

УДК 615.015.4: 615.21: 612.017.1: 576.8

DOI <https://zenodo.org/records/18023464>

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КВЕРЦЕТИНУ, ПРОПОКСАЗЕПАМУ ТА ЇХ СПІЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ НА ПЕРЕБІГ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КАРАГІНАНОВОГО ЗАПАЛЕННЯ У ЩУРІВ

Молодан¹ Ю.О., Макаренко¹ О.А., Ларіонов В.Б.²

¹Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, м. Одеса, Україна

²Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, м. Одеса,

STUDY OF THE EFFECT OF QUERCETIN, PROPOXAZEPAM, AND THEIR COMBINED ADMINISTRATION ON THE COURSE OF EXPERIMENTAL CARRAGEENAN-INDUCED INFLAMMATION IN RATS

Molodan Y.O.[№], Makarenko O.A.[№], Larionov V.B.^I

[№]Odessa I. I. Mechnikov National University, Odessa, Ukraine

^IO. V. Bogatsky Physical-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, Odessa, Ukraine

Authors information

Макаренко О.А. (Molodan Y.O.): <https://orcid.org/0000-0001-8029-4392>

Ларіонов В.Б. (Makarenko O.A.): <https://orcid.org/0000-0003-2678-4264>

Summary/ Резюме

The experimental study was conducted to evaluate the anti-inflammatory activity of quercetin, propoxazepam, and their combined administration using a carrageenan-induced paw edema model in rats. The experiments were performed on 25 non-linear male rats aged 7 months (180–220 g), which were injected subplantarily with 0.1 ml of a 1 % carrageenan solution. The animals were divided into 5 groups: pathological control (saline with Tween 80), quercetin 80 mg/kg, propoxazepam 2 mg/kg, their combination, and the reference drug diclofenac sodium 8 mg/kg. The test substances were administered intraperitoneally for 7 days and once 2 hours prior to inflammation induction. Paw edema was measured 2, 4, 6, and 24 hours after carrageenan injection. Diclofenac sodium demonstrated the most pronounced anti-inflammatory effect, whereas quercetin, propoxazepam, and their combined use exhibited a lower level of anti-exudative activity but significantly reduced inflammatory manifestations compared with the pathological control, thus confirming the prospects for further investigation of these compounds.

Keywords: inflammation, experimental model, anti-inflammatory activity, quercetin, propoxazepam

Експериментальне дослідження проведено з метою оцінки протизапальної активності кверцетину, пропоксазепаму та їх поєднаного застосування на моделі карагінанового набряку лапи у щурів. Досліди виконано на 25 нелінійних самцях щурів віком 7 місяців (180–220 г), яким субплантарно вводили 0,1 мл 1 % розчину карагінану. Тварин поділили на 5 груп: контрольна патологія (фізіологічний розчин з Твін-80), кверцетин 80 мг/кг, пропоксазепам 2 мг/кг, їх комбінація та препарат порівняння диклофенак натрію 8 мг/кг. Лікувальні засоби вводили внутрішньоочеревинно щоденно протягом 7 днів перед моделюванням запалення; останнє введення здійснювали одразу за 2 години до ін'єкції карагінану. Вимірювання набряку проводили через 2, 4, 6 та 24 години після індукції запалення. Встановлено, що диклофенак натрію мав найвираженішу протизапальну активність, тоді як кверцетин, пропоксазепам та їх поєднане застосування проявляли нижчий рівень антиексудативної дії, проте достовірно знижували прояви запалення порівняно з контрольною патологією, що підтверджує перспективність подальшого вивчення цих сполук.

Ключові слова: запалення, експериментальна модель, протизапальна активність, кверцетин, пропоксазепам

Вступ

Запалення є типовим патологічним процесом, що являє собою складну багатокомпонентну реакцію організму у відповідь на дію зовнішніх чи внутрішніх чинників. Воно супроводжується активацією низки патофізіологічних механізмів, у які залучається ноцицептивна система та різні регуляторні ланки. Пошкодження тканин спричиняє вивільнення вазонейроактивних сполук, що стимулюють розвиток запальної відповіді. Гостра форма запалення характеризується гіперемією, набряком, болем, підвищенням температури та порушенням функції ураженої ділянки. У цей період підвищується проникність судин, посилюється кровообіг та виникає сенсibiliзація нервових закінчень, що зумовлює появу класичних симптомів — почервоніння, набряку та болю.

Ключову роль у перебігу цього процесу відіграють медіатори запалення, серед яких цитокіни, хемокини, фактори згортання крові та інші біологічно активні молекули. При розвитку хронічних станів (хронічні запальні та автоімунні захворювання, дегенеративні процеси тощо) регуляторна рівновага порушується, що веде до пошкодження тканин і прогресування патології. Такий перебіг характерний для ревматоїдного артриту, хронічних запальних хвороб кишечника (зокрема, коліту), атеросклерозу та інших захворювань. Клінічно це супроводжується вираженими симптомами і потребує терапевтичної корекції з метою зниження запалення та запобігання подальшим ускладненням [1-2]. Тому для проведення дослідження особливо важливим є вибір відтворювальної тваринної моделі, яка дозволить достовірно оцінювати ефективність та можливі механізми дії сполук, що вивчаються. Карагінан-індуковане запалення є однією із найбільш часто відтворювальною моделлю гострого запалення, що дозволяє оцінити ефективність фармакологічних агентів [2].

До перспективних засобів із можливим протизапальним ефектом належать похідні 1,4-бензодіазепінів, які характеризуються унікальною просторовою конформацією, що дозволяє імітувати в-структури біологічно активних пептидів. Представники цього класу широко застосовуються в медицині: зокрема, клозепам, діазепам і лоразепам, ефективні при різних формах епілепсії, а також використовуються як ад'ювантні засоби для змен-

шення нейропатичного болю [3].

Пропоксазепам — нова сполука з ряду 3-заміщених 1,4-бензодіазепінів-2-онів, синтезована у відділі медичної хімії ФХІ ім. О. В. Богатського НАН України під керівництвом академіка НАН України С.А. Андронаті. Результати первинного фармакологічного скринінгу продемонстрували перспективність пропоксазепаму як сполуки з протисудомною та потенційною протизапальною активністю [4]. Кверцетин — природний біофлавоноїд, що характеризується вираженими антиоксидантними та протизапальними властивостями, що підтверджено численними експериментальними роботами [5-6]. Оскільки кверцетин і пропоксазепам реалізують свої ефекти через різні біохімічні механізми, їхнє поєднане застосування може забезпечувати потенційний синергічний ефект, що обґрунтовує доцільність дослідження їх комбінованого вивчення.

Мета роботи — порівняльна оцінка протизапальної ефективності кверцетину, пропоксазепаму, їх сумісного введення та препарату порівняння диклофенаку натрію на моделі карагінан-індукованого запалення у щурів.

Матеріали та методи дослідження.

Порівняльне вивчення протизапальних властивостей досліджуваних препаратів проводили на 25 нелінійних статевозрілих самцях щурів віком 7 місяців, масою 180-220 г. Дослідження виконано відповідно до «Керівництва з догляду та використання лабораторних тварин: 8-ме видання», «Директиви 2010/63ЕУ, Закону України №3447-VI «Про захист тварин від жорсткого поводження» [7-8]. Гостру запальну реакцію моделювали шляхом субплантарного введення 0,1 мл 1 % розчину карагінану у задню лапу щура [1, 3, 6]. Виразеність набряку оцінювали за морфометричними змінами, вимірюючи її товщину та ширину інженерним штангенциркулем (точність 0,01 мм) до введення карагінану (0 год) та через 2, 4, 6 і 24 години після індукції запалення. Додатково розраховували відсоток пригнічення набряку за принципом методики А.С. Захаревського, адаптованої для лінійних вимірювань, де пригнічення запальної реакції визначали відносно контрольної патології [1, 3].

Для дослідження протизапальної актив-

ності зазначених сполук тварин розділили на групи наступним чином:

1 група — контрольна патологія: тваринам протягом 7 діб вводили еквівалентну кількість фізіологічного розчину з Twin-80 та моделювали запалення відповідно до методики;

2 група — кверцетин 80 мг/кг: щури отримали суспензію кверцетину внутрішньоочеревинно протягом 7 днів, останню дозу — за 2 години до введення карагінану;

3 група — пропоксазепам 2 мг/кг: тварини отримували суспензію пропоксазепаму разом з Twin-80 внутрішньоочеревинно протягом 7 днів, останню дозу — за 2 години до введення карагінану;

4 група — кверцетин 80 мг/кг + пропоксазепам 2 мг/кг щури отримали сумісну суспензію препаратів з Twin-80 внутрішньоочеревинно протягом 7 днів, останню дозу — за 2 години до введення карагінану;

5 група — диклофенак натрію 8 мг/кг: розчин диклофенаку натрію вводили внутрішньоочеревинно протягом 7 днів, останню дозу — за 2 години до введення карагінану.

Оцінку динаміки набряку проводили через 2, 4, 6 та 24 години після введення карагінану, завершення експерименту проводили на 24-й годині спостереження [3].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) з подальшим *post hoc* тестом Тьюкі для оцінки міжгрупових відмінностей. Результати представлено як $M \pm m$, де M — середнє значення, m — стандартна похибка середнього. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Застосування однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) у поєднанні з *post hoc* тестом Тьюкі дає змогу оцінити статистично значущі відмінності та визначити пари груп, для яких ці відмінності були достовірними [9].

Результати дослідження та їх обговорення

Динаміку змін запального процесу оцінювали на підставі морфометричних показників висоти (рис. 1) та ширини (рис. 2) набряку уражених кінцівок щурів після ін'єкції карагінану.

Після введення карагінану у тварин контрольної групи сформувався виражений за-

пальний набряк лапи, який був максимальним на 4 годину моделювання патології. Висота кінцівки зросла на 60 % через 2 год, 71 % — через 4 год, а через 6 і 24 години була вищою за вихідні показники на 64 % та 53 % відповідно ($p < 0,05$), що вказує на розвиток гострої ексудативної реакції.

У тварин групи кверцетину (80 мг/кг) також спостерігали максимальний набряк на 4 год експозиції, однак його вираженість була значно нижчою порівняно з контролем. Через 2 год висота лапи була на 18 % нижчою, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$). На всіх наступних часових точках різниця зберігалась достовірною, що свідчить про стабільний протипальний ефект кверцетину.

У групі пропоксазепаму (2 мг/кг) характер змін був подібним: через 2 години висота кінцівки була на 17 % нижчою, ніж у контролі ($p < 0,05$), а через 4 і 6 год відрізнялась від показників контрольної групи, проте за рівнем набряку пропоксазепам не демонстрував статистично значущих відмінностей порівняно з кверцетином ($p < 0,05$), що вказує на подібну ефективність цих препаратів у контролі висоти лапи.

Комбінація кверцетину та пропоксазепаму проявила найбільш виражений протинабряковий ефект серед досліджуваних речовин (за винятком диклофенаку). На всіх часових точках, окрім вихідної, значення висоти лапи були достовірно нижчими як від контролю, так і від обох монотерапій ($p < 0,05$). У тварин цієї групи не спостерігали вираженого ціанозу, болю чи підтягування лапи.

Диклофенак натрію (8 мг/кг) характеризувався найвираженішим протинабряковим ефектом: зменшення висоти лапи відбувалось швидше, ніж у всіх інших групах, а через 24 години показник не відрізнявся від вихідного рівня ($p < 0,05$). У жодної тварини не спостерігали ознак запалення у завершальний термін дослідження.

Характер змін ширини ураженої кінцівки в цілому повторював параметри висоти, але ефекти окремих препаратів були менш вираженими (рис. 2).

У контрольній групі ширина лапи збільшувалась на 24 %, 42 %, 33 % і 29 % через 2, 4, 6 та 24 години відповідно, що підтверджує розвиток периферичного набряку.

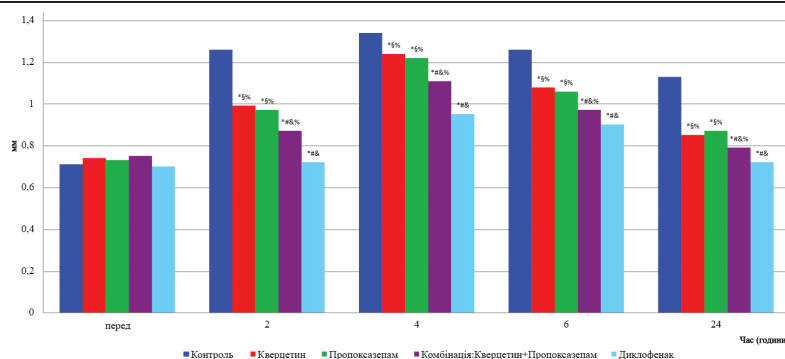


Рис. 1 Динаміка розвитку набряку уражених кінцівок щурів (зміна висоти кінцівки) при карагінановому запаленні та профілактичному введенні кверцетину, пропоксазепаму, їх комбінації та диклофенаку натрію

Примітка:

* — $p < 0,05$ порівняно з контролем;

— $p < 0,05$ порівняно з кверцетином;

& — $p < 0,05$ порівняно з пропоксазепамом;

& — $p < 0,05$ порівняно з комбінацією кверцетин+пропоксазепам;

% — $p < 0,05$ порівняно з диклофенаком.

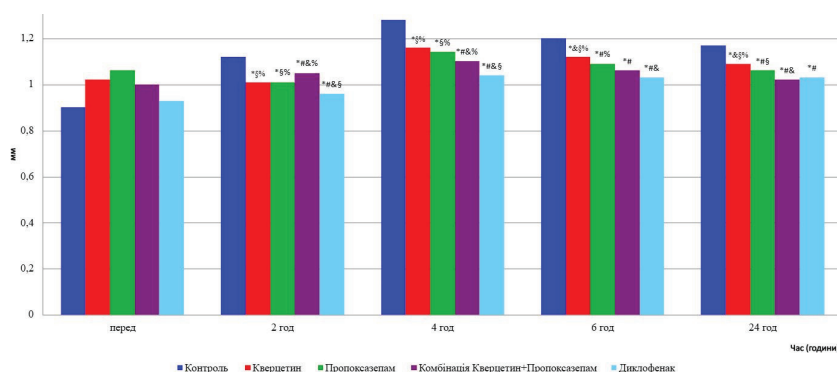


Рис. 2. Динаміка розвитку набряку уражених кінцівок щурів (зміна ширини кінцівки) при карагінановому запаленні та профілактичному введенні кверцетину, пропоксазепаму, їх комбінації та диклофенаку натрію

Примітка:

* — $p < 0,05$ порівняно з контролем;

— $p < 0,05$ порівняно з кверцетином;

& — $p < 0,05$ порівняно з пропоксазепамом;

& — $p < 0,05$ порівняно з комбінацією кверцетин+пропоксазепам;

% — $p < 0,05$ порівняно з диклофенаком.

У групі кверцетину після введення карагінану також спостерігали достовірне збільшення ширини лапи ($p < 0,05$), однак у перші години спостереження показники не відрізнялися від контролю ($p < 0,05$). Лише через 24 години ширина лапи була на 9 % меншою, ніж у контролі ($p < 0,05$), що вказує на відносно слабкий вплив кверцетину саме на поперечний розмір набряку.

У тварин групи пропоксазепаму також реєстрували зменшення ширини лапи порівняно з контролем, проте достовірних відмінностей між пропоксазепамом і кверцетином не встановлено ($p < 0,05$). Це підтверджує близьку протизапальну активність обох сполук щодо поперечного компонента ексудатії.

Комбінація кверцетину та пропоксазепаму зменшувала ширину лапи більш виражено, ніж контроль ($p < 0,05$), і була достові-

рно ефективнішою за кверцетин у всіх часових точках спостереження (2-24 год, $p < 0,05$). Проте, на відміну від параметрів висоти (рис. 1), перевага комбінації над монотерапіями за шириною лапи була менш чіткою, що добре корелює з графічними даними на рис. 2.

Диклофенак натрію, який використовували як референтний протизапальний препарат, суттєво пригнічував розвиток набряку: ширина лапи залишалась близькою до вихідного рівня протягом усього періоду спостереження ($p > 0,05$), а через 24 години жодна тварина не демонструвала видимих ознак запалення. Це свідчить про найвищу протинабрякову активність диклофенаку в межах моделі карагінанового запалення.

Результати однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) показали наявність статистично значущих відмінностей між усіма п'ятьма групами як за показниками висоти, так і ширини набряку лапи щурів ($p < 0,05$). *Post hoc* тест Тьюкі підтвердив, що диклофенак натрію забезпечував найбільш виражене пригнічення запалення на всіх часових точках порівняно як із контрольною групою, так і з досліджуваними сполуками ($p < 0,05$).

Кверцетин, пропоксазепам та їх комбінації достовірно зменшували прояви запалення порівняно з контролем ($p < 0,05$). При цьому комбіноване застосування кверцетину та пропоксазепаму було статистично ефективніше за кожен монотерапію за показником висоти набряку (рис. 1), що може вказувати на потенційну синергічну дію. Водночас за шириною лапи (рис. 2) перевага комбінації зберігалася, але була менш вираженою, ніж за

показником висоти лапи (рис. 1), що свідчить про більшу чутливість цього параметру до терапевтичного впливу.

Таким чином, результати однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) підтвердили статистично значущу протизапальну дію кверцетину, пропоксазепаму та їх спільного застосування на моделі карагінан-індукованого запалення, а також наявність відмінностей у ступені їх ефективності. Найбільш виражений ефект забезпечував референтний препарат диклофенак натрію, який повністю нівелював прояви набряку у фінальній термін спостереження. Профілактичне 7-денне введення кверцетину (80 мг/кг), пропоксазепаму (2 мг/кг) та їх комбінації забезпечувало достовірне зменшення проявів запалення порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Комбіноване застосування препаратів демонструвало більш виражений ефект, ніж монотерапія, що вказує на можливий синергізм дії, особливо за показником висоти лапи. Отримані дані узгоджуються з попередніми дослідженнями Халімова (2016) та Golovenko et al. (2019), у яких похідні бенздіазепінового ряду демонстрували периферичну протизапальну активність [3-4]. Імовірно, механізм дії цих сполук пов'язаний зі зниженням вивільнення медіаторів запалення, інгібуванням циклооксигенази (ЦОГ-2) та стабілізацією клітинних мембран. Тоді як, кверцетин може потенційно підсилювати цей ефект завдяки антиоксидантним властивостям і здатності до зменшування оксидативного стресу в запалених тканинах.

Незважаючи на більш високу протинабрякову ефективність диклофенаку, комбінацію кверцетину та пропоксазепаму можна рекомендувати як протизапальний засіб для тривалого застосування. Оскільки застосування диклофенаку на протязі певного часу не вирішує проблему лікування запальних процесів та призводить до появи великої кількості небажаних ефектів. Тому розробка та впровадження безпечного лікарського засобу проти запальної та знеболюючої дії на сьогодні залишається актуальним питанням сучасної медицини та фармації.

Висновки

1. Курсове введення кверцетину в дозі 80 мг/кг або пропоксазепаму в дозі 2 мг/кг достовірно зменшували прояви карагінан-індукованого запалення.
2. Комбіноване введення кверцетину та

пропоксазепаму перевершувало ефективність монотерапій, що вказує на потенційний синергізм їх дії, особливо за показниками висоти лап.

3. Референтний препарат диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг демонстрував найвищу протизапальну ефективність на моделі карагінанового запалення, забезпечуючи повне зникнення набряку до 24 годин.

References/Література

1. Stewart A G., Beart P. M. Inflammation: maladies, models, mechanisms and molecules. *British Journal of Pharmacology*. — 2016. Vol. 173. No. 4. — P. 631-634.
2. Molodan Yu.O., Larionov V. B., Borysiuk I. Yu., Makarenko O. A. Animal models in vivo for screening of potential anti-inflammatory and analgesic agents (literature review) // *Bulletin of the Odessa National University. Biology*. — 2023. — Vol. 28, issue 2 (53). — P. 113–127. Молодан Ю.О., Ларіонов В. Б., Борисюк І. Ю., Макаренко О. А. Тваринні моделі *in vivo* для скринінгу потенційних протизапальних та знеболювальних засобів (огляд літератури) // *Вісник Одеського національного університету. Біологія*. — 2023. — Т. 28, вип. 2 (53). — С. 113–127.
3. Khalimova O. I. Analgesic properties of derivatives of 3-substituted 1,2-dihydro-3n- 1,4-benzodiazepin-2-ones [Text]: dis.... candidate of biological sciences: 03/14/05 / O. I. Khalimova; scientific supervisor T. L. Karasev; O. V. Bogatsky Institute of Phys. and Chemical Sciences, NAS of Ukraine. — Odessa: 2016. — 158 p. Халімова О. І. Анальгетичні властивості похідних 3-заміщених 1,2-дигідро-3n- 1,4- бенздіазепін-2-онів [Текст]: дис.... канд. біол. наук: 14.03.05 / О. І. Халімова; наук. керівник Т. Л. Карасьова; Фіз.-хім. ін-т ім. О. В. Богатського НАН України. — Одеса: 2016. — 158 с.
4. Golovenko N.Ya., Kabanova T.A., Andronati S.A., Halimova O.I., Larionov V.B., Reder A.S. Anti-inflammatory effects of propoxazepam on different model of inflammation. *International Journal of Medicine and Medical Research*. — 2019, Vol. 5, No 2 — P. 105–112.
5. Hoffmann T., Klemm F., Kichko T., Sauer S. K., Kistner K., Riedl B., Raboisson P., Luo L., Babes A., Kocher L., Carli G., Fischer M. J. M., Reeh P. W. The formalin test does not probe inflammatory pain but excitotoxicity in rodent skin. *Physiological Reports*. — 2022. Vol. 10. No 6. — P. 150-194.
6. Patil K. R., Mahajan U. B., Unger B. S., Goyal S. N., Belemkar S., Surana S. J., Ojha S., Patil C. R. Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International Journal of Molecular Sciences*. — 2019. № 5. — Vol. 20. No

18. — Р. 43-67.
7. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Research or Other Scientific Purposes of 18.03.1986: Verkhovna Rada of Ukraine, official web portal: International Documents Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986р.: Верховна Рада України, офіційний веб-портал: Міжнародні документи (Рада Європи). Електронний ресурс. Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua>
8. Law of Ukraine No. 3447-IV "On the Protection of Animals from Cruelty". Bulletin of the Verkhovna Rada of Ukraine. Official. ed. 2006. No. 27. P. 990, p. 230. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Відомості Верховної Ради України. Офіц. вид. 2006. № 27. С. 990, ст. 230. (Бібліотека офіційних видань).
9. Skrypnyk, S. Rybak, V. Mathematical methods of statistics in biological research. Psychological and pedagogical problems of modern school. 2024. — No. 2 (12). — P. 93–99. Скрипник, С. Рибак, В. Математичні методи статистики в біологічних дослідженнях. Психолого-педагогічні проблеми сучасної школи. 2024. — № 2 (12). — С. 93–99. DOI: [https://doi.org/10.31499/2706-6258.2\(12\).2024.315019](https://doi.org/10.31499/2706-6258.2(12).2024.315019).
- Вперше надійшла до редакції 08.08.2025 р.
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування

УДК 612.46:612.015.31

DOI <https://zenodo.org/records/18023476>

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ПІСЛЯ ВОДНОГО ТА СОЛЬОВОГО НАВАНТАЖЕННЯ У ЩУРІВ

Вітюков О.С., Гоженко А.І.

Міжнародний гуманітарний університет (м. Одеса)

FUNCTIONAL STATE OF THE KIDNEYS AFTER WATER AND SALT LOAD IN RATS

Vityukov O.S., Gozhenko A.I.

International University (Odessa)

Authors' Information:

Гоженко А.І. (Gozhenko A.I.): <https://orcid.org/0000-0001-7413-4173>

Summary/Резюме

The functional state of the kidneys was studied in rats after acute overheating after rehydration with tap water or 0.45% sodium chloride solution in an amount of 5% of body weight. It was shown that the introduction of water does not cause changes in diuresis, creatinine clearance, reabsorption with 0.4% sodium chloride solution, diuresis and reabsorption decrease against the background of an increase in the glomerular filtration rate with an increase in the filtration charge of sodium without changing its reabsorption, but with a slight increase in excretion. It was concluded that rehydration using 0.45% sodium chloride solution is more effective in restoring the body's water balance compared to drinking water.

Keywords: *overheating, kidneys, sodium, rehydration, glomerular filtration rate, eosin and salt metabolism.*

У щурів після гострого перегрівання вивчений функціональний стан нирок після регідратації водогінною водою або 0,45 % розчином натрію хлориду у кількості 5 % від маси тіла. Показано, що введення води не викликає зміни діурезу кліренсу креатиніну, реабсорбції з 0,4 % розчином хлориду натрію, зменшується діурез реабсорбція на фоні збільшення швидкості клубочкової фільтрації із зростанням фільтраційного заряду натрію без зміни його реабсорбції, але незначним збільшенням екскреції. Зроблено висновок, що регідратація з використанням 0,45 % розчину хлориду натрію є більш ефективною у відновленні водного балансу організму у порівнянні з використанням питної води.

Ключові слова: *перегрівання, нирки, натрій, регідратація, швидкість клубочкової фільтрації, еозин та сольовий обмін.*