

И. А. Кравченко^{1, 2}, А. А. Коберник^{1, 2}, Л. В. Эберле¹

Противовоспалительная активность густого экстракта имбиря (*Zingiber officinale*) при трансдермальном введении

¹Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова

²Одесский национальный политехнический университет

Ключевые слова: противовоспалительное действие, каррагинановый и зимозановый отек, мазь с экстрактом имбиря

В настоящее время большинство специалистов считают, что воспаление является одним из сложнейших процессов, часто встречающихся в патологии и нередко являющихся причиной многих нарушений жизнедеятельности организма человека и животных, а несвоевременное лечение воспаления может трансформироваться в типовой патологический процесс [1, 2].

Поэтому одной из наиболее актуальных проблем современной медицины является регуляция воспалительного процесса. Использование для этой цели синтетических лекарственных препаратов не всегда рационально, так как наряду с благоприятным фармакологическим действием и достаточной степенью клинической эффективности все они вызывают ряд нежелательных побочных реакций [3, 4]. В связи с этим остается актуальным поиск высокоэффективных лекарственных средств, подавляющих воспаление и обладающих минимальными побочными эффектами.

Перспективным направлением современной фармакологии является поиск и изучение новых противовоспалительных средств из растительного сырья. С этой точки зрения представляет интерес изучение корневища имбиря (*Zingiber officinale* Roscoe L), который издавна применяется в народной медицине Китая и Индии. Согласно данным литературы, корневище имбиря оказывает бактерицидное действие, обладает противовирусными, противовоспалительными,

ранозаживляющими свойствами, повышает работоспособность и снижает сонливость [5–9].

В развитии острого экссудативного воспаления ведущую роль играют биологически активные производные арахидоновой кислоты. Существуют два альтернативные пути преобразования арахидоновой кислоты из фосфолипидов клеточных мембран в биологически активные соединения: циклооксигеназный путь – образование простагландинов (ПГ) при участии циклооксигеназы (ЦОГ) и липооксигеназный путь – образование лейкотриенов (ЛТ) при участии липооксигеназы (ЛОГ) [10, 11].

Активация обоих путей имеет большое значение для развития воспалительной реакции, поэтому эффективность противовоспалительного действия экстракта имбиря будет зависеть от его способности ингибировать активность как ЦОГ, так и ЛОГ.

Цель исследования – определение противовоспалительного эффекта мазей на основе экстракта имбиря при трансдермальном введении в различных дозах, а также установление предположительного механизма противовоспалительной активности.

Материалы и методы. Определение противовоспалительной активности мази на основе экстракта имбиря осуществляли по его антиэкссудативному действию, которое было изучено на моделях каррагинанового и зимозанового отека стопы крыс.

В работе были исследованы мази на основе экстракта имбиря с разной концентрацией (0,0125 %, 0,025 %, 0,05 %, 0,10 % в пересчете на сумму полифенольных соединений). Мазевая основа состояла из полиэтиленгликоля-1500,

полиэтиленоксида-400 и 1,2-пропиленгликоля в соотношении 3 : 4 : 2 соответственно. В качестве референтного препарата использовали 5 % мазь ибупрофена («Долгит крем», Украина).

Для выяснения предположительного механизма противовоспалительного действия лечение проводили по разным схемам: с профилактическим действием (1 раз в 1 день в течение 2 дней) до введения флогогена и лечением после введения флогогена (с целью лечения исследуемые мази наносили на воспаленную стопу 6 раз с интервалом 1 ч, начиная через 1 ч после введения флогогена). Об эффективности противовоспалительного действия судили, основываясь на способности ингибировать активность циклооксигеназы (каррагинановая модель) или липооксигеназы (зимозановая модель), что дает возможность определить область преимущественного влияния полученного экстракта и охарактеризовать дозозависимость этого действия.

Опыты проводили на белых крысах массой 200–220 г, которых содержали на стандартном рационе вивария при свободном доступе к пище и воде. Для каждой модели воспаления были сформированы по десять групп животных (по 6 особей в каждой группе). Животные 1 группы служили контролем развития патологии (не подвергались лечебным воздействиям после введения флогогена). Животных 2 группы лечили 0,1 % мазью, 3 группы – 0,05 %, 4 группы – 0,025 % и 5 группы – 0,0125 % через 1 ч после введения флогогенов. Животных 6, 7, 8 групп лечили мазями 0,05 %; 0,025 % и 0,0125 % с дополнительным предварительным нанесением мази за два дня до введения флогогена и продолжением лечения после развития воспаления. Остальным группам животных наносили референтный препарат: животным 9 группы за 2 дня до начала эксперимента, а животным 10 группы – после введения флогогена. Все исследования соответствовали правилам Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1986) [12] и принципам

Национального конгресса Украины по биоэтике (Киев, 2003 г.) [13].

Воспалительную реакцию вызывали субплантарным введением в подошву задней конечности крыс водных растворов флогогенов: 0,2 мл 0,2 % каррагинана для каррагинановой модели и 0,1 мл 2 % зимозана для воспроизведения зимозановой модели.

В качестве критериев оценки противовоспалительной эффективности мази на основе экстракта имбиря использовали динамику изменения объема конечности во время исследования. Измерения проводили с помощью цифрового плетизмометра 37140 Ugo Basile (методом волуметрии) [14, 15].

Кроме того, для всех групп животных был рассчитан показатель антиэкссудативной активности, который, по сути, представляет собой торможение развития отека в опытных группах по сравнению с контролем.

Антиэкссудативную активность (АА) рассчитывали по формуле:

$$AA = 100 - \left(\frac{O - I}{I} \right)_{(o)} \cdot 100, \\ \left(\frac{O - I}{I} \right)_{(k)}$$

где АА – антиэкссудативная активность;

О – величина объема лапы после введения индуктора воспаления;

И – величина объема лапы до введения индуктора воспаления;

о – опытная группа;

к – контрольная группа.

Статистическую достоверность рассчитывали с использованием критерия Стьюдента в программном пакете MS Office.

Результаты и их обсуждение. На первом этапе исследований была изучена антиэкссудативная активность мази с экстрактом имбиря на модели каррагинан-индуцированного воспаления, которое характеризуется многоступенчатым патогенезом. В первые 30–90 мин отека в патогенезе воспаления участвуют преимущественно медиаторы гистамин и серотонин, в промежутке 1,5–2,5 ч – система кининов, а на 3–4 ч развития экссудации наблюдается активность простагландинов и лейкотриенов [10].

Таким образом, модель каррагинанового отека позволяет в динамике исследовать выраженность противовоспалительного действия исследуемого экстракта и установить механизм его реализации.

Согласно результатам исследования, на протяжении первых 3 ч после субплантарного введения флогогена у всех групп подопытных животных прогрессировало развитие выраженного отека пораженной конечности.

Результаты исследования антиэкссудативного действия мазей на основе экстракта имбиря на модели каррагинан-индуцированного воспаления представлены в таблице 1. Отмечено, что максимальный отек лапы развивался через 3 ч после введения флогогена (это время отвечает пику развития каррагинанового отека и соответствует экссудативной фазе данного воспалительного процесса). При этом наименьший противовоспалительный эффект наблюдали у опытных групп, которых лечили 0,1 % и 0,0125 % мазью (с предварительным нанесением до введения флогогена и после введения флогогена) (табл. 1).

Лечение подопытных животных 0,025 % мазью продемонстрировало наиболее выразительное подавление воспалительного процесса как в группе животных с профилактической аппликацией мази, так и в группе животных, которых лечили после индукции воспаления (табл. 1).

Первые проявления антиэкссудативного эффекта при лечении 0,025 % мазью наблюдали через 2 ч после индукции воспаления, а через 24 ч выраженность противовоспалительной активности в группе № 4 составляла $(80,2 \pm 1,3) \%$, что достоверно не отличалось от действия референтного препарата, тогда как в группе № 7 составляла $(61,8 \pm 0,6) \%$, что достоверно превосходило эффект препарата-сравнения на 9,7 % (табл. 1).

Анализируя показатели групп животных, которых лечили по разным схемам (с и без предварительного нанесения мази до введения флогогена), можно заключить, что предварительное нанесение (за 2 дня до введения флогогена) исследуемых мазей с разными концентрациями

Таблица 1

Антиэкссудативная активность мази с экстрактом имбиря на модели каррагинанового отека, %

Условие нанесения мази	№ группы	Концентрация мази, %	Время наблюдения, ч					
			1	2	3	4	6	24
Лечебное: после введения флогогена	2	0,1	-	-	-	-	0,70 ± 0,12*	1,21 ± 0,30*
	3	0,05	-	29,80 ± 2,40	19,30 ± 1,90	56,70 ± 3,40*	57,50 ± 3,30	68,20 ± 1,70
	4	0,025	-	10,10 ± 1,10*	43,50 ± 4,80*	54,50 ± 2,50*	68,40 ± 2,30*	80,20 ± 1,30
	5	0,0125	-	-	8,10 ± 0,80*	29,20 ± 2,90	31,50 ± 2,80*	40,30 ± 2,20*
	Долгит крем		-	23,10 ± 1,80	18,40 ± 1,20	27,10 ± 3,30	54,50 ± 1,80	73,50 ± 2,30
Профилактическое (нанесение за 2 дня до введения флогогена) и лечебное	6	0,05	-	13,70 ± 1,50	5,10 ± 1,40*	27,60 ± 1,40*	30,10 ± 2,05	56,40 ± 1,70
	7	0,025	-	13,60 ± 0,90	25,40 ± 1,30*	32,30 ± 2,30*	34,20 ± 2,40	61,80 ± 0,60*
	8	0,0125	-	-	-	15,30 ± 0,90	22,80 ± 1,50	23,80 ± 2,60*
	Долгит крем		-	9,10 ± 0,30	13,40 ± 0,70	11,50 ± 0,60	29,40 ± 2,70	52,10 ± 2,80

Примечание. Тут и в табл. 2: *P ≤ 0,05 по сравнению с референтным препаратом.

(0,0125; 0,025; 0,05 %) экстракта имбиря не оказывало положительного влияния на динамику индуцированного воспалительного процесса (табл. 1).

Мы предполагаем, что полученные данные можно объяснить избирательным действием экстракта имбиря, содержащим активное вещество – гингерол, на индуцибельную ЦОГ-2 и отсутствием влияния на конститутивную ЦОГ-1 [11]. Поэтому мы получили высокую противовоспалительную активность при лечебном применении после введения флогогена и отсутствие увеличения противовоспалительного действия при профилактическом введении.

Другим направлением метаболизма арахидоновой кислоты является липоксигеназный путь, активация которого возможна с помощью другого флогогена – зимозана.

Введение зимозана уже через 0,5 ч провоцировало развитие отека у всех подопытных животных. Установленная динамика развития воспаления характерна для данной модели и связана с интенсивным образованием лейкотриенов в очаге воспаления.

Из приведенных результатов следует, что предварительное лечение 0,025 % мазью было более эффективным по сравнению с другими исследуемыми концентрациями и подавляло развитие зимозанового отека в ранние сроки. Что позволяет прийти к выводу о наличии умеренной антилипоксигеназной активности мази на основе экстракта имбиря при ее концентрации 0,025 % (табл. 2).

Полученные результаты исследования свидетельствуют, что у групп животных, которым предварительно наносили (за 2 дня до введения флогогена) 0,025 и 0,05 % мазь воспалительная реакция оказалась менее выражена, а дальнейшее использование способствовало уменьшению прироста объема воспаленной конечности по сравнению с контрольной группой животных (табл. 2).

Динамика прироста объема конечности животных опытных групп по отношению к контрольной свидетельствует о наличии антиэкссудативной активности. Наибольший антиэкссудативный эффект наблюдали у животных групп № 3, 4, 6,

Таблица 2

Антиэкссудативная активность мази с экстрактом имбиря на модели зимозанового отека, %

Условие нанесения мази	№ группы	Концентрация мази, %	Время наблюдения, ч					
			1	2	3	4	6	24
Лечебное: после введения флогогена	2	0,1	-	-	-	-	1,1 ± 0,3*	4,8 ± 0,9*
	3	0,05	-	1,4 ± 0,5*	5,2 ± 0,6	7,9 ± 0,9	9,7 ± 1,9*	17,3 ± 1,4*
	4	0,025	-	5,4 ± 0,7	11,1 ± 0,9	7,2 ± 0,5	10,7 ± 2,4*	21,4 ± 3,1*
	5	0,0125	-	-	-	-	9,6 ± 0,8*	14,3 ± 2,2*
	Долгит крем		-	6,8 ± 0,5	7,4 ± 0,5	9,2 ± 0,6	27,8 ± 0,7	56,2 ± 1,1
Профилактическое (нанесение за 2 дня до введения флогогена) и лечебное	6	0,05	-	0,8 ± 0,2*	5,1 ± 0,2*	15,2 ± 1,2*	17,1 ± 2,1*	23,9 ± 2,6*
	7	0,025	3,1 ± 0,2	9,6 ± 0,6	20,7 ± 1,7	23,8 ± 1,9*	31,1 ± 2,8	40,2 ± 3,2
	8	0,0125	-	-	-	-	7,8 ± 0,9*	12,8 ± 0,7*
	Долгит крем		-	12,3 ± 0,6	22,4 ± 1,9	32,9 ± 0,9	37,5 ± 1,7	44,9 ± 2,4

7, которых лечили 0,025 и 0,05 % мази с профилактической аппликацией мази до начала эксперимента, а также после введения флоггена (табл. 2).

Сравнительное изучение антиэкссудативной активности для групп 3 и 6, а также 4 и 7 показало, что предварительная аппликация мази с экстрактом имбиря способствует увеличению антиэкссудативной активности непосредственно в период экспериментального зимозанового воспаления с 17 до 24 % и с 21 до 40 % для 0,05 % и 0,025 % мазей соответственно (табл. 2).

Из приведенных результатов следует, что предварительное лечение 0,025 % мазью было более эффективным ($40,2 \pm 3,2$) по сравнению с другими исследуемыми концентрациями и практически не отличалось от показателей референтного препарата ($44,9 \pm 2,4$), что позволяет предположить наличие у данной мази умеренной антилипооксигеназной активности (табл. 2).

Таким образом, использование в работе двух моделей воспаления различного типа позволяет сделать предположение об угнетении ЦОГ-2 и липоксигеназы мазью с густым экстрактом *Zingiber officinale*.

Анализируя полученные результаты, можно прийти к выводу, что мазь с экстрактом имбиря 0,025 % прояв-

ляет достаточно выраженную противовоспалительную активность на моделях зимозанового и каррагинанового отека.

По результатам исследования мазей с разной концентрацией экстракта следует отметить, что зависимость «доза – эффект» имеет нелинейный характер, что обусловлено специфичностью чувствительных рецепторов, объяснение механизма взаимодействия которых с биологически активными веществами густого экстракта имбиря обосновывает целесообразность дальнейших исследований.

Выводы

Мазь на основе густого экстракта (*Zingiber officinale*) оказывает противовоспалительное (антиэкссудативное) действие на моделях каррагинанового и зимозанового отека у крыс в условиях лечебного и лечебно-профилактического применения, то есть проявляет способность ингибировать ЦОГ-2 и липоксигеназу.

Максимальный противовоспалительный эффект проявлялся при лечении мазью на основе густого экстракта имбиря с концентрацией 0,025 %.

Показано, что экстракт имбиря является перспективным объектом для дальнейшего изучения.

1. Жадан С. А. Воспаление (патофизиологические аспекты) / С. А. Жадан, Е. В. Меленчук, Ф. И. Висмонт. – Минск : БГМУ, 2015. – С. 7 – 21.
2. Захарова Н. М. Особенности местной воспалительной реакции в области хирургического вмешательства при эндопротезировании крупных суставов / Н. М. Захарова, И. С. Шатохина, В. П. Волошин // Альманах клинической медицины. – 2012. – Вып. № 27 – С. 14–17.
3. Мазур И. П. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов в пародонтологии / И. П. Мазур, Д. М. Ставская // Современная стоматология. – 2015. – Вып. № 3 – С. 30–36.
4. Беловол А. Н. Нестероидные противовоспалительные препараты: фокус на кеторолак / А. Н. Беловол, И. И. Князькова // Мистецтво лікування. – 2012. – № 1. – С. 15–19.
5. Вальчихина О. Ю. Корневище имбиря как перспективное растительное сырье для создания лекарственных средств / О. Ю. Вальчихина, Н. Б. Демина, А. Надер // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2015. – С. 62–72.
6. Evaluation of *Zingiber officinale* and *Curcuma longa* rhizome as a crude drug from their ethanolic extract / S. Kumar, M. Sabiha, R. Nisha [et al.] // Department of Applied Chemistry Samrat Ashok Technological Institute. Vidisha (M.P.), India. – 2013. – № 4 (12). – P. 74–76.
7. Hasan H. A. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Crude Extracts Isolated from *Zingiber Officinale* by Different Solvents / H. A. Hasan, A. M. Rauf, B. M. Razik // Pharmaceut. Anal. Acta. – 2012. – V. 3, Is. 9. – P. 34–37.
8. Определение биологически активных веществ в сухом экстракте имбиря лекарственного (*Zingiber officinale* Roscoe) / О. Ю. Щепочкина, Н. Б. Демина, А. А. Жогова [et al.] // Разработка и регистрация лекарственных веществ. – 2015. – № 2. – С. 160–166.
9. Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory Effects of Ginger in Health and Physical Activity: Review of Current Evidence / N. S. Mashhadi, R. Ghiasvand, G. Askari [et al.] // Int Prev Med. – 2013. – № 4 (1). – P. 12–17.

10. Доклинические исследования лекарственных препаратов; под ред. А. В. Стефанова. – Киев : Авиценна, 2001 – 528 с.
11. *Richard B. van Breemen*. Cyclooxygenase-2 inhibitors in ginger (*Zingiber officinale*) / B. Richard van Breemen, Yi Tao, Li Wenkui // *Fitoterapia*. – 2011. – V. 82 (1). – P. 38–43.
12. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasbourg, Council of Europe, 1986. – № 123. – 51 p.
13. Загальноетичні принципи експериментів на тваринах // *Ендокринологія*. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
14. Протизапальна активність нових естерів ібупрофену при трансдермальному введенні / І. А. Кравченко, Б. В. Приступа, М. В. Кірева, А. О. Коберник // *Вісник ОНУ Сер.: Біологія*. – 2015. – Т. 20, Вип. 1 (36). – С. 171–176.
15. Противовоспалительная активность новой жидкокристаллической лекарственной формы с капсаицином / Ю. А. Бойко, И. А. Кравченко, А. А. Шандра, М. Аят // *Фундаментальные проблемы медицины и биологии*. – 2015. – Вып. № 2. – С. 4–6.

И. А. Кравченко, А. А. Коберник, Л. В. Эберле

Противовоспалительная активность густого экстракта имбиря (*Zingiber officinale*) при трансдермальном введении

Одним из важнейших направлений современной фармакологии является поиск и изучение новых противовоспалительных средств, в том числе растительного происхождения.

Цель исследования – определение противовоспалительного эффекта мазей на основе густого экстракта имбиря при трансдермальном введении в различных дозах, а также установление предположительного механизма противовоспалительной активности.

При исследовании антиэкссудативной активности на модели каррагинанового отека было установлено, что мазь с экстрактом имбиря с концентрацией 0,025 % (в пересчете на сумму полифенольных соединений) обладала наилучшим противовоспалительным действием на фоне других исследуемых концентраций мазей (0,0125; 0,05 и 0,1 %). А профилактическое нанесение (за 2 дня до введения флогогена) исследуемых мазей не оказывало положительного влияния на динамику индуцированного воспалительного процесса, вызванного каррагинаном.

При изучении противовоспалительной активности экстракта имбиря на модели зимозанового отека с профилактическим нанесением мази до введения флогогена и лечением после инъекции флогогена показано, что мазь 0,025 % проявляла более выраженный антиэкссудативный эффект по сравнению с другими исследуемыми концентрациями. А предварительная аппликация мази способствовала подавлению развития зимозанового отека в ранние сроки. Это позволяет предположить наличие у нее умеренной антилипооксигеназной активности.

Согласно результатам исследования, густой экстракт *Zingiber officinale* обладает выраженной противовоспалительной активностью, угнетая активность ЦОГ-2 и липооксигеназы, что делает его перспективным объектом для дальнейшего фармакологического изучения и внедрения в медицинскую практику как альтернативного средства терапии воспалительных процессов.

Ключевые слова: противовоспалительное действие, каррагинановый и зимозановый отек, мазь с экстрактом имбиря, ЦОГ-2, липооксигеназа

І. А. Кравченко, А. О. Коберник, Л. В. Еберле

Протизапальна активність густого екстракту імбиру (*Zingiber officinale*) при трансдермальном введенні

Одним з найважливіших напрямів сучасної фармакології є пошук і вивчення нових протизапальних засобів, у тому числі рослинного походження.

Мета дослідження – визначення протизапального ефекту мазей на основі густого екстракту імбиру за трансдермального застосування в різних дозах, а також встановлення можливого механізму протизапальної активності.

У разі дослідження антиекссудативної активності на моделі карагінанового набряку було встановлено, що мазь з екстрактом імбиру з концентрацією 0,025 % (у перерахунок на суму поліфенольних сполук) проявляла найкращу протизапальну дію порівняно з іншими досліджуваними концентраціями (0,0125; 0,05 і 0,1 %). Профілактичне нанесення (за 2 дні до введення флогогена) досліджуваних мазей не мало позитивного впливу на динаміку індукованого запального процесу, викликаного карагінаном.

Вивчення протизапальної активності екстракту імбиру на моделі зимозанового набряку з профілактичним нанесенням мазі до введення флогогена та лікуванням після ін'єкції флогогена показало, що мазь 0,025 % проявляла більш виражений антиекссудативний ефект порівняно з іншими досліджуваними концентраціями. Попередня аппликація мазі сприяла пригніченню розвитку зимозанового набряку в ранні терміни, що дозволяє припустити наявність у неї помірної антиліпооксигеназної активності.

Згідно з результатами дослідження, густий екстракт *Zingiber officinale* має виражену протизапальну активність, пригнічуючи активність ЦОГ-2 і ліпооксигенази, що робить його перспективним

об'єктом для подальшого фармакологічного вивчення та впровадження в медичну практику як альтернативного засобу терапії запальних процесів.

Ключові слова: протизапальна дія, карагановий і зимозановий набряк, мазь з екстрактом імбиру, ЦОГ-2, ліпоксигеназа

I. Kravchenko, A. Kobernik, L. Eberle
Anti-inflammatory activity of thick ginger extract (*Zingiber officinale*) under transdermal application

One of the most important areas of modern pharmacology is the search and study of new anti-inflammatory drugs, including of a plant origin.

The aim of the investigation was to study the anti-inflammatory effect of solid ginger extract-based ointments at different doses under transdermal introduction, as well as determination of hypothetical mechanism of the anti-inflammatory activity.

On the model of a carrageenan oedema, when studying the anti-exudative activity, the 0,025 % ginger extract ointment (as total polyphenolic compounds) was found to demonstrate the highest anti-inflammatory effect compared to the other ointment concentrations (0,0125; 0,05 and 0,1 %). A preventive application (two days before the introduction of phlogogens) of the investigated ointments did not have a positive effect on the dynamics of the carrageenan-induced inflammatory process.

When studying the anti-inflammatory activity of the ginger extract on the model of zymosan oedema with preventive application of the ointment prior to the phlogogen introduction and treatment after the phlogogen injection, it was shown that the 0,025 % ointment had more pronounced anti-exudative effect than ointments with other studied concentrations. A preliminary application of the ointment resulted in the suppression of zymosan oedema in the early periods, which suggests its moderate anti-lipoxygenase activity.

According to the results of the investigation the thick extract of *Zingiber officinale* has got a pronounced anti-inflammatory activity with a suppression of COX-2 and lipoxygenase that makes it a promising object for further pharmacological studies and possible medical practice implementation as an alternative remedy in the therapy of inflammations.

Key words: anti-inflammatory action, carrageenan and zymosan oedema, ginger extract ointment, COX-2, lipoxygenase

Надійшла: 6 листопада 2017 р.

Контактна особа: Еберле Лідія Вікторівна, аспірант, кафедра фармацевтичної хімії, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, буд. 9 В, вул. Довженка, м. Одеса, 65058.
Тел.: +38 0 97 246 82 48. Електронна пошта: lidaeberle@gmail.com