

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ СУХОГО ЕКСТРАКТУ ЗІ ШПИНАТУ ГОРОДНЬОГО ЛИСТЯ

© А. Я. Никифорок¹, В. Д. Фіра², П. Г. Лихацький², Л. С. Фіра²

Ужгородський національний університет¹

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України²

РЕЗЮМЕ. Досліджено протизапальну активність сухого екстракту зі шпинату городнього листа в дозі 100 мг/кг маси тіла на моделі карагенінового набряку лапи щурів. Отримані дані можуть бути використані для створення нових протизапальних засобів рослинного походження.

Мета дослідження – вивчити протизапальні властивості сухого екстракту зі шпинату городнього листа на моделі карагенінового набряку лапи щурів.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на білих щурах-самцях масою 180–250 г, які були поділені на 3 групи по 6 тварин у кожній. В усіх тварин запальний набряк викликали шляхом введення 0,1 мл 1 % розчину карагеніну під апоневроз підшви задньої лапи щура. Одній із груп щурів сухий екстракт зі шпинату городнього листа вводили внутрішньошлунково у профілактичному режимі одноразово за 1 год до індукції запалення у дозі 100 мг/кг маси тварини. Контрольні тварини отримували відповідний об'єм води. Ще одна група тварин як препарат порівняння отримувала диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг. Ступінь вираження запального процесу оцінювали за збільшенням об'єму ураженої кінцівки, який вимірювали до введення флогогену та через 1, 3, 6 та 24 години після введення флоготропного агента за допомогою механічного онкометра. Результати досліджень піддавали статистичному аналізу за допомогою статистичної програми Statistica 6.0 з використанням параметричного критерію Стюдента та непараметричного критерію Вілкоксона для зв'язаних вибірок. Зміни вважали вірогідними при $p \leq 0,05$.

Результати. Дослідження з вивчення протизапальної активності сухого екстракту зі шпинату городнього листа показали, що у групі тварин, яким вводили тільки розчин карагеніну, максимальний об'єм набряку лапи (в 2,3 раза більший у порівнянні з початковим розміром) був зареєстрований на третю годину після введення флогогену. Протизапальна активність сухого екстракту у цей термін становила 21,80 %, через 24 год після введення карагеніну протизапальна активність його була на рівні 29,5%. Протизапальна активність диклофенаку натрію становила 38 % протягом усіх термінів дослідження.

Висновки. Результати проведених досліджень свідчать про помірну протизапальну активність сухого екстракту зі шпинату городнього листа, який найбільш активно пригнічує розвиток набряку лапи щурів через 24 години.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: сухий екстракт; шпинату городнього листа; карагеніновий набряк; протизапальна активність; диклофенак натрію; білі щури.

Вступ. Відомо, що природні антиоксиданти різної хімічної будови мають протизапальні властивості, як при зовнішньому, так і при внутрішньому застосуванні. Окрім того, препарати рослинного походження містять речовини, які беруть участь в обмінних процесах людини, що дозволяє застосовувати їх при хронічних захворюваннях, які супроводжуються запаленням, протягом тривалого часу [1].

Однією з груп лікарських препаратів, які найчастіше використовують у терапії запальних захворювань, є нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) [2]. Але відомо, що попри клінічну ефективність використання НПЗЗ має певні обмеження, які можна пояснити серйозними побічними ефектами та ускладненнями, пов'язаними з механізмом їх дії [3]. В основі механізму дії більшості НПЗЗ лежить властивість інгібувати синтез в організмі простагландинів шляхом блокади ензимів ЦОГ обох типів: ЦОГ1 і ЦОГ2 [4]. У результаті цього блокуються реакції арахідонового каскаду та порушується синтез простагландинів, тромбоксану A2, простагландину, лейкотрієнів, пригнічується агрегація тромбо-

цитів [5]. На жаль, позитивний вплив НПЗЗ супроводжується великою кількістю побічних ефектів (ульцерогенна дія, бронхоспастичні реакції, пригнічення тканинного метаболізму тощо), що суттєво обмежує можливість їх застосування [4].

Використання фітопрепаратів дає можливість зменшити або повністю запобігти проявам традиційних побічних ефектів.

За даними літератури, шпинат городній має різноманітний вміст біологічно активних речовин. Насамперед це флавоноїди, вітаміни, мінеральні речовини та карбонові кислоти [6, 7]. Він є багатим джерелом вітамінів А, С, Е, К, макро- та мікроелементів (магнію, марганцю, заліза) [8]. У шпинаті відмічено значний вміст карбонових кислот, яким притаманний широкий діапазон фармакологічної активності. Надземні частини шпинату містять рутин, гіперозид, астрагалін, кофеїнову, хлорогенну та неохлорогенну кислоти [8]. Шпинат дуже багатий на вміст флавоноїдів: кверцетин; міріцитин; кампеферол [9]. У роботі Jaime L. та співавт. [10] було вивчено вплив каротиноїдів та фенольних сполук на антиоксидантні та протизапальні влас-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення тивості екстрактів шпинату. Доведено, що фенольні сполуки шпинату мають високу антиоксидантну активність, тоді як каротиноїди виявляють вищу протизапальну активність.

Враховуючи різноманітний хімічний склад усіх органів шпинату городнього та його широке застосування в народній медицині, ми вважали за доцільне вивчити протизапальну активність екстракту з листя рослини в експерименті.

Метою дослідження було вивчити протизапальні властивості сухого екстракту зі шпинату городнього листя на моделі карагенінового набряку лапи щурів.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальні дослідження проводили на білих щурах-самцях масою 180–250 г, які перебували на звичайному режимі харчування, поділених на 3 групи по 6 тварин у кожній. В усіх тварин запальний набряк викликали шляхом введення ін'єкційним способом 0,1 мл 1 % розчину карагеніну під апоневроз підшви задньої лапи щура (контрольні тварини) [11]. Одній із груп щурів досліджуваний зразок сухого екстракту зі шпинату городнього листя (СЕШЛ) вводили внутрішньошлунково у профілактичному режимі одноразово за 1 год до індукції запалення у дозі 100 мг/кг маси тварини. Ще одна група тварин як препарат порівняння отримувала диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг, який вважають еталонним протизапальним засобом. Ступінь вираження запального процесу оцінювали за збільшенням об'єму ураженої кінцівки, який вимірювали до введення флогогену та через 1, 3, 6 та 24 години після введення флоготропного агента за допомогою механічного онкометра. Ступінь пригнічення набряку під дією препаратів визначали у порівнянні з тваринами, які не отримували дослідний екстракт (відповідно до методичних рекомендацій ФК МОЗ України) [12].

Протизапальну ефективність екстракту розраховували за формулою:

$\% \text{ пригнічення запалення} = (V_k - V_0) / V_k \cdot 100 \%$, де V_k – середнє збільшення об'єму набряклої лапи в контролі; V_0 – середнє збільшення об'єму набряк-

лої лапи у тварин, які отримували екстракт.

Усі дослідження проводили з дотриманням усіх правил роботи з хребетними тваринами [13].

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою програми "STATISTICA 6,0" з використанням параметричного критерію Стюдента. Зміни вважали вірогідними при $p < 0,05$ [14].

Результати й обговорення. Запальний процес є поширеним симптомом багатьох захворювань людини, в розвитку якого важлива роль належить міграції лейкоцитів у мікроциркуляторному руслі тканин. Такі медіатори запалення, як інтерлейкін-1, фактор некрозу пухлин, фактор активації тромбоцитів, цитокіни, лейкотрієн В4 та простагландини відіграють основну роль у реалізації запального процесу [15].

Дослідження потенційних протизапальних засобів проводяться з урахуванням патогенезу запальних захворювань (ексудація, альтерація) [12]. Тому, при доклінічному вивченні фармакологічних ефектів потенційних протизапальних засобів, одним із інформативних критеріїв їх активності є дослідження протинабрякових властивостей на різних моделях ексудації [16].

У представленому дослідженні для вивчення протизапальних властивостей екстракту зі шпинату городнього листя проведено визначення його антиексудативної активності за умов розвитку експериментального запального процесу з використанням моделі карагенінового запалення стопи у щурів.

Перевагами даного методу є те, що він дозволяє оцінити вплив об'єктів на циклооксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти, а також є одним з найточніших методів вивчення протизапальних властивостей.

Дослідження, які проведені з вивчення протизапальної активності СЕШЛ показали, що у контрольній групі тварин, яким вводили тільки розчин карагеніну, максимальний об'єм набряку лапи (в 2,3 раза більший у порівнянні з початковим розміром) був зареєстрований на третю годину після введення флогогену (табл. 1).

Таблиця 1. Протизапальна активність сухого екстракту зі шпинату городнього листя ($M \pm m$; $n=18$)

Групи тварин		Динаміка розвитку запалення, години				
		до введення флогогену	1 год	3 год	6 год	24 год
Контрольні тварини	ΔV	3,70±0,06	6,07±0,22*	8,50±0,20*	7,83±0,19*	7,13±0,32*
Сухий екстракт, 100 мг/кг	ΔV	3,75±0,05	5,80±0,35*	6,65±0,40*#	5,55±0,25*#	5,03±0,30*#
	Активність, %		4,50	21,80	29,10	29,50
Диклофенак натрію, 8 мг/кг	ΔV	3,70±0,08	5,30±0,16*#	5,27±0,14*#	5,00±0,09*#	4,43±0,14*#
	Активність, %		12,70	38,00	36,10	37,90

Примітка. ΔV – величина набряку; * – відхилення показника вірогідне по відношенню до контрольної групи, $p < 0,05$; # – відхилення показника тварин з корекцією по відношенню до показника щурів з карагеніновим набряком (не лікованих).

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

На максимальному піку запалення (3 год) у щурів, які отримували СЕШЛ, набряк зменшився в 1,3 раза. У групі тварин, які отримували препарат порівняння диклофенак натрію, об'єм лапи зменшився у цей термін у 1,6 раза. Протизапальна активність сухого екстракту в цей термін становила 21,80 %, препарату порівняння – 38 %.

На 6 та 24 години дослідження ефективність застосування сухого екстракту була максимальною і відмічалась майже на одному і тому ж рівні. Цей показник склав 29,10–29,50 % відповідно.

Через 6 годин після застосування СЕШЛ набряк зменшився, але величина лапи тварин ще перевищувала початковий розмір у середньому в 1,5 раза. До кінця експерименту (24 год) набряк ще більше зменшився, але перевищував початковий об'єм лапи в 1,3 раза після застосування дослідного екстракту.

У тварин, які отримували диклофенак натрію, починаючи з 3-ї години дослідження до кінця експерименту протизапальна активність трималась на рівні 36–38 % (рис. 1).

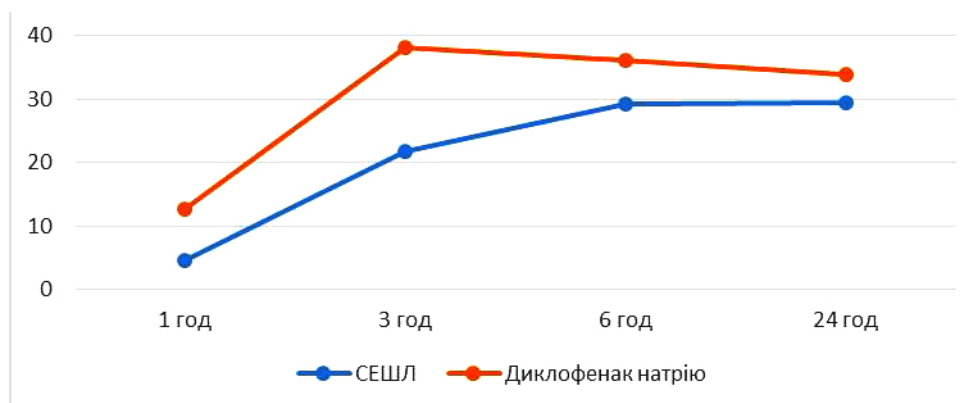


Рис. 1. Протизапальна активність сухого екстракту зі шпинату городнього листа та диклофенаку натрію на моделі карагенінового набряку лапи щурів, %

Установлено, що при карагеніновому набряку, який характеризується циклооксигеназним шляхом запалення, сухий екстракт зі шпинату городнього листа проявив антиексудативну дію протягом усього експерименту.

Найбільше пригнічення набряку спостерігали через 24 год з моменту введення флогогенного агента, що свідчило про вплив даного екстракту на медіатори запалення – простагландини.

Висновки. 1. Досліджено протизапальну активність сухого екстракту зі шпинату городнього листа на експериментальній моделі карагенінового набряку лапи у щурів.

2. Встановлено антиексудативну активність екстракту, яка реєструється уже через 3 год після

введення флогогену. Максимальну ефективність проявив екстракт через 6 та 24 год розвитку запалення, що становить 29,10–29,50 % відповідно проти 36,10–37,90% у диклофенаку натрію.

3. Результати проведених досліджень свідчать про помірну протизапальну активність сухого екстракту зі шпинату городнього листа, який найактивніше пригнічує розвиток набряку лапи щурів через 24 години. Досліджуваний екстракт за наявності значної кількості біологічно активних речовин, зокрема, фенольних сполук та каротиноїдів, ймовірно, інгібує процеси утворення прозапальних цитокінів, що зумовлює його антиексудативну активність.

ЛІТЕРАТУРА

1. Попадинець О. Г. Вивчення протизапальної активності та гострої токсичності екстрактів сосни звичайної / О. Г. Попадинець, А. Р. Грицик, Т. П. Мандзій // Фармацевтичний журнал. – 2017. – № 3–4. – С. 89–96.
2. Overview of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in resource limited countries / C. N. Fokunang, E. T. Fokunang, K. Frederick [et al.] // MOJ Toxicol. – 2018. – No. 4 (1). – P. 5–13.
3. A test of positive suggestions about side effects as a way of enhancing the analgesic response to NSAIDs / A. Fer-

- andez, I. Kirsch, L. Noël [et al.] // PLoS One. – 2019. – No. 14 (1). – e0209851.
4. Пида В. П. Вивчення протизапальної активності сухого екстракту з листа салату посівного / В. П. Пида, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький // Медична та клінічна хімія. – 2018. – № 20 (3). – С. 57–62.
5. Ricciotti E. Prostaglandins and inflammation / E. Ricciotti, G. A. FitzGerald // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2011. – No. 31 (5). – P. 986–1000.
6. Jiraungkoorskul W. Review of neuro-nutrition used as anti-alzheimer plant, spinach, Spinacia oleracea / W. Ji-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення
gaungkoorskul // Pharmacognosy Reviews. – 2016. – No. 10 (20). – P. 105–108.

7. Physico-chemical amino acid composition, fatty acid profile, functional and antioxidant properties of *Spinacia oleracea* L. / G. Narsing Rao, G. Prabhakara Rao, G. Sulochanamma [et al.] // Journal of Food and Pharmaceutical Sciences. – 2015. – No. 3. – P. 27–37.

8. Metha D. Pharmacological activity of *spinacia oleracea* linn. – a complete overview / D. Metha, S. Belemkar // Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development. – 2014. – No. 2 (1). – P. 83–93.

9. Sultana B. Flavonols (kampeferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants / B. Sultana, F. Anwar // Food Chem. – 2008. – No. 108 (3). – P. 879–884.

10. Extraction of functional ingredients from spinach (*Spinacia oleracea* L.) using liquid solvent and supercritical CO₂ extraction / L. Jaime, E. Vázquez, T. Fornari [et al.] // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2014. – No. 95 (4). – P. 722–729.

REFERENCES

1. Popadinets, O.G., Hrytskyk, A.R., & Mandziy, T.P. (2017). Vychennya protyzapalnoyi aktyvnosti ta hostroyi toksychnosti ekstraktiv sosny zvychnoyi [Study of anti-inflammatory activity and acute toxicity of pine extracts]. *Farmatsevtichnyy zhurnal – Pharmaceutical Journal*, 3-4, 89-96 [in Ukrainian].

2. Fokunang, C.N., Fokunang, E.T., Frederick, K., Ngameni, B., & Ngadjui, B. (2018). Overview of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in resource limited countries. *MOJ Toxicol*, 4(1), 5-13.

3. Fernandez, A., Kirsch, I., Noël, L., Rodondi, P.Y., Kaptchuk, T.J., Suter, M.R., Décosterd, I., & Berna, C. (2019). A test of positive suggestions about side effects as a way of enhancing the analgesic response to NSAIDs. *PLoS One*, 14(1), e0209851.

4. Pyda, V.P., Fira, L.S., & Lykhatsky, P.G. (2018). Vychennya protyzapalnoyi aktyvnosti sukhoho ekstraktu z lystya salatu posivnoho [Study of anti-inflammatory activity of dry extract from lettuce leaves]. *Medychna ta klinichna khimiya – Medical and Clinical Chemistry*, 20(3), 57-62 [in Ukrainian].

5. Ricciotti, E., & FitzGerald, G.A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 31(5), 986-1000.

6. Jiraungkoorskul, W. (2016). Review of neuro-nutrition used as anti-alzheimer plant, spinach, *Spinacia oleracea*. *Pharmacognosy Reviews*, 10(20), 105-108.

7. Narsing, Rao G., Prabhakara, Rao P.G., Sulochanamma, G., & Satyanarayana, A. (2015). Physico-chemical amino acid composition, fatty acid profile, functional and antioxidant properties of *Spinacia oleracea* L. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 3, 27-37.

8. Metha, D., & Belemka, S. (2014). Pharmacological activity of *spinacia oleracea* linn. – a complete overview.

11. Фармакологічне вивчення протизпальної активності і гострої токсичності настойки складної «Атерофіт-норма» / К. О. Хохлова, Л. І. Вишневська, О. І. Набока [та ін.] // Укр. Мед. альманах. – 2012. – Т. 15 (5). – С. 60–62.

12. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. член-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2001. – С. 263–261.

13. Gross D. Ethics in Animal-Based Research / D. Gross, R. Tolba // *Eur. Surg. Res.* – 2015. – No. 55 (1-2). – P. 43–57.

14. Okeh U. Statistical problems in medical research / U. Okeh // *East. Afr. J. Public. Health.* – 2009. – No. 6 (1). – P. 1–7.

15. Sansbury B. E. Resolution of acute inflammation and the role of resolvins in immunity, thrombosis, and vascular biology / B. E. Sansbury, M. Spite // *Circ. Res.* – 2016. – No. 119 (1). – P. 113–130.

16. Anti-inflammatory effects of red pepper (*Capsicum baccatum*) on carrageenan- and antigen-induced inflammation / F. Spiller, M. K. Alves, S. M. Vieira [et al.] // *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* – 2008. – No. 60 (4). – P. 473–478.

Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development, 2(1), 83-93.

9. Sultana, B., & Anwar, F. (2008). Flavonols (kampeferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chem.*, 108(3), 879-84.

10. Jaime, L., Vázquez, E., Fornari, T., López-Hazas, M.C., García-Risco, M.R., Santoyo, S., & Reglero, G. (2014). Extraction of functional ingredients from spinach (*Spinacia oleracea* L.) using liquid solvent and supercritical CO₂ extraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(4), 722-729.

11. Khokhlova, K.O., Vishnevskaya, L.I., Naboka, O.I., & Garna, S.V. (2012). Farmakohichne vyvchennya protyzpальноi aktyvnosti i hostroyi toksychnosti nastoyky skladnoyi «Aterofit-norma». [Pharmacological study of anti-inflammatory activity and acute toxicity of complex tincture "Aterophyt-norma"]. *Ukrainskyi med. almanakh – Ukr. Med. Almanac*, 15(5), 60-62 [in Ukrainian].

12. Stefanov, O.V. (Eds) (2001). *Doklinichni doslidzhennya likarskykh zasobiv : metod. rek. [Preclinical research of medicines: method. rec.]*. Kyiv: Avicenna, 263-261 [in Ukrainian].

13. Gross, D., & Tolba, R. (2015). Ethics in Animal-Based Research. *Eur. Surg. Res.*, 55(1-2), 43-57.

14. Okeh, U. (2009). Statistical problems in medical research. *East. Afr. J. Public. Health.*, 6(1), 1-7.

15. Sansbury, B.E., & Spite, M. (2016). Resolution of acute inflammation and the role of resolvins in immunity, thrombosis, and vascular biology. *Circ. Res.*, 119(1), 113-130.

16. Spiller, F., Alves, M.K., Vieira, S.M., Carvalho, T.A., Leite, C.E., Lunardelli, A., ... Oliveira, J.R. (2008). Anti-inflammatory effects of red pepper (*Capsicum baccatum*) on carrageenan- and antigen-induced inflammation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60(4), 473-478.

RESEARCH OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF DRY EXTRACT FROM SPINACH GARDEN LEAVES

©A. Ya. Nykyforuk¹, V. D. Fira², P. G. Lykhatskyi², L. S. Fira²

Uzhhorod National University¹

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University²

SUMMARY. The anti-inflammatory activity of a dry extract from spinach leaves at a dose of 100 mg/kg of body weight was studied in the model of carrageenan paw edema in rats. The obtained data can be used to create new anti-inflammatory agents of plant origin.

The aim – to study the anti-inflammatory properties of dry extract from spinach leaves on the model of carrageenan edema of the paw of rats.

Material and Methods. The research was conducted on white male rats weighing 180–250 g, which were divided into 3 groups of 6 animals each. In all animals, inflammatory edema was induced by injecting 0.1 ml of a 1 % carrageenan solution under the plantar aponeurosis of the hind paw of the rat. One of the groups of rats was injected intragastrically with a dry extract from spinach leaves in a prophylactic mode once 1 hour before the induction of inflammation at a dose of 100 mg/kg of animal weight. Control animals received the corresponding volume of water. Another group of animals received diclofenac sodium at a dose of 8 mg/kg as a comparison drug. The severity of the inflammatory process was assessed by the increase in the volume of the affected limb, which was measured before the introduction of the phlogogen and 1, 3, 6 and 24 hours after the introduction of the phlogotropic agent using a mechanical oncometer. Research results were subjected to statistical analysis using the Statistica 6.0 statistical program using the parametric Student's test and the non-parametric Wilcoxon test for paired samples. Changes were considered probable at $p \leq 0.05$.

Results. Studies conducted to study the anti-inflammatory activity of dry extract from spinach garden leaves showed that in a group of animals that were injected with only a carrageenan solution, the maximum volume of paw edema (2.3 times larger compared to the initial size) was registered on the third an hour after phlogogen administration. The anti-inflammatory activity of the dry extract at this time was 21.80 %, 24 hours after the introduction of carrageenan, its anti-inflammatory activity was at the level of 29.5 %. The anti-inflammatory activity of diclofenac sodium was 38 % during all study periods.

Conclusions. The results of the conducted studies indicate moderate anti-inflammatory activity of dry extract from spinach leaves, which most actively suppresses the development of paw edema in rats after 24 hours.

KEY WORDS: dry extract; spinach leaves; carrageenan edema; anti-inflammatory activity; diclofenac sodium; white rats.

Отримано 10.05.2023

Електронна адреса для листування: luhatsky@ukr.net