

УДК 615.322: 615.276: 615.012.6: 616-002.197

АНАЛГЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ ІМБИРУ (*ZINGIBER OFFICINALE*)

¹Еберле Л.В., ^{1,2}Коберник А.О., ^{1,2}Кравченко І.А.

¹Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, м. Одеса

²Одеський національний політехнічний університет, м. Одеса

lidaeberle@gmail.com

Останніми роками різко виріс інтерес до продуктів рослинного походження та фітотерапії. На фармацевтичному ринку з'являється все більше препаратів рослинного походження. Пошук біологічно активних речовин рослинного походження становить науковий та практичний інтерес через те, що цим сполукам притаманний широкий спектр фармакологічної дії та низька токсичність.

Метою роботи було вивчення впливу мазей на основі густого екстракту імбиру на чутливість до хімічних та термічних подразників

Гострий больовий стрес моделювали в тестах «гаряча вода», «гаряча пластина» і «капсаїциновий тест». Чутливість до болю у тварин оцінювалася в усіх тестах через 10 хвилин після трансдермального нанесення мазей на основі густого екстракту імбиру.

Встановлено, що найкращі показники аналгетичної активності були у 0,05 % мазі на основі екстракту імбиру (в перерахунку на суму поліфенольних сполук), в порівнянні з іншими досліджуваними концентраціями.

Використання мазі з екстрактом імбиру ініціювало рецепторну відповідь на моделях з різним профілем больового роздратування (хімічні та термічні подразники), що дозволяє включити її в групу перспективних високоактивних анальгетиків зі складним механізмом дії.

Ключові слова: аналгетична активність, густий екстракт імбиру, термічне та хімічне подразнення.

Актуальність теми

Проблема болю та аналгезії займає одне з центральних місць у сучасній медицині і є предметом широкомасштабних мультидисциплінарних досліджень [1]. Біль є поширеним симптомом багатьох гострих і хронічних захворювань, який здатний впливати на формування та механізм передачі гуморальних та гемодинамічних реакцій.

Для купірування больових відчуттів існує цілий ряд синтетичних лікарських препаратів, які мають специфічну здатність послаблювати або усувати відчуття болю за короткий проміжок часу. Проте недоліком синтетичних аналгетичних препаратів є виникнення побічних ефектів при тривалому застосуванні, та-

ких, як: алергічні реакції, головний біль, роздратованість, підвищений рівень стомлюваності, підвищення артеріального тиску та ін. Тому пошук ефективних та безпечних лікарських засобів з аналгетичною дією залишається актуальним завданням сучасної фармакології.

Особливого інтересу заслуговують препарати рослинного походження, які здатні впливати на організм людини через комплекс біологічно активних речовин та мікроелементів. До числа таких потенційних джерел лікарських засобів можна віднести і кореневище імбиру, який містить цілий ряд фармакологічно активних речовин а саме: вітаміни В, С, А; амінокислоти триптофан, лізин, валін та ін.; ефірні масла, фенолоподібні речо-

вини капсаїцин, куркумін, гінгерол, шогаол та ін. [2, 3, 4, 5].

Згідно літературних даних, відомо, що протизапальну та знеболюючу властивість кореневищу імбиру забезпечує фенолоподібна речовина — гінгерол, яка здатна впливати безпосередньо на різні типи нейронів за рахунок зв'язування з відповідними клітинними рецепторами, а саме іонними каналами TRP рецепторів [6].

Відомо, що іонотропні рецептори TRPV₁ приймають пряму участь в механічному сприйнятті больового сигналу. Так експерименти на мишах показали, що відсутність цього рецептора призводить до значного підвищення порогу больової чутливості при теплових і запальних стимулах [7]. Вважається, що агоністи TRPV₁ (до, яких відноситься і гінгерол), можуть полегшувати біль при різних патологічних станах організму. Дослідження низькомолекулярних інгібіторів TRPV₁, підтверджують, що фармакологічна блокада цього рецептору може бути використана в терапії болю при запаленні, ракових захворюваннях та нейропатії [7, 8].

Метою дослідження було визначення концентраційнозалежного аналгетичного ефекту мазі на основі густого екстракту імбиру.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження порогу больової чутливості і потенційного аналгезуючого ефекту мазі з екстрактом імбиру проводили на 90 білих безпородних мишах вагою 18-22 г та 45 щурах масою (200-220 гр).

Для кожної моделі тестування було створено 9 груп тварин по 5 особин в кожній. Перша група тварин була контрольною, тваринам 2, 3, 4, 5, 6, 7 та 8 групи наносили мазі концентрацією 0,0125; 0,025; 0,05; 0,1; 0,5; 1 та 5 %, відповідно. Тваринам 9 групи наносили референт-препарат Анестезин (2 %), вибір даного препарату зумовлений його широким використанням при місцевій анестезії, а також здатністю анестезину активувати TRPV₁ канали [8]. Аплікацію

мазей при термічних та хімічних подразненнях проводили за 10 хвилин до початку тестування.

Базовим методом для вимірювання порогу больової чутливості і потенційного аналгезуючого ефекту фармакологічних препаратів у відповідь на термічне роздратування є тест «гаряча пластина» [9]. Для визначення аналгетичної активності на моделі термічного подразнення експериментальні тварини по черзі поміщались на пластину, нагріту до 55°C (Hot plate-метр, Columbus Instruments, США). Показником аналгетичної активності був час перебування тварини на гарячій пластині до появи оборонного рефлексу — облизування кінцівок. Аналгетичну активність визначали за здатністю отриманих сполук змінювати поріг больової чутливості експериментальних тварин у порівнянні із контрольною групою.

При дослідженні аналгетичної активності мазей в тесті «гаряча вода» больове подразнення моделювали шляхом занурення хвоста щура в гарячу воду температурою 53 °C [9]. Реєструючи латентний період висмикування хвоста твариною. Критерієм аналгетичного ефекту вважається достовірне збільшення латентного періоду реакції після нанесення мазі.

Визначення аналгетичної активності мазей у «капсаїциновому тесті» індукували субплантарним введенням 20 мкл (6 мкг/кінцівку) розчину капсаїцину у 1,2-пропіленгліколі. Одразу після ін'єкції розчину капсаїцину кожну тварину поміщали у прозорий бокс. За піддослідною твариною спостерігали протягом 5 хвилин та фіксували час, витрачений твариною на облизування ураженої кінцівки. Інтенсивність больової реакції, як у формаліновому так і у капсаїциновому тесті оцінювали за тривалістю патернів облизування (в секундах).

Аналгетичну активність агентів в хімічних тестах на біль представляли у вигляді середнього латентного часу в

групі та в залежності від відсоткового пригнічення больовий реакції (ПБР), який розраховуються за формулою:

$$\text{ПБР} = \frac{(T_{\text{контр.}} - T_{\text{досл.}})}{T_{\text{контр.}}} * 100$$

де T — час больовий реакції.

Достовірність відмінностей показників дослідних груп в порівнянні з контрольними були розраховані за допомогою t-критерію Стьюдента.

Експерименти на тваринах проводили відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших дослідних цілях» (Страсбург, Франція, 1986) [10].

Результати дослідження та їх обговорення

Для визначення ефективності знеболюючої дії мазі на основі густого екстракту імбиру дослідження проводили на моделях хімічного (викликаного капсаїцином) і термічного («гаряча пластина», «гаряча вода») больового подразнення, які розрізняються по між собою системою ноцицепції, шляхом проведення нервового імпульсу і його сприйняття.

Всі обрані нами фармакологічні моделі болю пов'язані із активацією TRP каналів: TRPV1, TRPV3 та TRPV4 іонні канали відповідають за появу гострого болю під впливом високих температур; капсаїцин є агоністом TRPV1 каналів [11, 12].

Першим етапом нашого дослідження було встановлення потенційної знеболюючої активності мазей на формування периферичного та центрального компонента ноцицептивної відповіді за умов термічного подразнення та порівняння їх анальгетичної дії з референт-препаратом.

Дослідження анальгетичної дії мазей на основі екстракту імбиру в тесті «гаряча пластина», показало, що у тварин контрольної групи латентний час в середньому становив 10 с тоді, як при використанні досліджуваних мазей різних концентрацій показники латентного часу достовірно відрізнялись від показників контрольної групи тварин та знаходились в межах від 12 до 20 с.

Результати вивчення анальгетичної активності мазей на основі екстракту імбиру на моделі термічного подразнення представлені на рис. 1.

Найбільш виражений антиноцицептивний ефект спостерігався у мазі концентрацією 0,05 % для якої показник больової чутливості складав 19 с та знаходився на рівні із референт-препаратом (19 с). Для мазей з концентраціями 0,025; 0,1; 0,5 % латентний час коливався у межах від 12 «17 с, що достовірно перевищувало показники контрольної групи тварин.

Варто зазначити, що при застосуванні 1 % та 5 % мазі анальгетичний ефект не спостерігався, а дані концентрації мазей проявляли себе, як додатковий подразник, викликаючи у тварин почервоніння та больові відчуття в кінцівках до початку тестування.

В тесті «гаряча вода» при аплікації мазей за 10 хвилин до експерименту, у переважної більшості піддослідних груп, подібно до референт-препарату спостерігається збільшення тривалості латентного періоду больової реакції тварин відносно контрольного показника, що

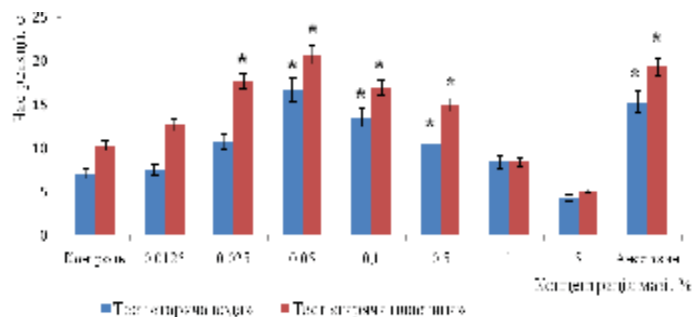


Рис. 1 Анальгетична активність мазей з екстрактом імбиру на термічних моделях подразнення.

може бути ознакою наявності аналгетичного ефекту. Проте найефективнішою виявилася 0,05 % мазь, яка за величиною знеболюючого ефекту перевищувала дію Анестезину (на 20 %). А тривалість

латентного періоду больової реакції перевищувала показники контрольної груп на 134 %. Менший за величиною знеболюючий ефект спостерігався під впливом мазей з концентраціями 0,025, 0,1 та 0,5 %, які за ефективністю в даному експерименті були нижче ніж референт-препарат (рис. 1).

Тести на термічних моделях подразнення з механічними чи температурними подразниками не завжди здатні забезпечити ефективну модель клінічної болі, оскільки базуються на коротких стимулах ступеневої інтенсивності, тому наступним етапом дослідження було визначення аналгетичної реакції на хімічних моделях подразнення, а саме на капсаїциновому тесті.

При індукуванні гострого болю за допомогою капсаїцину сумарний час больової реакції у експериментальних тварин контрольної групи склав 38 с; при використанні мазі, яка містила 2 % препарату-порівняння анестезину даний показник знизився до 17 с. Цікавим є той факт, що час реакції для більшості застосованих мазей (винятком є мазь 1 % та 5 %) достовірно відрізняється від часу реакції, зафіксованого у контрольній групі (табл. 1).

Найбільш виражену аналгетичну активність у капсаїциновому тесті продемонстрували мазі з концентрацією 0,025 % та 0,05 % для яких час реакції достовірно відрізнявся від показника, отриманого для препарату-порівняння анестезину ($17,21 \pm 1,27$ с), а поріг больової

Таблиця 1

Аналгетична активність мазей з екстрактом імбиру на капсаїциновому тесті

| № групи | Концентрація мазі, в % | Час реакції, с | у % до контролю | ПБР |
|---------|------------------------|------------------------------------|-----------------|--------------|
| 1 | Контроль | $38,3 \pm 1,7$ | 100 | |
| 2 | 0,0125 | $33,5 \pm 0,4$ | 87,4 | 12,60 |
| 3 | 0,025 | $15,3 \pm 0,3^*$ | 39,1 | 60,87 |
| 4 | 0,05 | $13,3 \pm 0,3^{**}$ | 33,9 | 66,08 |
| 5 | 0,1 | $20,6 \pm 0,1^*$ | 53,8 | 46,07 |
| 6 | 0,5 | $34,3 \pm 0,8$ | 89,5 | 10,44 |
| 7 | 1 | $54,5 \pm 1,1$ | 142,2 | ? |
| 8 | 5 | $66,3 \pm 1,6$ | 173,4 | ? |
| 9 | Анестезин | $17,21 \pm 1,27$ | 55,67 | 55,10 |

Примітка: * $p < 0,05$ відносно контролю.

реакції знаходився в межах від 60 до 66 %.

Слід відзначити, що збільшення концентрацій мазей від 1 до 5 % викликало у піддослідних тварин додаткову гостру ноцицептивну відповідь, яка тривала протягом 5 хв. Результати групи тварин №7 та № 8, представлених в табл. 3, демонструють виражену больову реакцію, яка проявлялась тривалим облизуванням уражених кінцівок (табл. 1).

Таким чином, на моделях термічно-хімічно-індукованого болю нами показано, що найбільшу антиноцицептивну активність проявляла 0,05 % мазь, яка в більшості досліджуваних тестах перевершувала дію сполуки-порівняння — анестезину.

Згідно літературних даних відомо, що моделі термічного та хімічно-індукованого болю пов'язані із активацією TRP каналів за рахунок приєднання до них прозапальних агентів, що в подальшому стимулює вивільнення субстанції P та інших медіаторів запалення [7]. Виходячи з отриманих результатів дослідження ми схильні думати, що виявлений нами аналгетичний ефект у 0,05 % мазі пов'язаний з конкурентною взаємодією гінгерола та хімічних подразників за зв'язок з TRP каналами (у випадку хімічних моделей) та пригніченням процесу синоптичної передачі ноцицептивної інформації (на термічних моделях).

Висновки

1. На моделях термічного та хімічного подразнення було встановлено, що 0,05 % мазь імбиру виявляла найвищий аналгетичний ефект шляхом зниження чутливості вісцеральних ноцицепторів на подразнювальну дію.
2. Показано, що екстракт імбиру проявляє змішаний тип рецепторного регування на моделях з різним профілем больового подразнення, що дозволяє віднести його до групи перспективних високоактивних анальгетиків з комплексним механізмом дії.

Література/References

1. Савохина М.В. Исследование аналгетической активности метакрукса. / М.В. Савохина // Теорет. і експ. медицина, медицина сьогодні і завтра. -2008. — № 4. -С. 15-17. / Savokhina M.V. Study of analgesic activity of metacrux. / MVSavokhina / / Theory. and exp. medicine, medicine, tomorrow. -2008. - No. 4.-С. 15-17.
2. Hasan H.A. Chemical composition and antimicrobial activity of the crude extracts isolated from Zingiber officinale by different solvents. /H.A. Hasan, A.M. Raauf, B.M. Razik, B.A. Hassan// Pharmaceutica Analytica Acta — 2012. — № 3. — P. 45 — 58.
3. Pavlyuk I. A study of the Chemical Composition and Biological Activity of Extracts from Wild Carrot (*Daucus carota* L.) Seeds Waste / I. Pavlyuk, N. Stadnytska, I. Jasicka-Misiak, B.Gyrka, P.P. Wiczorek, V. Novikov // Research Journal of pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. — 2015. — V6 (2). — P. 603 — 611.
4. Bager S. Assessment report on Zingiber officinale Roscoe, rhizoma / S. Bager, L. Ovesen. — London: European Medicines Agency. — 2012. — 49 p.
5. Wattanathorn J. Zingiber officinale mitigates brain damage and improves memory impairment in focal cerebral ischemic rat. / J.Wattanathorn, T. Jittiwat, S. Tongun, K. Muchimapura // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. — 2011. -P. 114 — 125.

6. Харкевич Д. А. Фармакология: 9-е изд. — М.: Изд-во ГЭОТАР-медиа, 2006. — 664 с.
7. Immke D.C., Gawa N.R. // Semin. Cell Dev. Biol. 2006. V. 17. P. 82 — 591.
8. Leffler A The vanilloid receptor TRPV1 is activated and sensitized by local anesthetics in rodent sensory neurons / A Leffler, M. J. Fischer, D. Rehner [et al.] // J. Clin. Invest. — 2008. — Vol. 118, № 2. — P. 763–776.
9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть I. М.: Гриф и К, 2012. 944 с. / A guide to preclinical drug research. Part I. М.: Grief and K, 2012. 944 с.
10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Specific Purposes, Strasbourg, Council of Europe. — 1986. — № 123 — P. 51.
11. Story G. M. The emerging role of TRP channels in mechanisms of temperature and pain sensation / G. M. Story // Curr. Neuropharmacol. — 2006. — V. 4, № 3. — P. 183–196.
12. Jaijoy K. Anti-inflammatory and analgesic activities of the water extract from the fruit of *Phyllanthus emblica* Linn. / K. Jaijoy, N. Soonthornchareonnon, A. Panthong, S. Sireeratawong // Int. J. Appl. Res. Nat. Prod. — 2010. — V. 3, № 2. — P. 28–35.
13. Bannon A. W. Current Protocols in Pharmacology / A. W. Bannon. — USA: Wiley, 1998. — P. 4239.

Резюме

**АНАЛГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
ГУСТОГО ЭКСТРАКТА ИМБИРЯ
(*ZINGIBER OFFICINALE*)**

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

В последние годы резко возрос интерес к продуктам растительного происхождения и фитотерапии. На фармацевтическом рынке появляется все больше препаратов растительного происхождения. Поиск биологически активных веществ растительного происхождения представляет научный и практический интерес из-за того, что этим соединениям присущ широкий спектр фармакологического действия и низкая токсичность.

Целью этой работы было изучение влияния мазей на основе густого экстракта имбиря на чувствительность к электрической и термической боли.

Острый болевой стресс моделировали в тестах «горячая вода», «горячая пластина» и «капсаициновый тест». Чувствительность к боли у животных оценивалась во всех тестах через 10 минут после трансдермального нанесения мазей на основе густого экстракта имбиря.

Установлено, что мазь с экстрактом имбиря с концентрацией 0,05 % (в пересчете на сумму полифенольных соединений) обладала наилучшим анальгетическим действием, на фоне других исследуемых концентраций мази.

Использование мази с экстрактом имбиря инициировало рецепторный ответ на моделях с различным профилем болевого раздражения (химические и термические раздражители), что позволяет включить ее в группу перспективных высокоактивных анальгетиков со сложным механизмом действия.

Ключевые слова: анальгетическая активность, густой экстракт имбиря, термическое и химическое раздражение.

Summary

ANALGESIC ACTIVITY OF THICK GINGER EXTRACT (*ZINGIBER OFFICINALE*)

Eberle L., Kobernik A., Kravchenko I.

The worldwide interest in herbal products and phytotherapy has grown significantly. In the pharmaceutical market, more and more drugs of plant origin are emerging. The derivatives (Biologically active compounds) of plant origin possess

a broad spectrum of biological activity and low toxicity. Therefore, the search for such biologically active compounds from natural sources is actually is of scientific and practical interest.

The aim of this work was learning the influence of ointments based on the thick ginger extract on chemical and thermal pain sensitivity.

Acute pain stress in the tests “hot water”, “hot plate” and “capsicum test “ was modeled. The pain sensitivity in animals was evaluated in all of the tests in 10 minutes after transdermal delivery of ointments based on the thick ginger extract.

In the study of analgesic activity an ointment with a ginger extract with a concentration of 0.05 % (in terms of the amount of polyphenolic compounds) was found to demonstrate the highest analgesic effect compared to the other ointment concentrations.

Using an ointment with a ginger extract showed a receptor response on the models with different profile of pain stimulation (chemical and thermal irritation). That allows to include it into a group of promising highly active analgesics with a complex mechanism of action.

Key words: analgesic activity, thick extract of ginger, thermal and chemical irritation.

*Впервые поступила в редакцию 03.12.2017 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*