

## ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СУХОГО ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ ВИНОГРАДА *VITIS VINIFERA L.* СОРТА «ИЗАБЕЛЛА»

Арльт А.В.

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск, e-mail: prk@pmedpharm.ru*

Настоящее экспериментальное исследование посвящено изучению некоторых биологических свойств сухого экстракта листьев винограда культурного *Vitis vinifera L.* сорта «Изабелла». Известно о том, что извлечения из лекарственного растительного сырья могут оказывать достаточно высокие эффекты фармакологического воздействия и подчас не уступают в эффективности некоторым официальным препаратам по действию на органы и ткани организма. Важно отметить, что в народной медицине применяют не только ягоды и сок винограда, но и листья. Ранее проведенными исследованиями выявлено содержание в листьях винограда *Vitis vinifera L.* определенного количества кверцетина, аскорбиновой и яблочной кислот. Также выделены дубильные вещества, каротин, аллоксуровые основания, натрий, калий, железо, кремний. Известно, что многие экстракты из лекарственных растений могут представлять несомненный интерес для создания новых лекарственных препаратов в фармацевтической промышленности. В данном исследовании изучались некоторые виды фармакологической активности – противовоспалительная, диуретическая и кровоостанавливающая. Задачей проведенных исследований было изучение вышеперечисленных видов активности у животных (крыс линии Wistar) сухого экстракта листьев винограда. Препаратом сравнения служил настой листьев шалфея лекарственного. Изучали три вида активности – противовоспалительную, диуретическую и влияние на свертывающую систему крови сухого экстракта листьев винограда культурного *Vitis vinifera L.*, а также настоя шалфея лекарственного (*Salvia officinalis L.*) в качестве маркерного препарата сравнения на лабораторных животных. Полиmodalная направленность действия, поливалентность терапии является ее важным достоинством для перспективности изучения извлечений из растительного природного сырья. В результате исследования установлено, что водный раствор экстракта винограда достоверно уменьшал фазу экссудации и пролиферации на 21,6 и 35,9% соответственно относительно контрольной группы животных к концу эксперимента. Хотелось бы отметить тот факт, что растительные объекты, изучаемые нами, являются намного менее токсичными по сравнению с синтетическими веществами, применяемыми в медицине, что вызывает интерес в экспериментальной фармакологии.

Ключевые слова: эксперимент, экстракт листьев винограда культурного, лабораторные животные, диуретическая, противовоспалительная, кровоостанавливающая активность.

## STUDY OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE DRY EXTRACT OF THE LEAVES OF THE ISABELLA GRAPE VARIETY

Arlt A.V.

*The Pyatigorsky Medical and Pharmaceutical Institute - a branch of the FGBOU VO «Volgograd State Medical University» of the Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, e-mail: prk@pmedpharm.ru*

This experimental study is devoted to the study of some biological properties of the dry extract of the leaves of the cultivated *Vitisvinifera L.* grape variety "Isabella". It is known that extracts from medicinal plant raw materials can have quite high pharmacological effects and sometimes are not inferior in effectiveness to some official drugs in their effect on the organs and tissues of the body. It is important to note that in folk medicine, not only berries and grape juice are used, but also leaves. Earlier studies revealed the content of *Vitis vinifera L.* in the leaves of grapes. a certain amount of quercetin, ascorbic acid, and malic acid. Tannins, betadine, carotene, aloxuric bases, sodium, potassium, iron, and silicon are also isolated. It is known that many extracts from medicinal plants can be of undoubted interest for the creation of new medicines in the pharmaceutical industry. In this study, some types of pharmacological activity were studied – anti-inflammatory, diuretic and hemostatic. The aim of the research was to study the above-mentioned types of activity in animals (Wistar rats) and to study the dry extract of grape leaves. The comparison drug was an infusion of sage leaves. We studied two types of activity – pro-inflammatory and the effect on the blood clotting system of dry extract of the leaves of cultivated grape *Vitis vinifera L.* and infusion of medicinal sage (*Salvia officinalis L.*) as a marker drug for comparison in laboratory animals. The polymodal orientation of the action, the polyvalence of the therapy is its important advantage for the prospects of studying extracts from plant natural raw materials. As a result of the study, it was found that the aqueous solution of grape extract significantly reduced the phase of exudation and proliferation by 21.6 and 35.9%, respectively,

**relative to the control group of animals by the end of the experiment. I would like to note the fact that the plant objects studied by us are much less toxic compared to synthetic substances used in medicine, which is of interest in experimental pharmacology.**

Keywords: experiment, cultured grape leaf extract, laboratory animals, diuretic, anti-inflammatory, hemostatic activity.

В настоящее время широко применяются лекарственные средства, имеющие растительное происхождение. Это связано с тем, что такие вещества имеют ряд преимуществ по сравнению с синтетическими. Известно, что вещества растительного происхождения достаточно удобны в применении при длительной терапии хронических, вялотекущих патологий или в период реконвалесценции, по окончании острой стадии. В связи с этим в настоящее время большой процент лекарственных препаратов, имеющих на фармацевтическом рынке, имеет в себе растительную составляющую. Цена, удобство, минимальные побочные эффекты делают привлекательными растительные препараты, и с каждым годом благодаря этим свойствам увеличивается их номенклатура. Несмотря на то что по скорости достижения фармакологического эффекта растительные препараты проигрывают чаще синтетическим лекарственным средствам, тем не менее их терапевтический эффект надежен и минимально повреждает системы организма при правильном, адекватном разработанном курсе лечения. Известно, что препараты, получаемые из лекарственных растений и сырья, как правило, высокоэффективны и довольно часто применяются для длительной фармакотерапии. В производственных программах ведущих фармацевтических компаний мира фитопрепараты занимают одно из ведущих мест. Многие лекарственные растения, применяемые в пищевой промышленности, представляют интерес для изучения в фармацевтической практике. Одним из интересных растений, применяемых в медицине и пищевой промышленности, является виноград. И по сей день лекарственные препараты из винограда не потеряли свою уникальность и актуальность.

Виноград культурный с давних времен применяется для лечения заболеваний почек, печени, легких, сердечно-сосудистой системы и других заболеваний. Виноград способствует снижению уровня холестерина в крови, обладает муколитическим действием, облегчает отхаркивание. Обладает потогонным, мочегонным и слабительным действием. Также эффективен при анемии, воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта, при плевритах, туберкулезе легких, бронхиальной астме, геморрое и т.д. Важно отметить, что в народной медицине применяют не только ягоды и сок винограда, но и листья. Виноградные листья *Vitis vinifera* L. имеют в своем составе такие вещества, как сахар, кверцетин, инозит, дубильные вещества, каротин, бетаин, аллоксуровые основания, кислоты: протокатехиновую кислоту. Чаще всего жидкие извлечения виноградных листьев используются в терапии нарушения обмена кислоты щавелевой, способствуют выведению избыточного количества этой кислоты. Также в литературных источниках имеются сведения о применении наружно

для полосканий при заболеваниях ротовой полости, для компрессов при заболеваниях кожи, для ускорения заживления ран. Порошок листьев винограда в народной медицине применяется внутрь при маточных кровотечениях [1; 2]. Дать характеристику лекарственным растениям, содержащим флавоноиды, очень сложно, так как большое значение имеют вид и количество флавоноидов в растении. Флавоноиды отличаются своими физическими и химическими свойствами, поэтому нельзя однозначно указать какое-то одно действие, характерное для них. Но все же есть некоторые эффекты, характерные для флавоноидов. Они эффективны при нарушениях проницаемости капилляров, при определенных нарушениях сосудистой и сердечной деятельности. Поэтому представляло интерес изучить кровоостанавливающее действие водного экстракта листьев винограда.

Цель исследования: изучение действия сухого экстракта листьев винограда культурного *Vitis vinifera* L. сорта «Изабелла» на лабораторных животных. Провести экспериментальное изучение противовоспалительной, диуретической и кровоостанавливающей активности в сравнении с контрольной группой животных и препарата сравнения [3].

#### **Материал и методы исследования**

Исследование проводили на 56 лабораторных крысах линии Wistar весом по 250-270 г. Содержание лабораторных животных соответствовало Европейским требованиям [4] по работе с животными. Противовоспалительную активность водного раствора сухого экстракта листьев винограда изучали на белых крысах с помощью метода фетровой гранулемы. Противовоспалительную активность водного раствора сухого экстракта листьев винограда изучали с помощью методик, которые давали возможность выявить и оценить фазы воспаления, такие как фаза экссудации и фаза пролиферации. Для проводимого эксперимента брали белых крыс обоего пола, находящихся в виварии института. Температура в виварии была равна 23-24 градусам тепла. За сутки до эксперимента кормление животных было только в первой половине дня. Вода давалась животным без ограничений. Для изучения противовоспалительной активности выбирались животные без каких-либо повреждений кожи. Исследование проводили на трех группах крыс по восемь животных в каждой серии. Для проведения эксперимента также готовили и стерилизовали ватные шарики, которые весили по пятнадцать миллиграммов. Экспериментальных животных вводили в наркоз с помощью хлоралгидрата в дозе триста миллиграммов на килограмм веса крысы. Наркозное средство вводили внутривентриально. Животным на спине удаляли шерсть, операционное поле обрабатывали спиртом, после чего ножницами делали разрез на коже. Длина разреза составляла 1 см. Стерильным пинцетом в разрезе образовывали полость, в которую помещали приготовленные заранее ватные шарики. Разрез зашивали и обрабатывали спиртом.

Ежедневно, в течение семи дней, один раз в сутки экспериментальной группе животных с помощью зонда вводили per os раствор экстракта листьев винограда в дозе двенадцать миллилитров на килограмм веса в сутки. Препаратом сравнения был настой листьев шалфея лекарственного, который вводили второй группе животных в том же объеме, что и изучаемый раствор. Третьей, контрольной группе животных, назначен был 0,9%-ный раствор натрия хлорида, который тоже вводили один раз в сутки в течение семи дней. Объем вводимой жидкости был одинаков для всех групп крыс и составлял три миллилитра. Через семь дней после операции, в асептических условиях, у наркотизированных крыс имплантированные шарики с образовавшейся вокруг них гранулемой извлекали и взвешивали. Затем эти гранулемы высушивали в сушильном шкафу при 60 °С до постоянного веса. Различные факторы, оказывающие влияние на развитие гранулемы, указывают на отдельные фазы воспалительного процесса, возникающие при подкожном введении ватного шарика. Состояние экссудативной фазы оценивалось по разнице в весе между весом сырой гранулемы и гранулемой, высушенной до постоянного веса. Состояние пролиферативной фазы оценивалось разницей в весе между высушенной гранулемой и исходным весом ватного шарика [5; 6]. Диуретическая и кровоостанавливающая активность изучалась согласно руководству [7] по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. При изучении кровоостанавливающей активности сухого экстракта листьев винограда выбирались животные с чистым кожным покровом.

Белым крысам обоего пола весом 225-250 г под хлоралгидратным наркозом (300 мг/кг массы тела, внутрибрюшинно) на боковой поверхности бедра удаляли волосяной покров. Кожу обрабатывали 70%-ным спиртом. После чего в стерильных условиях вырезали рану на правом бедре площадью 3,14 см. Затем тампон, смоченный физиологическим раствором для контрольных животных, или водным раствором сухого экстракта листьев винограда (100 мг/кг веса животного) для второй группы животных, прикладывали к ране до остановки кровотечения. В каждой группе было по 8 животных. Время кровотечения регистрировали секундомером. Влияние экстракта листьев винограда на диурез изучали на 16 белых крысах линии Wistar, которые предварительно находились на двухнедельном карантине в стандартных условиях вивария. Накануне эксперимента животные не получали пищу и воду. Для эксперимента брали две группы животных, по восемь особей в каждой. Первая группа животных получала водный раствор сухого экстракта из листьев винограда (100 мг/кг веса животного), вторая – 0,9%-ный раствор натрия хлорида в эквивалентном объеме. Растворы вводили интрагастрально с помощью зонда. Через полчаса после введения растворов животным делали водную нагрузку также с помощью зонда (из расчета 25 мл/кг веса животного). Животных, получивших 0,9%-ный раствор натрия хлорида и водный раствор

экстракта винограда *Vitis vinifera* L., помещали в «обменные клетки». Мочу собирали в градуированные пробирки и в течение пяти часов проводили учет диуреза. Получение сухого экстракта из листьев винограда *Vitis vinifera* L. сорта «Изабелла» проводили с помощью диспергирования исследуемого сырья, в качестве экстрагента нами был выбран спирт этиловый 40%-ной концентрации. В последующем производили вакуумное выпаривание. Следующей стадией процесса являлась сушка, которая производилась в сушильно-вакуумной установке (при температурном режиме 60-70 °С). В результате проведенных технологических операций нами был получен хорошо растворимый в водном растворе порошок. Полученный порошок представлял собой светло-коричневую массу с характерным запахом. Также нами был определен качественный и количественный состав полученного порошка с комплексом биологически активных веществ. Для определения мы использовали физико-химические методы анализа. Основываясь на физико-химических свойствах, проводили определение температуры плавления, удельного вращения гликозидов. Также провели сравнение с ультрафиолетовым, инфракрасным, масс-спектра, протонного магнитного резонанса спектров (УФ-, ИК-, масс-, ПМР-спектров) со спектром маркерных образцов. Из серии химических реакций использовали цианидовую пробу. Количественный состав флавоноидов измеряли с помощью спектрофотометрии. Содержание флавоноидов было равно 1,55%. В сырье также были обнаружены дубильные вещества (4,7%), фенолкарбоновые кислоты (0,94%), каротиноиды (3,75 мг/%), витамин К (0,13 мг/%) [8; 9]. С помощью компьютерной программы BioStat 4.03 проводили статистические обработки полученных нами данных. В расчет брали критерий Манна-Уитни. По критерию различия считались достоверно значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** Так как листья винограда содержат флавоноиды, которые влияют на проницаемость сосудов, было интересно изучить влияние водного раствора сухого экстракта винограда на остановку кровотечения из раны. Результаты эксперимента представлены в таблице 1.

Таблица 1

Влияние водного раствора сухого экстракта листьев винограда на длительность кровотечения из раны у белых крыс ( $n=8$ ,  $M \pm m$ )

Используемые растворы	Число животных	$M \pm m$ (сек.)
Водный раствор сухого экстракта винограда ( <i>Vitis vinifera</i> L.)	8	$20,0 \pm 0,8$ *
Физиологический раствор (контроль)	8	$32,0 \pm 0,54$

Примечание: \* - достоверно относительно контроля.

Изучаемый водный раствор сухого экстракта винограда достоверно уменьшает кровотечения относительно контроля, то есть обладает кровоостанавливающим действием, так как в 1,6 раза быстрее вызывал остановку кровотечения из раны при прикладывании к ней тампона, смоченного изучаемым раствором, по сравнению с физиологическим раствором. Важную роль в остановке кровотечений играет система гемостаза, которая находится под контролем нейрогуморальных механизмов. Эти механизмы способствуют тому, что процесс свертывания крови, который необходим для предотвращения потери крови, не приводит к процессу общего внутрисосудистого свертывания крови [10; 11]. К достоинствам местных кровоостанавливающих средств относится то, что они отвечают требованиям, предъявляемым к кровоостанавливающим препаратам. Они обеспечивают довольно быстро остановку кровотечения, предупреждают возврат кровотечения и обычно не обладают раздражающим действием. Известно, что настой листьев винограда с давних времен в народной медицине используется как средство при различных воспалениях. Поэтому решили изучить противовоспалительную активность на крысах. Результаты противовоспалительной активности представлены в таблице 2.

Таблица 2

Влияние водного раствора сухого экстракта листьев винограда на противовоспалительную активность (n=8, M $\pm$ m)

Используемые растворы	Количество животных	Экссудация (мг)	Пролиферация (мг)
Водный р-р сухого экстракта винограда ( <i>Vitis vinifera</i> L.)	8	241,4 $\pm$ 5,2 &*	48,8 $\pm$ 1,34 & *
Препарат сравнения	8	267,1 $\pm$ 3,4 &	57,3 $\pm$ 1,31 &
Контроль	8	307,8 $\pm$ 3,2	76,2 $\pm$ 3,1

Примечания: & - p <0,05, результаты достоверны относительно контроля; \* - p <0,05, результаты достоверны относительно препарата сравнения.

Разница в весе между сырой гранулемой и высушенной указывала на экссудативную реакцию. Пролиферативная реакция оценивалась по разнице в весе между высушенной гранулемой и исходным весом ватного шарика. В результате изучения влияния водного раствора сухого экстракта листьев винограда на воспалительный процесс установили, что он уменьшает фазу пролиферации на 14,9% и фазу экссудации на 9,7% относительно настоя шалфея лекарственного и соответственно на 35,9% и 21,6% относительно физиологического

раствора. В результате экспериментальной работы выявлено, что водный раствор экстракта винограда *Vitis vinifera* L. обладает противовоспалительным действием, которое по своей активности выше, чем у настоя шалфея лекарственного. Отвар семян винограда в народной медицине применяется как мочегонное средство. Известно, что растения, содержащие флавоноиды, обладают мочегонной активностью, влияя на фильтрацию в почках, поэтому представляло интерес изучить диуретическую активность водного раствора сухого экстракта листьев винограда [12]. Результаты эксперимента были статистически обработаны и представлены в таблице 3.

Таблица 3

Влияние водного раствора сухого экстракта листьев винограда на диурез у белых крыс (n=8, M ±m)

Изучаемые растворы	Число животных	M ± m (мл)
Водный раствор сухого экстракта листьев винограда ( <i>Vitis vinifera</i> L.)	8	5,72 ± 1,3*
0,9%-ный раствор натрия хлорида (контроль)	8	2,4 ± 0,3

Примечание: \* - достоверно относительно контроля.

Результаты эксперимента свидетельствуют, что водный раствор сухого экстракта листьев винограда обладает интенсивным мочегонным действием по сравнению с контролем. Для того чтобы результат эксперимента был более точным, пересчитывали объем выделяемой мочи на 100 граммов веса животного. Диуретическая активность в группе животных, получавших 0,9%-ный раствор натрия хлорида (контроль) в пересчете на 100 граммов веса животных, составила 0,96 миллилитра, а изучаемого водного раствора сухого экстракта листьев винограда на 100 граммов массы тела животного - 2,3 миллилитра. Это говорит о том, что объем мочи, собранной за время эксперимента у животных, получавших водный раствор сухого экстракта листьев винограда, в 2,4 раза больше, чем у контрольных животных.

**Вывод.** В ходе проведенных экспериментальных фармакологических исследований установлено, что сухой экстракт листьев винограда *Vitis vinifera* L. сорта «Изабелла» обладает кровоостанавливающим, противовоспалительным и мочегонным действием. Это проявилось в снижении экссудативной и пролиферативной стадии процесса воспаления. Все выше представленное объясняет перспективность применения экстракта из листьев винограда *Vitis vinifera* L. сорта «Изабелла» в современной экспериментальной и клинической фармакологии. И открывает возможность использования в комплексной терапии ряда патологий.

## Список литературы

1. Кирилюк А.А., Петрище Т.Л. Особенности влияния биологически активных веществ лекарственных растений на фармакологическую активность лекарственных средств // Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. 2017. № 2. С. 1-12.
2. Хотим Е.Н., Жигальцов А.М., Алладу Кумара Некоторые аспекты современной фитотерапии // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2016. С. 136-140.
3. Ивашев М.Н., Круглая А.А., Савенко И.А., Усманский Ю.В., Сергиенко А.В., Лысенко Т.А., Куянцева А.М., Арльт А.В., Зацепина Е.Е., Саркисян К.Х., Ефремова М.П., Шемонаева М.В., Масликова Г.В., Сампиева К.Т., Струговщик Ю.С., Врубель М.Е., Алиева М.У. Биологическая активность соединений из растительных источников // Фундаментальные исследования. 2013. № 10-7. С. 1482-1484.
4. Незнанов Н.Г., Бабахаян Р.В. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных // Качественная клиническая практика. 2002. Т. 1. № 4. С. 27-31.
5. Лысенко Т.А., Хитева О.О., Савенко И.А., Компанцева Е.В. Изучение противовоспалительной активности водных извлечений из коры и однолетних побегов ивы белой // Вестник новых медицинских технологий. 2011. Т. 18. № 3. С. 288-290.
6. Зацепина Е.Е., Ивашев М.Н., Сергиенко А.В., Лысенко Т.А. Экстракт жирного масла рапса и его адаптивное воздействие на пролиферативную фазу у крыс // Международный журнал экспериментального образования. 2013. № 3. С. 10-11.
7. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических субстанций. М., 2005. 832 с.
8. Айрапетова А.Ю., Ушакова Л.С., Лысенко Т.А., Лазарян Л.Д. Трутовик настоящий: химический состав и влияние на свертывание крови // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. Пятигорск. 2018. С. 4-7.
9. Манукян К.А., Айрапетян А.Ю., Шаталова Т.А., Лысенко Т.А. Получение, анализ соков лука победного и лука медвежьего, изучение их влияния на свертываемость крови // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. 2017. Т. 19. № 8. С. 200-202.
10. Губанова Е.А., Лысенко Т.А., Попова О.И., Ивашев М.Н. Противовоспалительная активность настоя травы шалфея мускатного (*salviasclarea* L., *lamiaceae*) // Вестник Воронежского государственного университета. 2009. № 2. С. 165-166.

11. Трифонов Ю.А., Колхир В.К., Сокольская Т.А., Ферубко Е.В., Курманов Т.Р. Фармакологическое исследование противоязвенного действия винограда листьев красных экстракта сухого (*Vitisvinifera* L.) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2011. № 11. С. 64–69.
12. Лесиовская Е.Е. Доказательная фитотерапия. М.: «ООО Группа Ремедиум», 2014. Т. 1. 224 с., Т. 2. 688 с.