

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КОРЫ И ПОБЕГОВ ИВЫ ВАВИЛОНСКОЙ И ЕЕ ГИБРИДА С ИВОЙ БЕЛОЙ

Дементьева Т.М.¹, Сергеева Е.О.², Саджая Л.А.², Компанцева Е.В.², Фролова О.О.²

¹ Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск, Россия, e-mail: oxifarm@mail.ru

² Пятигорский медико-фармацевтический институт - филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск, Россия, e-mail: oxifarm@mail.ru

Более половины населения планеты страдает заболеваниями опорно-двигательного аппарата. Так как в терапии данного заболевания назначают нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) наиболее частым осложнением является эрозивно-язвенные повреждения слизистой желудочно-кишечного тракта. В то же время известно о наличии лекарственных растений, обладающих противовоспалительным действием. Мировые тенденции свидетельствуют о росте их применения в терапии заболеваний суставов. Целью исследования является изучение противовоспалительного и ulcerогенного действия потенциально новых видов лекарственного растительного сырья - порошков из коры и побегов ивы вавилонской (*Salix babylonica* L.) и гибрида ивы вавилонской с ивой белой (*Salix babylonica* x *alba* (S.Salamonii Carriere)). В опытах на крысах на модели хронического пролиферативного воспаления (ватной гранулемы) измельченные порошки изучаемых объектов в эффективной дозе 68 мг/кг обладают достоверной антиэкссудативной активностью, при этом порошки коры и побегов ивы вавилонской оказались сопоставимы с лекарственным средством диклофенак. По ограничению пролиферации 3 исследуемых объекта (кора обоих видов ивы и побеги ивы вавилонской) достоверно угнетают образование грануляционной ткани по отношению к контрольной группе. При этом из исследуемых объектов максимальное воздействие оказала кора ивы вавилонской, не уступая по уменьшению образования грануляционной ткани препарату сравнения диклофенаку. Выявленные эффекты порошков коры и побегов ивы вавилонской и ее гибрида с ивой белой в определенной степени способствуют регенерации тканей в очаге воспаления. Ulcerогенная активность всех изученных объектов была достоверно ниже, чем у животных, получавших диклофенак. Следовательно, их длительное применение в терапии воспалительных заболеваний суставов более безопасно.

Ключевые слова: ива вавилонская (*Salix babylonica* L.), гибрид ивы вавилонской с ивой белой (*Salix babylonica* x *alba* (S.Salamonii Carriere)), кора, побеги, противовоспалительное действие, ulcerогенное действие.

PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES OF THE WEEPING WILLOW AND ITS HYBRID WITH WHITE WILLOW BARK AND BRANCHES

Dementyeva T.M.¹, Sergeeva Y.O.², Sadzhaya L.A.², Kompanceva Y.V.², Frolova O.O.²

¹ Far-Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia, e-mail: oxifarm@mail.ru

² Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia, e-mail: oxifarm@mail.ru

More than half of the world's population suffers from of the locomotory system diseases. In the treatment of this disease are prescribed nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), but their most common complication is erosive-ulcerous lesions of the gastrointestinal tract mucosa. At the same time it's known about the presence of medicinal plants with anti-inflammatory action. Global trends indicate the growth of their use in the treatment of the joints diseases. The aim of the study is to examine the anti-inflammatory and ulcerative action of the potentially new species of medicinal plant raw materials - powders from the bark and branches of the weeping willow (*Salix babylonica* L.) and hybrid of weeping willow with white willow (*Salix babylonica* x *alba* (S. Salamonii Carriere)). In experiments on rats (chronic proliferative inflammation model - cotton granuloma) comminuted powders of the studied objects possess reliable anti-exudative activity in effective dose of 68 mg/kg, wherein the powders of the bark and branches of the weeping willow were comparable with the drug diclofenac. By the level of proliferation reduction 3 of the object (the bark of both species of willow and weeping willow branches) significantly inhibit the formation of granulation tissue in relation to the control group. Thus the maximum effect from the studied objects possesses the weeping willow bark, not yielding in the granulation tissue formation decrease to the comparison drug diclofenac. The revealed effects of the weeping willow and its hybrid with white willow bark and branches powders to a certain extent, promote tissue regeneration in inflammation. Ulcerative action of all of the studied objects was significantly lower than in animals treated with diclofenac. Consequently, their prolonged use in the therapy of the inflammatory joints diseases is more secure.

Keywords: weeping willow (*Salix babylonica* L.), hybrid of weeping willow with white willow (*Salix babylonica* x *alba* (*S.Salamonii* Carriere)), bark, branches, anti-inflammatory action, ulcerative action.

Более половины населения планеты страдает заболеваниями опорно-двигательного аппарата. Так как в терапии данного заболевания назначают нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) наиболее частым осложнением является эрозивно-язвенные повреждения слизистой желудочно-кишечного тракта. Известно, что из НПВС сильным ulcerогенным влиянием обладают кеторолак, пироксикам, лорноксикам, индометацин, бутадион, кислота ацетилсалициловая (аспириновые язвы желудка), а наиболее безопасными препаратами из этой группы считают ингибиторы ЦОГ-2, к которым относят ацеклофен, мелоксикам, нимесулид, набуметон, целекоксиб, хотя и они могут повреждать слизистую оболочку желудка. В то же время известно о наличии лекарственных растений, обладающих противовоспалительным действием. Мировые тенденции свидетельствуют о росте их применения в терапии заболеваний суставов. Чаще всего речь идет о сочетанном приеме, позволяющем существенно снизить дозу НПВС и предотвратить побочные эффекты гастротоксического действия [4, 7].

Одним из таких растений является ива, которая давно применяется в народной медицине как противовоспалительное и обезболивающее средство. В настоящее время кора ивы включена в Европейскую, Британскую и Американскую травяную фармакопеи, а также входит в состав официально зарегистрированных лекарственных средств и гомеопатических препаратов [8,9,10]. К числу фармакопейных согласно Европейской Фармакопее (ЕФ) относятся ивы с содержанием салицина более 1,5% (после щелочного гидролиза). В качестве сырья используется кора молодых ветвей или целые однолетние ветки диаметром не более 10 мм [9]. В Российской Федерации ива не является фармакопейным растением. На сегодняшний день у нас в стране зарегистрировано только одно ЛС, содержащее иву – «Инсти» (травяные гранулы, содержащие густой водный экстракт нескольких растений, основное из которых – кора ивы белой) производства Herbion Pakistan (Pvt) LTD (Пакистан) [1]. Кора ивы выпускается самостоятельно в виде биологически активных добавок (БАД) в г. Москве, г. Санкт-Петербурге, в Алтайском крае и входит в состав многих комплексных БАД [5]. Большие сырьевые запасы и возможность культивирования в различных регионах нашей страны дают предпосылки для включения разных видов ивы в Государственную Фармакопею.

Целью исследования является изучение противовоспалительного и ulcerогенного действия потенциально новых видов лекарственного растительного сырья – порошков из

коры и побегов ивы вавилонской (*Salix babylonica* L.) и гибрида ивы вавилонской с ивой белой (*Salix babylonica* x *alba* (S.Salamonii Carriere)).

Методы исследования

Исследование проводили на образцах побегов и коры ивы вавилонской и ее гибрида с ивой белой, собранных в Ставропольском крае, в окрестностях г. Пятигорска (район поймы реки Подкумок) в июне, июле и сентябре 2013г. и 2014 гг. Сбор коры производили с 2-4 летних ветвей ивы методом кольцевого среза. Сбор побегов (однолетних ветвей длиной не более 30 см с листьями) проводился путем срезки с помощью ножа или секатора. Сырье было высушено в естественных условиях. Данные виды ивы были выбраны в связи с возможностью их успешного культивирования в южных регионах России, что позволит в перспективе выращивать и заготавливать сырье в промышленных масштабах без существенного ущерба для естественных пойменных ивняков.

Для проведения экспериментов готовили водные суспензии измельченных до мелкодисперсного состояния побегов и коры ивы вавилонской и ее гибрида с ивой белой. При выборе дозировки исходили из дозировки капсул «Кора ивы белой – White Willow Bark» («Sunrider Manufacturing, L.P.», США), содержащих 400 мг измельченного сырья. В аннотации к ним указана суточная доза 400-800 мг [5]. Исследуемые объекты вводились крысам в дозе 68 мг/кг, что соответствует приему человеком в сутки 800 мг порошка. Ранее было установлено, что именно эта дозировка является оптимальной [2]. Для перерасчета доз используемых препаратов на 1 кг массы тела животного разовую дозу в расчете на 1 кг массы тела человека увеличивали в 5,9 раз. Для устойчивости суспензии предварительно порошок растительного сырья (900 мг) растирали с 3 каплями Твина-80. Далее порциями воды очищенной кору и побеги ивы вавилонской и ее гибрида количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили водой очищенной до метки. Крысе массой 200 г вводили 1,5 мл суспензии.

Препаратом сравнения служил диклофенак, который является одним из наиболее часто применяемых НПВС. На настоящий момент в Государственный реестр лекарственных средств включено 264 наименования ЛС, содержащих диклофенак [1]. Вещество вводилось крысам в дозе 8,5 мг/кг, что соответствует приему человеком терапевтической дозы – 100 мг в сутки, также в виде водной суспензии на Твине-80.

Для оценки противовоспалительной активности был выбран метод «ватной» гранулемы, который является одной из наиболее адекватных моделей хронического пролиферативного воспаления [9]. Исследование выполнено на 36 крысах-самках линии Wistar весом 200-220 г (на момент начала эксперимента). Во время эксперимента животные содержались в контролируемых условиях: температура окружающего воздуха $22\pm 2^{\circ}\text{C}$,

относительная влажность $65\pm 5\%$. Для размещения животных применялись макролоновые клетки Т-3 оборудованные стальными решетчатыми крышками, с кормовым углублением. В качестве подстилочного материала применялись древесные опилки нехвойных пород древесины. Животные содержались на стандартном пищевом рационе со свободным доступом к корму (Полнораационный комбикорм рецепт ПК-120 для содержания лабораторных животных, ГОСТ Р 50258-92, производитель ООО «Лабораторкорм») и воде. Вода водопроводная подавалась в стандартных питьевых бутылочках.

Методика заключалась в следующем: у белых крыс, находящихся под хлоралгидратным наркозом (доза 350 мг/кг), в области спины выстригалась шерсть. В асептических условиях ножницами делался разрез кожи и подкожной клетчатки длиной около 1 см, пинцетом в подкожной клетчатке через разрез формировалась полость, куда помещался простерилизованный ватный шарик массой 15 мг, после чего на рану накладывалось два шва. На восьмые сутки опыта имплантированный шарик с образовавшейся вокруг него грануляционной тканью извлекался, взвешивался, затем высушивался до постоянной массы при $60-65^{\circ}\text{C}$. О величине экссудативной фазы воспаления судили по разнице в массе (мг) шарика до и после высушивания, о величине пролиферативной фазы – по разнице в массе (мг) высушенного шарика с его исходной массой 15 мг [3].

Экссудацию рассчитывали по формуле (1):

$$m_3 = m_1 - m_2, \quad (1)$$

где m_3 – экссудация, г;

m_1 – масса ватного шарика сразу после извлечения из животного, г;

m_2 – масса ватного шарика после высушивания, г.

Пролиферацию рассчитывали по формуле (2):

$$m_4 = m_2 - 0,015, \quad (2)$$

где m_4 – пролиферация, г;

m_2 – масса ватного шарика после высушивания, г.;

0,015 – исходная масса ватного шарика, г.

Изучаемые измельченные побеги и кору ивы вавилонской и гибрида, а также препарат сравнения в эквивалентном объеме воды вводили с помощью зонда в желудок в течение 7 дней. Контрольным животным таким же образом вводили физиологический раствор.

Для изучения ulcerогенного действия исследуемых объектов после удаления ватных гранулём испытуемых животных декапитировали под хлоралгидратным наркозом, извлекали желудки, рассекали по малой кривизне и промывали в изотоническом растворе натрия

хлорида для удаления содержимого и оценивали степень влияния исследуемых веществ на слизистую оболочку. Степень повреждения желудка оценивали в баллах:

0 баллов – отсутствие повреждений,

1 балл – единичные незначительные повреждения (1 или 2 точечных кровоизлияния);

2 балла – множественные повреждения (эрозии, точечные кровоизлияния);

3 балла – значительные и множественные повреждения слизистой оболочки;

4 балла – грубые повреждения, охватывающие всю поверхность слизистой оболочки (массивные кровоизлияния, эрозии, перфорации) (таблица 2).

Статистически обработанные данные представлены в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее, m – ошибка среднего. Достоверность результатов оценивали параметрически по Т-критерию Стьюдента. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05. Объем выборки $n=6$ в каждой группе животных. Т-критерий Стьюдента – рассчитывали по формуле (3):

$$T = \frac{(M_{\text{контроль / препарат сравнения}} - M_{\text{вещества}})}{\sqrt{m^2_{\text{контроль / препарат сравнения}} + m^2_{\text{вещества}}}} \quad (3)$$

где M – среднее значение;

$m = (\text{наибольшее значение} - M) * 0,18$.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование влияния измельченных побегов и коры ивы вавилонской и ее гибрида с ивой белой на развитие хронического пролиферативного воспаления на модели «ватной» гранулемы показало, что порошки, полученные из коры и побегов ивы вавилонской и ее гибрида с ивой белой достоверно уменьшили экссудацию по сравнению с контрольной группой на 39%; 40% и 35 %; 35% соответственно (таблица 1). Сравнение этого показателя в опытных группах с группой, получавших диклофенак (препарат сравнения), не выявило достоверных отличий, кроме группы, получавших порошок побегов гибрида (достоверное большее значение показателя экссудации на 7% по сравнению с диклофенаком). В целом порошки побегов и коры ивы вавилонской проявили большую антиэкссудативную активность по сравнению с порошками коры и побегов гибрида, но это отличие не было достоверным.

Анализ влияния объектов исследования на пролиферативную стадию воспаления показал, что 3 исследуемых объекта (кора обоих видов ивы и побеги ивы вавилонской) достоверно угнетают образование грануляционной ткани по отношению к контрольной группе.

Таблица 1

Результаты определения противовоспалительной активности порошков побегов и коры ивы вавилонской и гибрида в сравнении с диклофенаком

Объект, доза	Экссудация, мг	Пролиферация, мг
Контроль	210,0±7,08	33,0±2,93
Диклофенак, 8,5 мг/кг	128,0±2,31* (-39%)	15,0±0,73* (-55%)
Побеги ивы вавилонской, 68 мг/кг	126,7±5,60* (-40%)	22,5±2,03* (-32%); ^Δ (+50%)
Кора ивы вавилонской 68 мг/кг	127,5±6,21* (-39%)	15,3±2,75*(-54%)
Побеги гибрида, 68 мг/кг	137,2±2,77* (-35%); ^Δ (+7%)	29,5±5,36 ^Δ (+97%)
Кора гибрида, 68 мг/кг	136,3±4,29* (-35%)	21,8±1,74* (-34%); ^Δ (+45%)
Примечание: *– достоверно по отношению к контролю; ^Δ – достоверно по отношению к диклофенаку		

Порошок побегов гибрида снижал уровень пролиферации на 11%, но эти данные были недостоверными (нет достоверных отличий от контрольной группы животных). По показателю «пролиферация» из исследуемых объектов максимальное воздействие оказала кора ивы вавилонской, не уступая по уменьшению образования грануляционной ткани препарату сравнения диклофенаку. Побеги и кора гибрида, а также побеги ивы вавилонской достоверно отличались от диклофенака (уровень пролиферативных изменений был выше, чем в данной группе) (таблица 1).

Таблица 2

Изучение ulcerогенного действия исследуемых объектов

Объект	Доза, мг/кг	Ульцерогенная активность (баллы)
Контроль	0,0	0,0
Диклофенак	8,5 мг/кг	2,2±0,31
Побеги ивы вавилонской	68мг/кг	0,3±0,21* (-86%)
Побеги гибрида	68мг/кг	0,2±0,16*(-91%)
Кора ивы вавилонской	68 мг/кг	0,5±0,22* (-77%)
Кора гибрида	68 мг/кг	0,3±0,21*(-86%)
*– достоверно по отношению к диклофенаку		

Диклофенак в исследуемой дозе 8,5 мг/кг вызвал повреждение слизистой желудка у 100 % животных, степень повреждения слизистой оболочки желудка составила 2,2 балла (таблица 2). В основном это множественные повреждения слизистой оболочки (эрозии, кровоизлияния). Минимальная степень повреждения наблюдалась при применении суспензии, полученной из побегов гибрида (0,2 балла). Слабое ulcerогенное действие

проявилось под влиянием коры гибрида и побегов ивы вавилонской (наблюдалась лёгкая гиперемия, незначительные единичные точечные кровоизлияния у 1-2 животных в группе).

Выводы:

1. В опытах на крысах на модели хронического пролиферативного воспаления (ватной гранулемы) измельченные порошки изучаемых объектов в эффективной дозе 68 мг/кг обладают достоверной антиэкссудативной активностью, при этом порошки коры и побегов ивы вавилонской оказались сопоставимы с лекарственным средством диклофенак.
2. По ограничению пролиферации 3 исследуемых объекта (кора обоих видов ивы и побеги ивы вавилонской) достоверно угнетают образование грануляционной ткани по отношению к контрольной группе. При этом из исследуемых объектов максимальное воздействие оказала кора ивы вавилонской, не уступая по уменьшению образования грануляционной ткани препарату сравнения диклофенаку.
3. Выявленные эффекты порошков коры и побегов ивы вавилонской и ее гибрида с ивой белой в определенной степени способствуют регенерации тканей в очаге воспаления.
4. Ульцерогенная активность всех изученных объектов была достоверно ниже, чем у животных, получавших диклофенак. Следовательно, их длительное применение при воспалительных заболеваниях суставов более безопасно.

Список литературы

1. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс].-Электрон. дан.- М., 2014.-Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/>. (дата обращения: 11.08.15).
2. Компанцева, Е.В., Фролова, О.О., Савенко, И.А. Изучение противовоспалительной активности побегов ивы белой //Проблемы фармацевтической науки и практики: материалы IV Межрегион. науч.-практ. конф. с междунар. участием (Владикавказ, 30–31 мая 2014 г.).- Владикавказ, 2014.- С.206-209.
3. Меньшиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. – М.: Медицина, 1987. – 365 с.
4. Прохоров, И.Е. Место и роль использования фитопрепаратов в терапии суставной формы ювенильного ревматоидного артрита //Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2008. – Т.17, №1. – С.81-84.
5. Реестр продукции, прошедшей государственную регистрацию [Электронный ресурс].- Электрон. дан.-М., 2014.-Режим доступа: <http://fp.crc.ru/gosregfr/> (дата обращения: 11.08.15).
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева.- М.: Медицина, 2005.-С.695-709.

7. Chrubasik S. Evidence of effectiveness of herbal anti-inflammatory drugs in the treatment of painful osteoarthritis and chronic low back pain // *Phytother. Res.* – 2007. – Vol. 21. – P.675-683.
8. Willow bark [monograph]: *British Pharmacopoeia.*- London, 2009.- Vol. III. Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations-3p.
9. Willow bark [monograph]: *European Pharmacopoeia.*- 5 ed.- Strasbourg, 2005. -P.2702.
10. Willow bark *Salix* spp. Analytical, quality control and therapeutic monograph // *American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium.* - Santa Cruz, 1999.-16p.

Рецензенты:

Погорелый В.Е., д.б.н., профессор, профессор кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Волгоград;

Доркина Е.Г., д.б.н., доцент, заведующая кафедрой биологической химии и микробиологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Волгоград.