

І. І. Герасимець¹, В. Д. Фіра¹, І. І. Медвідь¹, І. М. Грубник², Л. С. Фіра¹

¹ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ

²НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ МЕДИЧНИЙ ІНСТИТУТ НАЦІОНАЛЬНОГО ТЕХНІЧНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ "ХАРКІВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ"

ВИВЧЕННЯ АНТИЕКСУДАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ГРИБІВ РЕЙШИ

Вступ. Проблема лікування запального процесу є важливим завданням сьогодення, адже нестероїдні протизапальні засоби при тривалому прийманні можуть призвести до ерозій слизової оболонки шлунка, дванадцятипалої кишки, негативно вплинути на нирки та серце. Тому пошук і створення нових препаратів природного походження, які будуть проявляти протизапальну й антиексудативну дію, є актуальними.

Мета дослідження – вивчити антиексудативну активність сухого екстракту з грибів рейши в експерименті на білих щурах з індукованим карагеніновим набряком лапи.

Методи дослідження. Експериментальну роботу виконано на білих безпородних щурах-самцях масою 190–230 г. Гостре асептичне запалення моделювали шляхом субплантарної ін'єкції 0,1 мл 1 % розчину карагеніну. Сухий екстракт із грибів рейши вводили внутрішньошлунково в дозі 100 мг/кг маси тіла тварини одноразово за 1 год до введення флогогену. Вимірювали об'єм лап щурів через 1, 3, 6 та 24 год за допомогою механічного онкометра. Антиексудативну активність досліджуваного екстракту визначали за ступенем зменшення набряку лапи тварин. Як препарат порівняння було обрано диклофенак натрію, який вводили в дозі 8 мг/кг маси тіла щура.

Результати й обговорення. Встановлено, що сухий екстракт із грибів рейши в дозі 100 мг/кг маси тіла тварини проявляє виражену антиексудативну активність на моделі карагенінового набряку лапи щура. Максимальний об'єм набряку лапи тварин було зафіксовано на 3-тю год після введення карагеніну, він перевищував такий у контрольних тварин у 2,8 раза. Максимальну антиексудативну активність досліджуваного екстракту, яка становила 43,69 %, відмічено на 24-ту год від введення флогогену. Препарат порівняння теж проявив виражену протизапальну дію з максимальною активністю наприкінці дослідження – 48,58 %.

Висновки. Доведено, що сухий екстракт із грибів рейши проявляє виражену антиексудативну активність на моделі гострого запалення, індукованого введенням карагеніну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: сухий екстракт; гриби рейши; карагеніновий набряк; антиексудативна активність.

ВСТУП. Можливість купівлі препарату без рецепта лікаря в Україні призводить до того, що багато людей самостійно вирішують, який засіб приймати, в якій дозі та з якою частотою. І в цьому криється небезпека, оскільки для кожного лікарського засобу існують певні протипоказання та обмеження до застосування [1].

Щорічно у світі виписують близько 500 млн рецептів на нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), натомість реальна кількість хворих, які приймають їх без лікарського контролю, в кілька разів більша. Передбачається, що частота використання НПЗЗ у майбутньому буде неухильно зростати, чому сприяють старіння населення (регулярно їх приймають 10–20 % популяції віком

>65 років), безконтрольний вільний доступ до безрецептурних препаратів, широке застосування аспірину як антиагреганта [2–4].

Тому актуальним є пошук нових дієвих протизапальних засобів, насамперед препаратів природного походження. До переваг застосування таких препаратів належать менша кількість побічних ефектів відносно препаратів синтетичного походження, різноманітний фітохімічний склад, можливість їх комбінування, застосування із синтетичними засобами [5–7].

Гриби рейши (*Ganoderma lucidum*) уже тисячі років використовують у традиційній медицині Сходу, оскільки вони проявляють численні лікувальні властивості. Гриби рейши мають великий потенціал як природний протизапальний засіб завдяки наявності в їх складі полісахаридів,

тритерпеноїдів та біологічно активних речовин з антиоксидантними властивостями [8, 9].

Мета дослідження – вивчити антиексудативну активність сухого екстракту з грибів рейши в експерименті на білих щурах з індукованим карагеніновим набряком лапи.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом нашого дослідження був сухий екстракт із грибів рейши (СЕГР). Його виготовили на кафедрі фармакогнозії та нутриціології Національного фармацевтичного університету для наукових досліджень, і він пройшов стандартизацію відповідно до вимог ДФУ за стероїдними сполуками. Експериментальну роботу проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 190–230 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Протизапальну активність екстракту з грибів рейши вивчали під час ексудативної фази гострого асептичного запального процесу, викликаного введенням 0,1 мл 1 % розчину карагеніну [10, 11].

Досліджуваний екстракт вводили внутрішньошлунково в дозі 100 мг/кг маси тіла тварини у профілактичному режимі одноразово за 1 год до субплантарного введення карагеніну. Щурам групи контрольної патології (КП) вводили еквівалентну кількість питної води. Через 1, 3, 6 та 24 год вимірювали об'єм кінцівок тварин за допомогою механічного онкометра [12, 13]. Величину набряку розраховували за різницею між об'ємами незапаленої та запаленої кінцівок. Про антиексудативну активність СЕГР судили за ступенем зменшення набряку лапи щурів порівняно з тваринами, яким корекції не проводили.

Як референс-препарат було обрано диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг, який є класичним протизапальним засобом та впливає на всі фази запального процесу, неселективно інгібуючи циклооксигенази [12].

Дослідження проводили згідно з вимогами належної лабораторної практики (GLP) та біо-

етики відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [8]. Експериментальну роботу схвалила Етична комісія Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (витяг з протоколу № 77 від 18.04.2024 р.).

Отримані результати піддавали статистичній обробці за допомогою програми STATISTICA 13 (TIBCO Software Inc., 2018). Для статистичного аналізу результатів використовували параметричні та непараметричні методи оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували середнє арифметичне вибірки (M) та похибку середнього арифметичного (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними значеннями визначали за критерієм Манна – Уїтні. Різницю між значеннями вважали ймовірною при $p < 0,05$ [14].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Модель карагенінового набряку лапи щурів є стандартною для оцінки протизапальних властивостей нових лікарських засобів. В основі патогенезу запального процесу на цій моделі в перший період (через 0,5–1,5 год) лежить участь гістаміну та серотоніну, далі в реакцію вступають кініні і, наостанок, простагландини [12, 15, 16]. Встановлено, що субплантарне введення 1 % розчину карагеніну викликало достовірне збільшення об'єму лапи щурів уже через 1 год у 2,1 раза. Максимальний розвиток запальної реакції та набряк лапи тварин відмічали через 3 год після ін'єкції флоготропного агента. Так, через 3 год після введення карагеніну об'єм лапи щурів збільшився у 2,8 раза відносно контролю (табл.).

У групі щурів, яким вводили СЕГР, реєстрували достовірну позитивну динаміку протягом усього дослідження. Антиексудативна активність екстракту з грибів рейши наприкінці експерименту становила 43,69 %. Саме в цей період спостерігали максимальний позитивний вплив СЕГР – зменшення об'єму лапи щурів у 1,8 раза порівняно з тваринами групи КП.

Таблиця – Протизапальна активність сухого екстракту з грибів рейши на моделі карагенінового набряку лапи щурів ($M \pm m$, $n=40$)

Група тварин		Динаміка розвитку запалення, години				
		до введення карагеніну	1	3	6	24
КП	ΔV	3,33±0,12	7,07±0,13*	9,23±0,19*	8,17±0,20*	7,76±0,23*
СЕГР, 100 мг/кг	ΔV	3,38±0,17	5,16±0,19***	6,26±0,20***	5,01±0,15***	4,37±0,13***
	Активність, %		27,02	32,18	38,68	43,69
Диклофенак натрію, 8 мг/кг	ΔV	3,42±0,14***	4,62±0,23***	5,28±0,23***	4,43±0,18***	3,99±0,15***
	Активність, %		34,65	42,80	45,78	48,58

Примітки: ΔV – величина набряку; * – достовірні зміни між показниками до та після введення карагеніну; *** – достовірні зміни між показниками тварин, яким вводили карагенін, та лікованих тварин ($p < 0,05$).

Препарат порівняння проявив високу ефективність уже на 1-й год від початку моделювання запалення. У тварин, які отримували диклофенак натрію, починаючи з 3-ї год дослідження і до кінця експерименту, протизапальна активність перебувала на рівні 42–48 % (див. табл.).

Антиексудативну активність екстракту з грибів рейши можна пояснити наявністю в їх складі високого вмісту фенольних сполук і три-терпеноїдів, які чинять інгібуючий вплив на прозапальні цитокіни.

ВИСНОВКИ. 1. Субплантарне введення 1 % розчину екзогенного флогогену карагеніну білим

щурам призвело до достовірного збільшення об'єму лапи тварин в усі терміни дослідження з піком на 3-тю год розвитку патології.

2. Отримані результати досліджень підтверджують виразну антиексудативну і протизапальну активність сухого екстракту з грибів рейши. Доведено, що найвищу активність досліджуваного екстракту проявив наприкінці експерименту, зменшуючи об'єм лапи щурів у 1,8 раза порівняно з тваринами контрольної патології.

3. Екстракт із грибів рейши можна рекомендувати для подальшого вивчення з метою створення на його основі препаратів з антиексудативною і протизапальною дією.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Wangler J. Attitudes, attributions, and usage patterns of primary care patients with regard to over-the-counter drugs—a survey in Germany / J. Wangler, M. Jansky // *Wien Med Wochenschr.* – 2024. – Mar; **174** (3–4). – P. 61–68. DOI: 10.1007/s10354-022-00967-6. Epub 2022 Sep 23. PMID: 36149587; PMCID: PMC10896805.

2. COX-1 Inhibitors: Beyond Structure Toward Therapy / P. Vitale, A. Panella, A. Scilimati [et al.] // *Med Res Rev.* – 2016. – Jul; **36** (4). – P. 641–671. DOI: 10.1002/med.21389. Epub 2016 Apr 25. PMID: 27111555.

3. COX 2-inhibitors; a thorough and updated survey into combinational therapies in cancers / P. Rodrigues, H. Bangali, A. Hammoud [et al.] // *Med Oncol.* – 2024. – Jan 2; **41** (1). – P. 41. DOI: 10.1007/s12032-023-02256-7. PMID: 38165473.

4. Formulation of Entandrophragma utile into an Herbal Emulgel for the Management of Inflammation / A. T. Kola-Mustapha, H. F. Ibraheem, S. Taiwo [et al.] // *Gels.* – 2023. – Dec 6; **9** (12). – P. 956. DOI: 10.3390/gels9120956. PMID: 38131942; PMCID: PMC10743270.

5. Medicinal plants with anti-inflammatory activities / F. Maione, R. Russo, H. Khan [et al.] // *Nat Prod Res.* – 2016. – Jun; **30** (12). – P. 1343–1352. DOI: 10.1080/14786419.2015.1062761. Epub 2015 Jul 29. PMID: 26221780.

6. Molecular pharmacology of inflammation: Medicinal plants as anti-inflammatory agents / S. Tasneem, B. Liu, B. Li [et al.] // *Pharmacol Res.* – 2019. – Jan; **139**. – P. 126–140. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.11.001. Epub 2018 Nov 3. PMID: 30395947.

7. Colalto C. What phytotherapy needs: Evidence-based guidelines for better clinical practice / C. Colalto // *Phytother Res.* – 2018. – Mar; **32** (3). – P. 413–425. DOI: 10.1002/ptr.5977. Epub 2017 Nov 28. PMID: 29193357.

8. Герасимець І. І. Дослідження ефективності застосування сухого екстракту з грибів рейши за умов доброякісної гіперплазії передміхурової залози у

щурів / І. І. Герасимець, Л. С. Фіра, І. І. Медвідь // *Мед. та клініч. хімія.* – 2023. – **25**, № 3 (97). – С. 82–87.

9. The study of prostate-protective effect of dry extract from reishi mushrooms on the model of testosterone-induced prostatic hyperplasia / Iryna Herasymets, Liudmila Fira, Ihor Medvid [et al.] // *Pharmakeftiki.* – 2023 – **35**, Issue 4. – P. 71–81.

10. Fehrenbacher J. C. Models of Inflammation: Carrageenan Air Pouch / J. C. Fehrenbacher, K. E. McCarrson // *Curr Protoc.* – 2021. – Aug; **1** (8). – P. e183. DOI: 10.1002/cpz1.183. PMID: 34370402.

11. The role of inflammation in a rat model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension induced by carrageenan / D. Wu, Y. Chen, W. Wang [et al.] // *Ann Transl Med.* – 2020. – Apr; **8** (7). – P. 492. DOI: 10.21037/atm.2020.02.86. PMID: 32395536; PMCID: PMC7210127.

12. Пида В. П. Вивчення протизапальної активності сухого екстракту з листя салату посівного / В. П. Пида, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький // *Мед. та клініч. хімія.* – 2018. – **20**, № 3 (76). – С. 57–62.

13. The anti-inflammatory effect of tedizolid on carrageenan-induced footpad edema rat model / N. Isobe, V. T. G. Chuang, X. Liu [et al.] // *J Infect Chemother.* – 2023. – Nov; **29** (11). – P. 1088–1090. DOI: 10.1016/j.jiac.2023.07.007. Epub 2023 Jul 14. PMID: 37453465.

14. Citation bias favoring statistically significant studies was present in medical research / A. S. Jannot, T. Agoritsas, A. Gayet-Ageron [et al.] // *J Clin Epidemiol.* – 2013. – **66** (3). – P. 296–301. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2012.09.015.

15. Effect of stretching on inflammation in a subcutaneous carrageenan mouse model analyzed at single-cell resolution / L. Berrueta, D. Muñoz-Vergara, D. Martin [et al.] // *J Cell Physiol.* – 2023 Dec; **238** (12). – P. 2778–2793. DOI: 10.1002/jcp.31133. Epub 2023 Nov 1. PMID: 37909412; PMCID: PMC10773986.

16. Попадинець О. Г. Вивчення протизапальної активності та гострої токсичності екстрактів сосни звичайної / О. Г. Попадинець, А. Р. Грицик, Т. П. Мандзій // *Фармац. журн.* – 2017. – № 3–4. – С. 89–96.

REFERENCES

1. Wangler, J., Jansky, M. (2024) Attitudes, attributions, and usage patterns of primary care patients with regard to over-the-counter drugs—a survey in Germany. *Wien Med Wochenschr*, 174(3-4), 61-68. DOI: 10.1007/s10354-022-00967-6. Epub 2022 Sep 23. PMID: 36149587; PMCID: PMC10896805.
2. Vitale, P., Panella, A., Scilimati, A., Perrone, M.G. (2016). COX-1 inhibitors: beyond structure toward therapy. *Med Res Rev*, Jul;36(4), 641-71. DOI: 10.1002/med.21389. Epub 2016 Apr 25. PMID: 27111555.
3. Rodrigues, P., Bangali, H., Hammoud, A., Mustafa, Y.F., Al-Hetty, H.R.A.K., Alkhafaji, A.T., Deorari, M.M., Al-Tae, M.M., Zabibah, R.S., Alsalamy, A. COX 2-inhibitors; a thorough and updated survey into combinational therapies in cancers. *Med Oncol*, 41(1), 41. DOI: 10.1007/s12032-023-02256-7. PMID: 38165473.
4. Kola-Mustapha, A.T., Ibraheem, H.F., Taiwo, S., Ishola, I.O., Usman, S.O., Ghazali, Y.O. (2023). Formulation of entandrophragma utile into an herbal emulgel for the management of inflammation. *Gels*, 6;9(12), 956. DOI: 10.3390/gels9120956. PMID: 38131942; PMCID: PMC10743270.
5. Maione, F., Russo, R., Khan, H., Mascolo, N. (2016). Medicinal plants with anti-inflammatory activities. *Nat Prod Res*, 30(12), 1343-52. DOI: 10.1080/14786419.2015.1062761. Epub 2015 Jul 29. PMID: 26221780.
6. Tasneem, S., Liu, B., Li, B., Choudhary, M.I., Wang, W. (2019). Molecular pharmacology of inflammation: Medicinal plants as anti-inflammatory agents. *Pharmacol Res*, 139, 126-140. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.11.001. Epub 2018 Nov 3. PMID: 30395947.
7. Colalto, C. (2018). What phytotherapy needs: Evidence-based guidelines for better clinical practice. *Phytother Res*, 32(3), 413-425. DOI: 10.1002/ptr.5977. Epub 2017 Nov 28. PMID: 29193357.
8. Herasymets, I., Fira, L., Medvid, I. (2023). Study of the effectiveness of use of dry extract from reishi mushrooms under the conditions of benign prostatic hyperplasia in rats. *Medical and clinical chemistry*, 3, 82-87. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2023.i1.13737 [in Ukrainian].
9. Herasymets, I., Fira, L., Medvid, I., Mykhalkiv, M., Ivanusa, I., Diadiun, T. (2023). The study of prostate-protective effect of dry extract from reishi mushrooms on the model of testosterone-induced prostatic hyperplasia. *Pharmakeftiki*, 35(4), 71-81.
10. Fehrenbacher, J.C., McCarson, K.E. (2021). Models of inflammation: carrageenan air pouch. *Curr Protoc*, 1(8), e183. DOI: 10.1002/cpz1.183. PMID: 34370402.
11. Wu, D., Chen, Y., Wang, W., Li, H., Yang, M., Ding, H., Lv, X., Lian, N., Zhao, J., Deng, C. (2020). The role of inflammation in a rat model of chronic thromboembolic pulmonary hypertension induced by carrageenan. *Ann Transl Med*, 8(7), 492. DOI: 10.21037/atm.2020.02.86. PMID: 32395536; PMCID: PMC7210127.
12. Pyda, V.P., Fira, L.S., Lykhatskyi, P.H. (2018). Study of anti-inflammatory activity of dry extract from lettuce leaves. *Medical and clinical chemistry*, 20(3), 57–62 [in Ukrainian].
13. Isobe, N., Chuang, V.T.G., Liu, X., Enoki, Y., Taguchi, K., Matsumoto, K. (2023). The anti-inflammatory effect of tedizolid on carrageenan-induced footpad edema rat model. *J Infect Chemother*, 29(11), 1088-1090. DOI: 10.1016/j.jiac.2023.07.007. Epub 2023 Jul 14. PMID: 37453465.
14. Jannot, A.S., Agoritsas, T., Gayet-Ageron, A., Perneger, T. V. (2013). Citation bias favoring statistically significant studies was present in medical research. *J Clin Epidemiol*, 66(3), 296-301. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2012.09.015.
15. Berrueta, L., Muñoz-Vergara, D., Martin, D., Thompson, R., Sansbury, B.E., Spite, M., Badger, G.J., Langevin, H.M. (2023). Effect of stretching on inflammation in a subcutaneous carrageenan mouse model analyzed at single-cell resolution. *J Cell Physiol*, 238(12), 2778-2793. DOI: 10.1002/jcp.31133. Epub 2023 Nov 1. PMID: 37909412; PMCID: PMC10773986.
16. Popadynetsj, O.H., Hrytsyk, A.R., Mandziy, T.P. (2017). Study of anti-inflammatory activity and acute toxicity of Scots pine extracts. *Pharmaceutical journal*, (3-4), 89-96 [in Ukrainian].

Отримано 26.04.2024

Адреса для листування: І. І. Герасимець, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: irunaherasymets@gmail.com.

I. I. Herasymets¹, V. D. Fira¹, I. I. Medvid¹, I. M. Hrubnyk², L. S. Fira¹

¹I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

²SCIENTIFIC EDUCATIONAL MEDICAL INSTITUTE OF THE NATIONAL TECHNICAL UNIVERSITY "KHARKIV POLYTECHNIC INSTITUTE"

STUDY OF ANTI-EXUDATIVE ACTIVITY OF DRY EXTRACT FROM REISHI MUSHROOMS

Summary

Introduction. The problem of treating inflammatory process is an important task today, because long-term use of non-steroidal anti-inflammatory drugs can lead to erosion of the mucous membrane of the stomach, duodenum,

and negatively affect the kidneys and heart. Therefore, the search and creation of new drugs of natural origin that will exhibit anti-inflammatory and anti-exudative effects is relevant.

The aim of the study – to study the anti-exudative activity of dry extract from reishi mushrooms in an experiment on white rats with carrageenan-induced paw edema of animals.

Research Methods. The experimental work was performed on white outbred male rats weighing 190–230 g. Acute aseptic inflammation was modeled by subplantar injection of 0.1 ml of 1 % carrageenan solution. The dry extract of reishi mushrooms was administered intragastrically at a dose of 100 mg/kg of the animal's body weight once, one hour before phlogogen administration. The volume of rat paws was measured after 1, 3, 6 and 24 h using a mechanical oncometer. The anti-exudative activity of the studied extract was determined by the degree of reduction of animal paw edema. Diclofenac sodium was chosen as a comparison drug, which was administered at a dose of 8 mg/kg of rat body weight.

Results and Discussion. It was established that the dry extract of reishi mushrooms at a dose of 100 mg/kg of the animal's body weight exhibits pronounced antiexudative activity in the rat paw carrageenan edema model. The maximum swelling volume of the paw of the animals was recorded 3 hours after the introduction of carrageenan and was 2.8 times greater than that of the control group of animals. The maximum antiexudative activity of the studied extract, which was 43.69 %, was noted 24 hours after the introduction of phlogogen. The comparison drug also showed a pronounced anti-inflammatory effect, with maximum activity at the end of the study – 48.58 %.

Conclusion. It has been proven that the dry extract from reishi mushrooms exhibits pronounced anti-exudative activity in the model of acute inflammation induced by the introduction of carrageenan.

KEY WORDS: **dry extract; reishi mushrooms; carrageenan edema; antiexudative activity.**