. *Lance R.W., Rhipps J.B. // Castanea. — 2000. — Vol. 65, №4. — P. 291-296.*
11. *Rohr G.E., Meier B., Sticher O. // Chromatogr. A. — 1999. — №1-2. — P. 59-65.*
12. *Zankl F. // Oesterr. Forstztg. — 1998. — Vol. 109, №6. — S. 32-33.*

УДК 615.254.1:615.28:616-089.811:577.127.4:581.45:582.734.3

НОВЫЕ ВИДЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ БОЯРЫШНИКА ОТОГНУТОЧАШЕЛИСТИКОВОГО

С.Ю.Штрыголь, А.А.Титова, И.Л.Дикий, Л.Ф.Силаева

В опытах на крысах установлено, что сумма флавоноидов из листьев боярышника отогнуточашелистикового обладает выраженным мочегонным действием, связанным в основном с повышением скорости клубочковой фильтрации. На модели глобальной церебральной ишемии исследуемый препарат не проявляет интегрального защитного действия, но вдвое уменьшает раннюю летальность. Выявлено антимикробное действие суммы флавоноидов боярышника в отношении культур Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis и Candida albicans.

UDC 615.254.1:615.28:616-089.811:577.127.4:581.45:582.734.3

NEW TYPES OF BIOLOGICAL ACTION OF FLAVONOIDS FROM CRATAEGUS CURVISEPALA LEAVES

S.Yu.Shtrygol, A.A.Titova, I.L.Dikiy, L.F.Silayeva

Experiments on rats were determined the possession of pronounced diuretic action by total number of flavonoids from leaves of Crataegus curvisepala because of glomerular filtration rate rising. On global cerebral ischemia model the researching preparation didn't show integral protective action but halved early lethality. Antimicrobic action by total flavonoids from leaves of Crataegus curvisepala was revealed to cultures Staphylococcus aureus, Esherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis and Candida albicans.