

З. С. Суворова

Протизапальна активність ліпосомальної форми кверцетину

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: протизапальна активність, кверцетин, ліпосоми, моделі ексудативного запалення

Запалення є нормальним біологічним процесом у відповідь на фізичне пошкодження тканини, мікробну патогенну інфекцію та хімічне подразнення. У місці пошкодження починається запалення з міграцією імунних клітин із кровоносних судин за рахунок виділення медіаторів. Неконтрольоване або загострене запалення може спричинити посилення проліферації імунних клітин і надмірне виділення прозапальних медіаторів [1–4]. Яскравим прикладом гострого запалення з надмірним неконтрольованим викидом прозапальних медіаторів, що отримав назву «цитокінового шторму», є гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) – Acute respiratory distress syndrome [5, 6]. Пандемія COVID-19 з її фатальними наслідками, що супроводжували поширення ГРДС, досить чітко показала відсутність в арсеналі лікарів дієвих і безпечних протизапальних лікарських засобів [7, 8].

Для лікування запальних патологій використовується широкий арсенал препаратів зі знеболюючою активністю, провідне місце серед яких займають нестероїдні протизапальні засоби. Такі препарати мають виражену фармакологічну активність, але вони характеризуються спектром побічних реакцій (гепато-,

нефро-, гематотоксичність тощо), що звужує сферу їхнього застосування та необхідну тривалість лікування [9, 10]. Зазначене актуалізує запит на нові ефективні та безпечні протизапальні засоби, пошук яких, поряд із прогнозом активності оригінальних молекул, передбачає цілеспрямовану оптимізацію властивостей відомих ліків [10, 11].

У зазначеному контексті на увагу заслуговує кверцетин, 3,3',4',5,7-пентаоксифлавонол, природний поліфенол, що належить до підкласу флавоноїдів. Висока антиоксидантна активність кверцетину (так званий універсальний антиоксидант) визначає поліфункціональність його фармакотерапевтичного потенціалу, зокрема протизапальний ефект, який пов'язують зі здатністю блокувати медіатори запалення, індуковані ферменти та генерацію прозапальних цитокінів [12, 13]. Тим не менш, практична нерозчинність кверцетину в фізіологічно адекватних системах різко обмежує його лікарський прогноз майже виключно пероральними формами з у край низькою біодоступністю активної субстанції (до 5 %) [14], що апіорно унеможлиблює їхнє застосування в разі важких захворювань зі зруйнованим комплаєнсом пацієнтів.

Доцільність фармакотерапевтичного використання політропних властивостей кверцетину привертає увагу до його продуктів, придатних

до альтернативних пероральних способів уведення до організму та можливості їхнього суміщення. Відповідно до сучасного нарративу «Системи транспорту ліків» (Drug delivery systems) таким вимогам відповідають транспортні форми активного інгредієнта в певному носії.

Відома композиція кверцетину в фосфатидилхолінових ліпосомах [15, 16], яка становить основу ліцензованого препарату «Ліпофлавіон» [17]. Ліпофлавіон у формі розчину для ін'єкцій/інфузій використовується як кардіопротектор у кардіологічній і в онкологічній клініці. В офтальмологічній терапії встановлено лікувальну дію очних крапель Ліпофлавіону за кератитів, очних травм і опіків. На тлі інформації про терапевтичну ефективність Ліпофлавіону досі відсутні відомості про системне вивчення протизапальної дії препарату.

Мета дослідження – вивчити протизапальну активність ліпосомальної форми кверцетину (Ліпофлавіону) на різних моделях ексудативного запалення.

Матеріали та методи. Дослідження на тваринах проведено відповідно до міжнародних і вітчизняних біоетичних норм [18, 19]. Експерименти були виконані на білих нелінійних мишах масою (20 ± 2) г, яких утримували в стандартних умовах віварію за температури 22–24 °С, відносної вологості 30–70 % з вільним доступом до корму та води. Тварини були розподілені на групи по 5 особин у кожній.

Досліджувану ліпосомальну форму кверцетину (Ліпофлавіон, виробник ТОВ «Біолік ФАРМА», Україна; серія: 113001/23) застосовували у вигляді емульсії в стерильному 0,9 % розчині натрію хлориду, яку вводили тваринам одноразово внутрішньовенно.

У лікувальних схемах уведено дозу продукту (мг/кг маси тіла) розраховували за вмістом кверцетину з урахуванням вмісту його у флаконі препарату. Як референтний препарат використовували диклофенак натрію (Диклоберл № 75; виробник А. Менаріні Мануфактурінг Логістікс енд Сервісес С.р.Л. Віа Сете Санті, Італія; серія: 3150А), який вводили одноразово внутрішньоочеревинно в дозі 8,0 мг/кг. Контрольній групі аналогічним чином вводили розчинник.

Оцінку протизапальної активності ліпосомальної форми кверцетину (Ліпофлавіону) проводили згідно з методичними рекомендаціями з експериментального (доклінічного) вивчення нестероїдних протизапальних фармакологічних речовин [20].

Карагеніновий набряк викликали субплантарним уведенням у задню лапку миші 0,05 мл 1 % водного розчину карагеніну. Оцінку антиексудативного ефекту здійснювали через 3 год після введення флогогенного агента.

Гістаміновий набряк індукували введенням 0,1 % розчину гістаміну. Результати реєстрували через 1 год після введення флогогенного агента.

Серотоніновий набряк моделювали за допомогою 0,01 % розчину серотоніну. Результати реєстрували через 2 год після введення флогогенного агента.

Після закінчення часу витримки з флогогенним агентом миші підлягали евтаназії шляхом передозування ефірним наркозом. Потім на рівні тазостегнового суглоба проводили ампутацію кінцівок (з набряком і без набряку) з подальшим зважуванням на торсійних вагах і розрахунком різниці маси запаленої й інтактної лапок мишей. Антиексудативну активність (АА) оцінювали

у відсотках за зменшенням набряку порівняно з контролем і розраховували за формулою [20, 21]:

$$AA, \% = (M_{нд} - M_{зд}) / (M_{нк} - M_{зк}) \cdot 100 - 100 \%,$$

де $M_{нд}$ – маса набряклої стопи в досліді, $M_{зд}$ – маса здорової стопи в досліді, $M_{нк}$ – маса набряклої стопи в контролі, $M_{зк}$ – маса здорової стопи в контролі.

Статистичну обробку даних проводили з використанням t-критерію Стьюдента [22].

Результати та їх обговорення.

Отримані дані щодо вивчення протизапальної дії ліпосомальної форми кверцетину на моделі карагенінового набряку наведено в таблиці 1.

Внутрішньовенне введення Ліпофлакону через 3 год після індукції набряку в тварин викликало достовірне зниження рівню ексудативного запалення з (-37,09) % до (-63,43) %, що може бути пов'язано з впливом на циклооксигеназний шлях запалення [23]. Для протизапальної дії Ліпофлакону характерна лінійна залежність «доза-ефект»: зростання ефекту від (-37,09) % до (-63,43) % у разі поступового збільшення дози тест-зразка від 3,8 мг/кг до 15,2 мг/кг (табл. 1). Протизапальна дія диклофенаку натрію (Диклоберлу) у моделі ексудативного карагенінового набряку поступається антиексудативному ефекту Ліпофлакону та становить (-35,89) %.

Відомо, що експериментальне запалення, що викликане карагеніном, пов'язане з вивільненням таких медіаторів запалення, як гістамін і серотонін (у ранній фазі запалення – від 0,5 до 1,5 год), брадикінін (в інтервалі між 1,5 і 2,5 год), простагландини (у межах від 2,5 до 5,5 год) [20, 24, 25].

За моделювання гістамінового набряку ліпосомальна форма кверцетину мала виразний антиексудативний ефект (табл. 2).

Аналіз отриманих даних показав, що на моделі гістамінового набряку ліпосомальна форма кверцетину чинить антиексудативний ефект протягом усього експерименту. Протизапальна активність Ліпофлакону в усіх використаних дозах була співставна з дією препарату порівняння та знаходилася в межах від (-27,61) % до (-32,73) %. Отримані результати корелюють з антиексудативним ефектом Ліпофлакону в моделі карагенінового набряку. Відомо, що в перші 1,5 год після введення карагеніну ексудативні явища зумовлені підвищенням виходу гістаміну, який розширює капіляри й збільшує проникність їхніх стінок. Можна припустити антигістамінний ефект кверцетину на ранніх етапах прояву запального процесу.

Антиексудативну активність Ліпофлакону вивчали також на моделі серотонінового набряку. Отримані результати наведено в таблиці 3.

Встановлено, що Ліпофлакон у дозі 3,8 мг/кг інгібує серотоніновий набряк через 2 год після введення флогогену на (-17,95) %, при збільшенні дози вдвічі (7,6 мг/кг) антиексудативний ефект також збільшується майже вдвічі. Подальше дворазове збільшення дози не призводить до потенціювання позитивного ефекту. Протизапальна активність Ліпофлакону співставна з дією препарату порівняння Диклоберл (диклофенак натрію) (-28,65) %.

Висновки

1. На експериментальних моделях гострого набряку встановлено антиексудативну дію ліпосомальної форми кверцетину (Ліпофлакону),

*Антиексудативна активність ліпосомальної форми кверцетину
на моделі карагенінового набряку*

Сполука, шлях введення	Доза, мг/кг	Величина набряку в контролі, мг (M ± m)	Величина набряку в досліді, мг (M ± m)	Антиексудативна активність, %
Ліпофлавіон, внутрішньовенно	3,8*	71,14 ± 17,17	49,0 ± 11,36	-37,09
Ліпофлавіон, внутрішньовенно	7,6*	71,14 ± 17,17	30,44 ± 18,42 [#]	-57,21
Ліпофлавіон, внутрішньовенно	15,2*	71,14 ± 17,17	26,02 ± 17,17 [#]	-63,43
Диклоберл, внутрішньоочеревинно	8,0	85,0 ± 3,65	54,49 ± 3,01 [#]	-35,89

Примітка. Тут і в табл. 2, 3: *доза за кверцетином, [#]p < 0,05 порівняно з контрольною групою.

*Антиексудативна активність ліпосомальної форми кверцетину
на моделі гістамінового набряку (n = 5)*

Сполука, шлях введення	Доза, мг/кг	Величина набряку в контролі, мг (M ± m)	Величина набряку в досліді, мг (M ± m)	Антиексудативна активність, %
Ліпофлавіон, внутрішньовенно	3,8*	48,46 ± 3,56	35,08 ± 6,0	-27,61
Ліпофлавіон, внутрішньовенно	7,6*	48,46 ± 3,56	32,70 ± 1,26 [#]	-32,52
Ліпофлавіон, внутрішньовенно	15,2*	48,46 ± 3,56	32,60 ± 2,01 [#]	-32,73
Диклоберл, внутрішньоочеревинно	8,0	48,46 ± 3,56	31,70 ± 3,83 [#]	-30,85

*Антиексудативна активність ліпосомальної форми кверцетину
на моделі серотонінового набряку (n = 5)*

Сполука, шлях введення	Доза, мг/кг	Величина набряку в контролі, мг (M ± m)	Величина набряку в досліді, мг (M ± m)	Антиексудативна активність, %
Ліпофлавіон, внутрішньовенно	3,8*	76,44 ± 2,60	62,72 ± 6,99	-17,95
Ліпофлавіон, внутрішньовенно	7,6*	76,44 ± 2,60	51,98 ± 4,01 [#]	-32,0
Ліпофлавіон, внутрішньовенно	15,2*	76,44 ± 2,60	58,76 ± 6,20 [#]	-23,13
Диклоберл, внутрішньоочеревинно	8,0	76,44 ± 2,60	54,50 ± 2,95 [#]	-28,65

який пригнічує карагеніновий набряк у межах від (-37,09) % до (-63,43) %, гістаміновий – від (-27,61) % до (-32,73) %, серотоніновий – від (-17,95) % до (-32,00) %, що свідчить про антициклооксигеназний механізм дії препарату.

2. Сукупність фармакологічних властивостей, широта спектра дії робить ліпосомальну форму кверцетину перспективною для вивчення як потенційного протизапального лікарського препарату.

1. Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. P. C. Calder, R. Albers, J. M. Antoine et al. *Br. J. Nutr.* 2009. V. 101 (1). P. 1–45.
2. Pan M. H., Lai C. S., Ho C. T. Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids. *Food Funct.* 2010. V. 1 (1). P. 15–31.
3. Libby P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr. Rev.* 2007. V. 65 (12). P. 140–146.
4. Modulation of inflammatory genes by natural dietary bioactive compounds. M.-H. Pan, C.-S. Lai, S. Dushenkov et al. *J. Agric. Food. Chem.* 2009. V. 57 (11). P. 4467–4477.
5. A vicious circle between oxidative stress and cytokine storm in acute respiratory distress syndrome pathogenesis. G.H. Meftahi, Z. Bahari, Z. Jangravi et al. *Ukr. Biochem. J.* 2021. V. 93 (1). P. 18–29. <https://doi.org/10.15407/ubj93.01.018>.
6. COVID-19 cytokine storm: the anger of inflammation. M. Mahmudpour, J. Roozbeh, M. Keshavarz et al. *Cytokine.* 2020. V. 133. P. 155151. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155151>.
7. Empson S., Rogers A. J., Wilson J. G. Acute respiratory distress syndrome COVID-19. *Crit. Care Clin.* 2022. V. 38 (3). P. 505–519. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2022.02.001/>
8. Asymptomatic carrier state, acute respiratory disease, due to severe acute respiratory syndrome coronavirus. Cheng-Ch. Lai, Yen-H. Liu, Cheng-Y. Wang et al. *J. Microbiol. Immun. and Infection.* 2020. V. 33. P. 404–412.
9. Goodman A., Gilman L. The pharmacological basis of Therapeutics (9th ed.). New York : McGraw-Hill, 1996. Ch. 27. P. 836–932.
10. Longui C. A. Corticoterapia: minimizando efeitos colaterais. *J. Pediatr.* 2007. V. 83 (5). P. 163–171.
11. Hilário M. O. E., Terreri M. T., Len C. A. Anti-inflamatórios não-hormonais: inibidores da cicloxigenase 2. *J. Pediatr.* 2006. V. 82 (5). P. 206–212.
12. Ferrari C. Free radicals, lipid peroxidation and antioxidants in apoptosis: implications in cancer, cardiovascular and neurological diseases. *Biol. Brat.* 2000. V. 55 (6). P. 10.
13. Serafini M., Peluso I., Raguzzini A. Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proc. Nutr. Soc.* 2010. V. 69 (3). P. 273–278.
14. Кверцетин (Quercetin). URL: <https://compendium.com.ua/akt/81/856619/quercetin/>.
15. Патент на винахід № 76393 Україна. Спосіб отримання ліпосомального засобу, що містить кверцетин. О. В. Стефанов, Г. С. Григор'єва, А. І. Соловійов та ін. № а200604675; заявл. 27.04.06; опубл. 17.07.13. Бюл. № 7.
16. Патент на винахід № 111762 Україна. Спосіб отримання фармакологічно активного ліпосомального засобу, що містить кверцетин. Г. С. Григор'єва, Ю. М. Краснополський, Н. Ф. Конахович та ін. № а201407695; заявл. 08.07.14; опубл. 10.06.16. Бюл. № 11.
17. Ліпофлавіон (Lipoflavon) Інструкція для медичного застосування. URL: <https://compendium.com.ua/dec/268166/>.
18. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS No. 123). Strasbourg 18/03/1986. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b>.
19. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Відомості Верховної Ради України (ВВР), 2006, № 27, ст. 230. Офіційний веб-портал: Міжнародні документи (Рада Європи). URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>.
20. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації. Київ : ВД «Авіцена», 2001. 528 с.
21. Трінус Ф. П., Мохорт Н. А., Клебанов Б. М. Нестероїдні протизапальні засоби: монографія. Київ : Здоров'я, 1975. 239 с.
22. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабиц П. Н. Статистика в науке и бизнесе. Киев : Морион, 2002. 640 с.

-
-
23. Quercetin and derivatives: useful tools in inflammation and pain management. G. Carullo, A. R. Cappello, L. Frattaruolo et al. *Future. Med. Chem.* 2017. V. 9 (1). P. 79–93. <https://doi.org/10.4155/fmc-2016-0186>.
 24. Гладких Ф. В. Нестероїдні протизапальні засоби: терапевтичні та небажані ефекти, шляхи їх оптимізації. Вінниця : Твори, 2022. 216 с. <https://doi.org/10.46879/2022.1>.
 25. Тваринні моделі in vivo для скринінгу потенційних протизапальних та знеболювальних засобів (огляд літератури). Ю. О. Молодан, В. Б. Ларіонов, І. Ю. Борисюк та ін. *Вісник Одеського національного університету. Біологія*. 2023. Т. 28, № 2 (53). С. 113–127. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).293327](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).293327).

З. С. Суворова

Протизапальна активність ліпосомальної форми кверцетину

Останнім часом у плані пошуку нових протизапальних засобів значний інтерес викликає ліпосомальний препарат Ліпофлавон, що містить природний флавоноїд – 3,3',4',5,7-пентаоксифлавоон (кверцетин).

Мета дослідження – вивчити протизапальну активність ліпосомальної форми кверцетину (Ліпофлавоону) на різних моделях ексудативного запалення.

Протизапальну активність ліпосомальної форми кверцетину – Ліпофлавоону вивчали на моделях ексудативного запалення в мишей, викликаного субплантарним уведенням різних флогогенних агентів.

Отримані результати показали, що ліпосомальна форма кверцетину – Ліпофлавон у діапазоні доз 3,8–15,2 мг/кг (за кверцетином) статистично достовірно інгібує набряк, який викликаний карагеніном з (-37,09) % до (-63,43) %. Експериментальне запалення, що викликане іншим флогогенним агентом – гістаміном, також демонструє антиексудативний ефект Ліпофлавоону в межах від (-27,61) % до (-32,73) %. На моделі серотонінового набряку позитивна динаміка протизапальної дії ліпосомальної форми кверцетину знаходиться в діапазоні від (-17,95) % до (-32,00) %. Антиексудативна активність Ліпофлавоону перевищує таку диклофенаку натрію на моделі ексудативного карагенінового набряку та знаходиться на одному рівні з дією референтного препарату за впливу інших флогогенних агентів.

Ключові слова: протизапальна активність, кверцетин, ліпосоми, моделі ексудативного запалення

Z. S. Suvorova

Anti-inflammatory activity of the liposomal form of quercetin

Lately, in search of new anti-inflammatory drugs, liposomal drug Lipoflavon, which contains natural flavonoid – 3,3',4',5,7-pentaxiflavon (quercetin), is of considerable interest.

The aim of the study – to research anti-inflammatory activity of the liposomal form of quercetin (Lipoflavon) in different models of exudative inflammation.

Studies of anti-inflammatory activity of liposomal form of quercetin – Lipoflavon were conducted on models of exudative inflammation in paws of mice, caused by subplantar injection of various flogogenic agents.

The data obtained showed, that liposomal form of quercetin – Lipoflavon in the dose range of 3.8–15.2 mg/kg (for quercetin) statistically reliably inhibits edema caused by carrageenan with values of (-37,09)% to (-63,43)%. Experimental inflammation, caused by other flogogenic agent – histamine, also demonstrates antiexudative effect of Lipoflavon in boundaries from (-27,61)% to (-32,73)%. In model of serotonin edema positive dynamic of anti-inflammatory action of liposomal form of quercetin is still present and is in boundaries of (-17,95)% to (-32,00)%.

Thus, liposomal form of quercetin Lipoflavon shows antiexudative activity comparable to that of sodium diclofenac or exceeds it.

Key words: anti-inflammatory activity, quercetin, liposomes, exudative inflammation models

ORCID ID автора:

Суворова З. С. (ORCID ID 0000-0001-6307-0741).

Надійшла: 20 липня 2024 р.

Прийнята до друку: 21 серпня 2024 р.

Контактна особа: Суворова Зінаїда Сергіївна, молодший науковий співробітник, відділ медичної хімії, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03157. Тел.: + 38 0 44 456 42 56. Електронна пошта: suvorovazina@gmail.com