

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА БАРХАТЦЕВ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ РАН ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Е.М. Ломкина^{1*}, **Н.М. Червонная**², **Д.В. Куркин**³, канд. мед. наук,
Е.В. Волотова¹, канд. мед. наук, **Д.А. Бакулин**¹, **Э.Т. Оганесян**², докт. фарм. наук,
профессор, **О.А. Андреева**², **И.Н. Тюренков**¹, докт. мед. наук, профессор

¹Волгоградский государственный медицинский университет;

4000131, Волгоград, Пл. павших борцов, д. 1

²Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолгГМУ;

357500, Ставропольский край, Пятигорск, Кирова проспект, д. 33

³НИИ фармакологии ВолгГМУ,

400131, Волгоград, Пл. павших борцов, д. 1

E-mail: elenalomkina@gmail.com

Определены ранозаживляющие свойства экстракта из цветков бархатцев в условиях экспериментального сахарного диабета у крыс. Показано, что введение экстракта значительно ускоряет процесс ранозаживления у животных с сахарным диабетом.

Ключевые слова: сахарный диабет, раны, флавоноиды, брахатцы распростертые, *Tagetes patula* L., экстракт бархатцев.

Актуальной проблемой сахарного диабета (СД) является развитие хронических, медленно заживающих раневых дефектов [1].

Раневой процесс – сложный комплекс биологических реакций организма, развивающийся в ответ на повреждение тканей и направленный на их заживление. При его реализации наблюдаются деструктивные и восстановительные изменения тканей (соединительной, эпителиальной, нервной, мышечной), образующих рану и прилегающих к ней [2].

На течение раневого процесса влияет множество факторов: нейрогенных, гормональных, иммунных и др. [3]. СД – одно из самых распространенных гормональных неинфекционных заболеваний человека, вызывающее системное поражение различных органов и тканей. СД усугубляет метаболические нарушения, ухудшает и замедляет раневой процесс, приводя к его длительному, рецидивирующему течению [4].

На ангиогенез и коллагенообразование в ране оказывают стимулирующее действие флавоноиды, обладающие выраженной антиоксидантной активностью. Флавоноиды также способны опосредованно

влиять на выработку эндогенного оксида азота (II), улучшать вазодилатирующую и антитромботическую функцию эндотелия, реологию крови и микроциркуляцию, вследствие чего будет ускоряться заживление ран [5]. Перспективным источником флавоноидов являются растения, например бархатцы распростертые – *Tagetes patula* L., которые содержат 2 высокоактивных флавоноида – патулетин и патулитрин, способствующих заживлению ран у животных с экспериментальным СД. Флавоноидный состав бархатцев представлен патулетинном, патулитринном, рутином, робинином, кверцетинном, лютеолин-7-гликозидом и др. [6]. Согласно результатам ранее проведенных экспериментов, экстракт цветков бархатцев, полученный экстракцией 70% этиловым спиртом, проявляет гепатопротекторное, желчегонное и гипохолестеринемическое действие [7–9]. Выявлены также противовоспалительные, регенерирующие, гипогликемические и иммуномодулирующие свойства [10–12]. Имеются данные, что патулитрин в дозе 50 мг/кг ингибирует острое воспаление задних лап, вызываемое каррагенином и гистамином у мышей [3]. Флавоноиды экстракта цветков бархатцев ингибируют воспаление и в других экспериментальных моделях на животных [13]. Они также ингибируют экспрессию индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS), циклооксигеназу и липоксигеназу с последующим снижением экспрессии индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS), простаноидов и лейкотриенов, а также других медиаторов воспалительного процесса (некоторых цитокинов и хемокинов) [14]. На модели оценки антиоксидантного действия с 1,1-дифенил-2-

пикрилгидразилом (PDDF) патулетин и патулетрин проявили выраженные акцепторные свойства к свободным радикалам в значениях IC_{50} соответственно 4,3 и 10,17 мкг/мл [15]. Помимо непосредственно цитотоксических свойств, свободные радикалы могут привлечь различные воспалительные медиаторы, способствуя пролонгированию воспалительной реакции и повреждению тканей. Патулетин ингибирует липоксигеназу, что сокращает сроки воспаления в раневых зонах [8]. Цель настоящего исследования – определение ранозаживляющих свойств экстракта бархатцев, полученного экстракцией цветков 40% этиловым спиртом, на модели экспериментального СД у крыс с нанесением им плоскостных поверхностных ран.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования использовали экстракт бархатцев, полученный из растительного сырья на кафедре органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВПО ВолгГМУ под руководством докт. фарм. наук, профессора Э.Т. Оганесяна и стандартизованный по содержанию патулетрина.

Исследование было выполнено на 60 белых крысах-самцах линии Wistar (возраст 6 мес, масса 200–220 г). Содержание животных осуществлялось в стандартных условиях вивария. Диета животных отвечала всем принципам полнорационного сбалансированного питания для лабораторных животных (мышей и крыс) по содержанию питательных веществ (ГОСТ Р 50258-92). Содержание животных и ход эксперимен-

тов соответствовали правилам лабораторной практики (GLP) при проведении доклинических исследований в Российской Федерации (ГОСТ 3 51000.396 и 51000.4-96) и Международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных при выполнении экспериментальных исследований (1997).

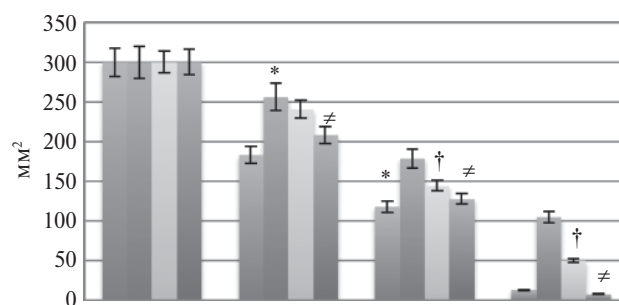
Все животные были отобраны по полу, возрасту, весу и уровню гликемии. Путем рандомизирования они были подразделены на 4 группы по 15 животных в каждой: 1-я группа – рана (животные без СД с плоскостной поверхностной раной); 2-я группа – рана + СД + физиологический раствор (негативный контроль); 3-я группа – рана + СД + актовегин (препарат сравнения); 4-я группа – рана + СД + экстракт бархатцев.

Экспериментальный СД вызывали введением стрептозотоцина в дозе 45 мг/кг, внутривенно в хвостовую вену (А.Г. Баранов, 1985). Контроль гликемии осуществляли через 72 ч, для дальнейших этапов эксперимента животных отбирали с уровнем сахара крови 12-15 ммоль/л. После анализа уровня гликемии и распределения животных по группам, на 3-и сутки в условиях операционной у наркотизированных животных моделировали плоскостные поверхностные раны. Операционное поле предварительно депилировали, раны наносили в межлопаточной области по специальному трафарету с соблюдением всех правил асептики, скальпелем путем иссечения кожи размером 20×30 мм (600 мм²) по методике Л.И. Слуцкого (1969). Изучаемое вещество вводили с 1-го дня моделирования ран, в течение 3 нед, перорально, в дозе 100 мг/кг. Физиологический раствор животным контрольной группы вводили по аналогичной схеме в эквивалентном объеме.

На 7-, 14-, 21-е сутки были проведены планиметрические измерения. Заранее на торсионных весах определяли вес 1 см² кальки. Для измерения площади раны на последнюю накладывали отмытую рентгеновскую пленку, на обратной стороне которой обводили контуры раны. Полученный рисунок переносили на кальку, а затем вырезали «контур раны» и взвешивали. Полученный вес делили на вес 1см² кальки.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ: MS Excel 2007, GraphPad Prism 6. Различия между группами выявляли с использованием критериев Краскела–Уоллиса и Ньюмена–

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ ПЛАНИМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОВЕРХНОСТНЫХ РАН У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ



	Исходное состояние	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки
Рана	300	183,3	118,1	13,2
Рана+СД	300	256,1	178	104,5
Рана+СД+актовегин	300	240,9	144,6	50,3
Рана+СД+экстракт бархатцев	300	208,1	127,9	7,80

Примечание. Ось X – сутки, на которые проводилась планиметрия; ось Y – площадь раны в мм². Условные обозначения: † – достоверно по отношению к группе «Рана+СД» (достоверность оценивалась при помощи критерия Ньюмена–Кейлса); ≠ – достоверно по отношению к группе «Рана+СД+актовегин»; * – достоверно по отношению к группе «Рана».

Вывод

В эксперименте на животных показана выраженная ранозаживляющая активность экстракта бархатцев. Полученные данные позволяют предполагать наличие у экстракта бархатцев комплексного действия на патогенетические звенья при сахарном диабете.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

1. Мисникова И., Древаль А., Актуальные вопросы профилактики сахарного диабета 2-го типа. Врч, 2014;3 : 83-84. (Misnikova I., Dreval A. Topical issues of the prevention of type 2 diabetes mellitus. Vrach, 2014;3 : 83-84 (in Russian)).
2. ADA. American Diabetes Association (2011). Standards of medical care in diabetes, 2011. Diabetes Care, 34 (1): 11–61.
3. Yasukawa K., Kasahara Y. Effects of Flavonoids from French Marigold (Florets of *Tagetes patula* L.) on Acute Inflammation Model. International Journal of Inflammation, 2013: 309–493.
4. Takeda S., Sato N., Rakugi H., Morishita R. 2011. Molecular mechanisms linking diabetes mellitus and Alzheimer disease: b-amyloid peptide, insulin signaling, and neuronal function. Mol. Biosyst. 7: 1822–1827.
5. Rasik A.M., Shukla A. Antioxidant status in delayed healing type of wounds. Int. J. Exp. Pathol, 2010; 81: 257–263.
6. Подгорная Ж.В. Исследование цветков бархатцев распростертых (*Tagetes Patula* L.) с целью получения биологически активных веществ: автореф. дис. канд. фарм. наук. Пятигорск, 2008; 24. (Podgornaya, J.V. Study of open flowers marigold (*Tagetes Patula* L.) with the aim of obtaining biologically active substances: author. dis. candidate. Pharm. Sciences: 15.00.02./ Jeanne V. Podgorny, Pyatigorsk, 2008: 4 (in Russian)).
7. Гранкина И.В., Огурцов Ю.А. Изучение химического состава CO₂-экстракта *Tagetes Patula* L., и его фармакологической активности. Известия высш. учеб. заведений. Сев.-Кавк. Регион. Естественные науки. Спецвыпуск. Фармакология, 2006: 23–24. (Grankina I. V., Ogurtsov A. Yu. The chemical composition of CO₂-extract of *Tagetes Patula* L. and its pharmacological activity/ Izvestiya Vyssh. proc. institutions. North.-Cawk. The region. Natural science. Special issue. Pharmacology, 2006: 23–24 (in Russian)).
8. Оганесян Э.Т., Андреева О.А., Крикова А.В., Огапова М.А., Гараян Г.С. Получение липофильной фракции из цветков *Tagetes Patula* L., ее качественный состав и изучение антиаритмической активности. Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2005: 18. Деп. в ВИНТИ РАН 31.01.06. № 110-в-06. (Oganesyan E. T., Andreeva O. A., Cricova A.V., Ogapova M. A., Garapyan G. S. Obtain lipophilic fraction from flowers of *Tagetes Patula* L. its qualitative composition and the study of the antiarrhythmic activity. Pyatigorsk: Pyatigorsk MDIS, 2005: 18. – Dept. in VINITI RAS 31.01.06. № 110-b-06 (in Russian)).
9. Оганесян Э.Т., Доркина Е.Г., Терехов А.Ю. П. Способ получения гепатозащитного средства из цветков бархатцев распростертых (*Tagetes Patula* L.). Патент № 2085217 Российская Федерация, МКИ А61 L15/00 К31/74 №2007110014/15; заявл. 19.03.07; опубл. 30.09.2008, Бюл. №10. – 6с. (Oganesyan E. T., Dorkina E. G., Terekhov A. Y. The method of obtaining hepatoprotective means of open flowers marigold (*Tagetes Patula* L.). Russian patent. № 2007110014/15; Appl. 19.03.07; publ. 30.09.2008, bull. № 10. – 6C (in Russian)).
10. Kasahara Y., Yasukawa K., Kitahara S., Taufiq Khan M., Evans F.J. Effect of methanol extract from flower petals of *Tagetes patula* L. on Acute and chronic inflammation model. Phytotherapy Research. 2002;16 (3): 217–222.
11. De Bock M., Derraik J.G., Cutfield W.S. Polyphenols and glucose homeostasis in humans. J. Acad. Nutr. Diet., 2012: 112 (6): 808–815.
12. Robak J., Shridi F., Wolbis M., Królikowska M. Screening of the influence of flavonoids on lipoxygenase and cyclooxygenase activity, as well as on nonenzymic lipid oxidation. Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy, 1988; 40 (5): 451–458.
13. Camuesco D., Comalada M., Rodriguez-Cabezas M.E. et al. The intestinal anti-inflammatory effect of quercitrin is associated with an inhibition in iNOS expression. British Journal of Pharmacology, 2004; 143 (7): 908–918.
14. Tuñón M.J., Garcia-Mediavilla M.V., Sánchez-Campos S., González-Gallego J. Potential of flavonoids as anti-inflammatory agents: modulation of pro-inflammatory gene expression and signal transduction pathways. Current Drug Metabolism. 2009; 10 (3): 256–271.
15. Faizi S., Dar A., Siddiqi H. et al. Bioassay-guided isolation of antioxidant agents with analgesic properties from flowers of *Tagetes patula*. Pharmaceutical Biology, 2011; 49 (5): 516–525.

Кейлса. Статистически значимыми принимались различия при $p < 0,05$.

В ходе эксперимента у животных с СД было выявлено существенное снижение в динамике заживления ран по сравнению с интактной группой. Так, в группе животных с экспериментальным СД раневая поверхность была больше в 1,5 и почти в 8 раз по сравнению с группой интакт, на 14-е и 21-е сутки соответственно. Возможно, это объяснимо развивающейся на фоне СД эндотелиальной дисфункцией, снижением синтеза и выделения оксида азота, ответственного в норме за обеспечение локальной вазодилатации, микроциркуляции, антимикробного эффекта, антитромботического действия и обеспечения местного иммунитета.

Препарат сравнения «Актовегин» оказал благоприятное влияние на заживление раневой поверхности у крыс, раневой дефект сократился на 21-е сутки почти в 6 раз и был меньше на 21 и 48% на 14-е и 21-е сутки относительно группы контроля с СД. Применение экстракта бархатцев обусловило сокращение раневой поверхности в 38 раз относительно исходного состояния на 21-е сутки, раневая поверхность была меньше на 16% относительно группы сравнения СД+актовегин. Более быстрая регенерация может быть обусловлена улучшением функции эндотелия, его вазодилатирующей и антитромботической функций, улучшением микроциркуляции и трофики тканей, антиоксидантными эффектами экстракта бархатцев, снижением цитотоксичности пероксинитрита, а также улучшением локальной микроциркуляции в ране и снижением явлений ишемии.

Особое медико-социальное значение при СД имеют его сосудистые осложнения, причина которых — развивающаяся эндотелиальная дисфункция. При этом отмечаются нарушения в системе синтеза и доступности NO, в норме мощного вазодилататора и регулятора многих функций эндотелия. Таким образом, система оксида азота и ее продукт NO является эффекторной молекулой практически на всех этапах заживления ран при СД.

Ускорение регенерации тканей в ране при применении актовегина обусловлено его антигипоксическим действием, а именно повышением потребления кислорода поврежденными клетками. Однако при воспалительном процессе в ране дополнительное количество кислорода приводит к избыточной активации iNOS и гиперпродукции пероксинитрита, оказывающего цитотоксическое действие на регенерирующие ткани. Применение флавоноидов как антиоксидантных и эндотелиопротекторных средств перспективно при лечении ран, поскольку они способны стабилизировать продукцию эндогенного оксида азота конститутивной формой синтазы и дополнительно препятствовать повышенному образованию свободных радикалов.

Поступила 30 сентября 2015 г.

EFFECT OF FRENCH MARIGOLD (*Tagetes patula* L.) EXTRACT ON WOUND HEALING IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

E.M. Lomkina¹; N.M. Chervonnaya²; D.V. Kurkin, MD³; E.V. Bolotova¹, MD; D.A. Bakulin²; Professor E.T. Oganessian², PhD; O.A. Andreeva²; Prof. I.N. Tyurenkov¹, MD

¹Volgograd State Medical University; 1, Pavshikh Bortsov Square, Volgograd 400131

²Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute, Branch, Volgograd State Medical University; 33, Kirov Pr., Pyatigorsk, Stavropol Territory 357500

³Research Institute of Pharmacology, Volgograd State Medical University; ??, Pavshikh Bortsov Square, Volgograd 400131

SUMMARY

Impaired endothelial function and microcirculation in diabetes mellitus considerably slow down a wound healing process. Flavonoids having antioxidant activity improve endothelial function and stimulate angiogenesis.

The wound-healing properties of an extract from French marigold flowers were determined in rats with experimental diabetes mellitus. The administration of the extract was shown to significantly accelerate a wound healing process in the animals with diabetes mellitus. A group of animals treated with French marigold extract showed a substantial reduction in the wound surface following 7 days and the wound size did not differ from that in the non-diabetes group after 21 days.

Key words: diabetes mellitus, wounds, flavonoids, French marigold, *Tagetes patula* L., French marigold extract.

© Коллектив авторов, 2016
УДК 615.322:615.281].07

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ КОМПОЗИЦИИ С ЭКСТРАКТАМИ ЭВКАЛИПТА И ЭХИНАЦЕИ

П.М. Масесе¹, Т.В. Фатеева²,

П.Г. Мизина^{1,2*}, докт. фарм. наук, профессор, И.Н. Зилфикаров², докт. фарм. наук

¹Российский университет дружбы народов;

117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

²Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений;

117216, Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1

*E-mail: mizina-pg@yandex.ru

В условиях *in vitro* исследована антимикробная активность новой комбинированной лекарственной композиции из экстрактов эвкалипта и эхинацеи в сравнении с отдельными ее компонентами: экстрактом эвкалипта, полученным из эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* Labill.) и экстрактом эхинацеи, полученным из эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench). Антимикробная активность обусловлена наличием в составе композиции антимикробного средства эвкалимин.

Ключевые слова: растительные экстракты, экстракт эвкалипта, экстракт эхинацеи, фармацевтическая композиция, антимикробная, бактериостатическая, фунгистатическая активность, тест-микроорганизмы.

В популяции широко распространены такие заболевания верхних дыхательных путей, как фарингиты, тонзиллиты, ларингиты, ангины и др. Их возбудителями чаще всего являются стрептококки, стафилококки, пневмококки, кандиды и др. Назначение общей антибиотикотерапии при острых инфек-

циях верхних дыхательных путей далеко не всегда рационально. Более обоснованным бывает назначение препаратов местного действия, обладающих не только антимикробной активностью, но и иммуностимулирующими свойствами [5–7]. Для лечения хронических воспалительных заболеваний глотки традиционно применяют антимикробные, противовоспалительные, противоотечные и местноанестезирующие лекарственные средства в виде таблеток для рассасывания, пастилок, леденцов, ингаляций, орошений, полосканий и др. Самыми удобными в использовании считаются таблетки для рассасывания, которые в настоящее время приобрели большую популярность [8].

Лекарственные средства на основе растительных экстрактов из эвкалипта и эхинацеи зарекомендовали себя как эффективные препараты в разных лекарственных формах (растворы, суппозитории, таблетки) с антимикробной, противовоспалительной, иммуностимулирующей активностью [1–4, 9,