

## Фармакологическая активность композиции на основе дигидрокверцетина и липоевой кислоты

Иванов И.С.<sup>1</sup>, Сидехменова А.В.<sup>1</sup>, Анищенко А.М.<sup>1</sup>, Алиев О.И.<sup>1</sup>, Тюкавкина Н.А.<sup>2</sup>, Плотников М.Б.<sup>1</sup>

## Pharmacological activity of composition on the base of dihydroquercetin and lipoic acid

Ivanov I.S., Sidekhmenova A.V., Anischenko A.M., Aliyev O.I., Tyukavkina N.A., Plotnikov M.B.

<sup>1</sup> НИИ фармакологии СО РАМН, г. Томск

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва

© Иванов И.С., Сидехменова А.В., Анищенко А.М. и др.

Представлена оценка влияния композиции дигидрокверцетина и липоевой кислоты на лимфоотток, проницаемость капилляров и вязкость крови в сравнении с эффектами компонентов композиции. Выявлена лимфокинетическая активность дигидрокверцетина. Показано, что капилляропротекторный (в меньшей степени лимфокинетический и гемореологический) эффект композиции превосходит воздействие ее отдельных компонентов.

**Ключевые слова:** дигидрокверцетин, липоевая кислота, лимфоотток, проницаемость капилляров, вязкость крови.

The purpose of this investigation is to estimate influence of composition dihydroquercetin and lipoic acid on lymphatic flow, capillary filtration and blood viscosity in comparison with effects of individual components. Lymphokinetic activity of dihydroquercetin was detected. Capillary-protective effect, but in less degree lymphokinetic and hemorheologic ones of composition are higher than the effect of its separate components.

**Key words:** dihydroquercetin, lipoic acid, lymph flow, capillary filtration, blood viscosity.

УДК 615.015:[577.164.186+547.972.35]

### Введение

Хроническая венозная недостаточность (ХВН) нижних конечностей — широко распространенное заболевание, регистрирующееся у 35—60% взрослого населения [4]. Лечение больных с ХВН нижних конечностей является весьма актуальной проблемой как в медицинском, так и социально-экономическом плане [9]. Число больных с данной патологией не снижается, несмотря на совершенствование методов лечения и появление новых лекарственных препаратов [14, 15, 17].

При ХВН страдают венозная, лимфатическая и микроциркуляторная системы. Поэтому лекарственные средства при ХВН должны способствовать увеличению тонуса вен, улучшению лимфодренажной функции, устранению микроциркуляторных рас-

стройств и нормализации гемореологии [2, 4, 9]. В этом случае наиболее эффективны лекарственные препараты с мультитаргетным механизмом действия, недостаток которых сегодня наблюдается [4].

Авторами предложена композиция дигидрокверцетина и липоевой кислоты как основа для разработки флеботропного средства. Известно, что дигидрокверцетин обладает антиоксидантной, капилляропротекторной, гемореологической, антитромбоцитарной и противовоспалительной активностью [1, 6, 8, 18]. Липоевая кислота — кофермент, по характеру биохимического действия приближается к витаминам группы В и проявляет антиоксидантный и эндотелийпротекторный эффекты [12, 13, 16, 19].

Цель исследования — провести оценку лимфокинетической, капилляропротекторной и гемореологической

активности композиции дигидрокверцетина и липоевой кислоты в сравнении с эффектами отдельных компонентов композиции.

## Материал и методы

Эксперименты выполнены на 72 крысах-самцах линии Вистар массой тела 300—350 г. При оценке лимфокинетической активности отдельные препараты и их композицию в виде суспензий в воде очищенной (опытные группы) или эквивалентное количество воды очищенной (5 мл) вводили однократно внутрижелудочно через зонд за 1 ч до забора лимфы. В качестве препарата сравнения использовали детралекс (Servier). Животные контрольной группы получали воду очищенную, животные опытных групп (по 50 мг/кг массы тела): детралекс, липоевую кислоту, дигидрокверцетин или композицию дигидрокверцетина и липоевой кислоты. Определяли скорость тока лимфы (мкл/кг·мин), выделившейся из млечной цистерны (*cisterna chili*) животных при ее прокале [5]. Забор лимфы осуществляли под тиопенталовым наркозом (60 мг/кг массы тела, внутривенно). Лимфу стабилизировали гепарином в конечной концентрации 50 ЕД/мл.

При исследовании капилляропротекторного эффекта соединения и их композицию в виде суспензий в 1%-й крахмальной слизи или эквивалентное количество крахмальной слизи (1 мл) вводили внутрижелудочно через зонд один раз в сутки в течение 7 сут. Последнее введение осуществляли за 1 ч до внутривенной инъекции раствора синего Эванса. Крысы контрольной группы получали крахмальную слизь, животные опытных групп (по 20 мг/кг массы тела): липоевую кислоту, дигидрокверцетин или композицию дигидрокверцетина и липоевой кислоты по 20 мг/кг массы тела. Оценку капилляропротекторной активности проводили по реакции на ксилол, который вводили в количестве 0,02 мл внутривенно в область живота через 10 мин после внутривенной инъекции 2 мл/кг массы тела 1%-го раствора синего Эванса. Критерием сосудистой проницаемости служило время (с) между введением ксилыла и появлением первых признаков окраски кожи [3].

Гемореологическую активность оценивали на модели гипервязкости *in vitro*. В данном эксперименте животные опытных групп получали липоевую кислоту (50 мг/кг массы тела), дигидрокверцетин (50 мг/кг массы тела) или композицию дигидрокверцетина и

липоевой кислоты по 50 мг/кг массы тела в 1%-й крахмальной слизи внутрижелудочно в течение 7 сут один раз в день. Животные контрольной группы получали эквивалентное количество крахмальной слизи (1 мл). Последнее введение осуществляли за 1 ч до забора крови. Модель гипервязкости крови воспроизводили инкубацией проб крови при температуре  $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 60 мин. Определяли вязкость крови при скоростях сдвига от 3 до  $300\text{ с}^{-1}$  на ротационном вискозиметре АКР-2.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программного обеспечения Statistica 6.0. Данные представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — среднее значение,  $m$  — стандартная ошибка среднего значения. Для оценки достоверных различий при сравнении средних величин использовали непараметрический  $U$ -критерий Манна—Уитни.

## Результаты

Детралекс при однократном введении статистически достоверно увеличивал скорость лимфооттока на 38% ( $p < 0,05$ ). В группе крыс, получавших липоевую кислоту, значимых изменений скорости лимфооттока по сравнению с контрольными значениями не выявлено. У животных, получавших дигидрокверцетин, скорость лимфооттока превышала значения в контрольной группе на 25% ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

Таблица 1

Влияние однократного внутрижелудочного введения детралекса, дигидрокверцетина, липоевой кислоты и композиции дигидрокверцетина с липоевой кислотой на скорость лимфооттока у крыс линии Вистар

Исследуемая группа ( $n = 6$ )	Скорость лимфооттока, мкл/кг·мин
Контрольная	$106 \pm 4$
Детралекс (50 мг/кг массы тела)	$146 \pm 18^+$
Дигидрокверцетин (50 мг/кг массы тела)	$132 \pm 12^+$
Липоевая кислота (50 мг/кг массы тела)	$125 \pm 9$
Дигидрокверцетин и липоевая кислота (по 50 мг/кг массы тела)	$146 \pm 8^+$

Примечание.  $n$  — количество крыс;  $+$  —  $p < 0,05$  по сравнению со значениями в контроле.

Результатом совместного введения дигидрокверцетина и липоевой кислоты стало усиление лимфокинетического эффекта дигидрокверцетина, скорость лимфооттока в этой группе животных достоверно

превосходила таковую в контроле на 38%, как и у животных, получавших детралекс (табл. 1).

Во второй серии экспериментов показано, что дигидрокверцетин увеличивал время выхода синего Эванса на 27% ( $p < 0,05$ ). У животных, получавших липоевую кислоту, проницаемость капилляров достоверно не отличалась от контроля; время выхода красителя составило  $(160 \pm 6)$  с. Наиболее выраженный эффект наблюдали при введении композиции дигидрокверцетина и липоевой кислоты; время выхода красителя было больше на 51% по сравнению со значениями в контроле и на 19% по сравнению со значениями у крыс, получавших дигидрокверцетин (табл. 2).

Таблица 2

**Влияние курсового (7 сут) внутрижелудочного введения дигидрокверцетина, липоевой кислоты и композиции дигидрокверцетина с липоевой кислотой на проницаемость капилляров у крыс линии Вистар**

Исследуемая группа ( $n = 5$ )	Время выхода красителя, с
Контрольная	$148 \pm 5$
Дигидрокверцетин (20 мг/кг массы тела)	$188 \pm 4^+$
Липоевая кислота (20 мг/кг массы тела)	$160 \pm 6$
Дигидрокверцетин и липоевая кислота (по 20 мг/кг массы тела)	$224 \pm 12^{+*}$

<sup>+</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с контролем;

\*  $p < 0,05$  по сравнению с дигидрокверцетином.

В экспериментах по оценке гемореологической активности инкубация крови у контрольных животных приводила к значимому повышению ее вязкости во всем исследуемом диапазоне скоростей сдвига ( $3—300 \text{ с}^{-1}$ ) на 13—29% (табл. 3). У животных, получавших липоевую кислоту, исходные значения вязкости крови как на низких ( $3—10 \text{ с}^{-1}$ ), так и на высоких ( $50 \text{ с}^{-1}$ ) скоростях сдвига были ниже значений в контроле на 16—19 и 9% соответственно. Вместе с тем липоевая кислота практически не сдерживала рост вязкости крови в течение инкубации по сравнению с контролем, значимые изменения наблюдались лишь на скорости сдвига  $300 \text{ с}^{-1}$ .

В группе крыс, получавших дигидрокверцетин, вязкость крови до инкубации во всем исследуемом диапазоне скоростей сдвига была ниже на 6—16% по сравнению с контрольными значениями. После инкубации вязкость крови у животных этой группы на скоростях сдвига  $3—10$  и  $50—300 \text{ с}^{-1}$  была ниже значений контроля на 11—14 и 8—10% соответственно (табл. 3).

Введение композиции дигидрокверцетина и липоевой кислоты приводило к достоверному снижению исходных значений вязкости крови на скоростях сдвига  $3—300 \text{ с}^{-1}$  по сравнению с контролем на 6—17%.

Таблица 3

**Влияние курсового (7 сут) внутрижелудочного введения дигидрокверцетина, липоевой кислоты и комбинации дигидрокверцетина с липоевой кислотой на вязкость крови (мПа · с) на разных скоростях сдвига до и через 1 ч после инкубации при комнатной температуре ( $20,0 \pm 0,4 \text{ }^\circ\text{C}$ )**

у крыс линии Вистар

Исследуемая группа	$3 \text{ с}^{-1}$		$5 \text{ с}^{-1}$		$7 \text{ с}^{-1}$		$10 \text{ с}^{-1}$	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Контрольная ( $n = 7$ )	$10,2 \pm 0,4$	$13,2 \pm 0,5^*$	$8,9 \pm 0,3$	$11,3 \pm 0,4^*$	$8,1 \pm 0,3$	$10,4 \pm 0,4^*$	$7,6 \pm 0,2$	$9,7 \pm 0,3^*$
Дигидрокверцетин (50 мг/кг массы тела) ( $n = 5$ )	$8,6 \pm 0,2^+$	$11,4 \pm 0,4^{*+}$	$7,5 \pm 0,1^+$	$9,8 \pm 0,4^{*+}$	$7,1 \pm 0,1^+$	$9,2 \pm 0,3^{*+}$	$6,7 \pm 0,2^+$	$8,6 \pm 0,2^{*+}$
Липоевая кислота (50 мг/кг массы тела) ( $n = 5$ )	$8,2 \pm 0,6^+$	$11,0 \pm 1,0^*$	$7,2 \pm 0,4^+$	$9,7 \pm 0,8^*$	$6,8 \pm 0,3^+$	$8,9 \pm 0,7^*$	$6,5 \pm 0,3^+$	$8,3 \pm 0,7^*$
Дигидрокверцетин и липоевая кислота (по 50 мг/кг массы тела) ( $n = 5$ )	$8,5 \pm 0,3^+$	$10,8 \pm 0,6^{*+}$	$7,6 \pm 0,2^+$	$9,5 \pm 0,5^{*+}$	$7,1 \pm 0,3^+$	$8,8 \pm 0,4^{*+}$	$6,8 \pm 0,2^+$	$8,2 \pm 0,4^{*+}$
Исследуемая группа	$50 \text{ с}^{-1}$		$100 \text{ с}^{-1}$		$300 \text{ с}^{-1}$			
	1	2	1	2	1	2	1	2
Контрольная ( $n = 7$ )	$5,3 \pm 0,1$	$6,8 \pm 0,2^*$	$4,9 \pm 0,1$	$6,0 \pm 0,1^*$	$4,7 \pm 0,1$	$5,3 \pm 0,1^*$		
Дигидрокверцетин (50 мг/кг массы тела) ( $n = 5$ )	$4,9 \pm 0,1^+$	$6,1 \pm 0,2^*$	$4,6 \pm 0,1^+$	$5,5 \pm 0,1^{*+}$	$4,4 \pm 0,1^+$	$4,9 \pm 0,1^{*+}$		
Липоевая кислота (50 мг/кг массы тела) ( $n = 5$ )	$4,8 \pm 0,2^+$	$6,0 \pm 0,4^*$	$4,5 \pm 0,1$	$5,5 \pm 0,3^*$	$4,4 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,2^{*+}$		
Дигидрокверцетин и липоевая кислота (по 50 мг/кг массы)								

тела) ( $n = 5$ )		$4,9 \pm 0,1^+$	$5,9 \pm 0,2^{*+}$	$4,6 \pm 0,1^+$	$5,4 \pm 0,1^{*+}$	$4,4 \pm 0,1^+$	$4,9 \pm 0,1^{*+}$
-------------------	--	-----------------	--------------------	-----------------	--------------------	-----------------	--------------------

Примечание. 1 — до инкубации; 2 — после инкубации; \* —  $p < 0,05$  по сравнению с исходным значением; + —  $p < 0,05$  по сравнению с контрольным значением.

Кроме того, рассматриваемая композиция эффективно сдерживала увеличение вязкости крови после инкубации на низких ( $3-10 \text{ с}^{-1}$ ) скоростях сдвига на 16—18% и на высоких ( $50-300 \text{ с}^{-1}$ ) — на 8—13% по сравнению со значениями в контрольной группе. При этом проявляемый гемореологический эффект композиции количественно превосходил эффект дигидрохверцетина, хотя различия значений вязкости крови в этих группах не достигал статистической значимости (табл. 3).

## Обсуждение

Способность некоторых соединений с антиоксидантами и мембраностабилизирующими свойствами проявлять лимфокинетическую активность является известной [7, 11]. Антиоксиданты способны стимулировать поступление из интерстиция в лимфатическое русло продуктов метаболизма, инициируя процесс лимфообразования и лимфооттока. Немаловажную роль в этом процессе играют активация микрогемодикуляции и улучшение реологии тканевой жидкости [4, 7]. Возможно, усиление лимфодренажной функции выступает следствием прямого влияния дигидрохверцетина путем стимуляции сократительной функции компонентов лимфангиона.

Гемореологическая и капилляропротекторная активность дигидрохверцетина была описана ранее. Гемореологическая активность обусловлена способностью дигидрохверцетина улучшать макро- и микрореологические параметры крови [6]. В основе капилляропротекторного действия флавоноидов (в частности, дигидрохверцетина) лежит их способность прямо или косвенно влиять на биомембраны, что, в свою очередь, связано с ингибированием в них свободно-радикальных процессов ПОЛ [1].

В то же время выявленная способность липоевой кислоты усиливать капилляропротекторный эффект дигидрохверцетина и в меньшей степени лимфокинетическую и гемореологическую активность может быть обусловлена влиянием на уровень многофункциональных пептидов (в частности, глутатиона), обладающих высокой биологической активностью [10, 16, 20].

## Заключение

Установлено, что дигидрохверцетин обладает лимфокинетической активностью. Наблюдаемые эффекты композиции дигидрохверцетина и липоевой кислоты в той или иной степени превосходят эффекты ее компонентов в отдельности.

## Литература

1. Колхир В.К., Тюкавкина Н.А., Быков В.А. и др. Диквертин — новое антиоксидантное и капилляропротекторное средство // Хим.-фарм. журн. 1995. № 9. С. 61—64.
2. Кошкин В.М., Каралкин А.В., Саитова Г.Д., Наставищева О.Д. Микро- и макроциркуляция в нижних конечностях у больных с различными формами хронической венозной недостаточности // Региональное кровообращение и циркуляция. 2004. Т. 3, № 2. С. 47—51.
3. Кузнецов А.В. Новый способ забора лимфы у животных // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1993. Т. 116, № 9. С. 329—331.
4. Ларионов М.В., Обыденнов С.А., Хафизьянова Р.Х. Патогенез развития хронической венозной недостаточности и основные направления лечебной тактики // Казан. мед. журн. 2004. Т. 85, № 6. С. 433—436.
5. Ойвина И.А., Монакова К.Н. Методика количественного изучения противовоспалительных средств // Фармакология и токсикология. 1953. Т. 16, № 6. С. 50—51.
6. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе диквертина. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2005. 228 с.
7. Хафизьянова Р.Х., Алеева Г.Н., Мухутдинов Д.А. Лимфотропное действие димефосфона, мексидола и кеторолака реализуется посредством активации деятельности лимфангиона и усиления лимфообразования // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2007. Т. 143, № 4. С. 423—425.
8. Черняк Ю.И., Щукина О.Г. Состояние процессов перекисидации у крыс в отдаленном периоде после хронического введения дигидрохверцетина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2009. Т. 147, № 5. С. 532—535.
9. Bergan J.J., Schmid-Schunbein G.W., Coleridge Smith P.D. et al. Chronic venous disease // N. Engl. J. Med. 2004. V. 355, № 5. P. 488—498.
10. Bilska A., Wlodek L. Lipoic acid — the drug of the future? // Pharmacological report. 2005. № 57. P. 570—577.
11. Cotonat A. Cotonat J. Lymphalogue and pulsatile activities of Daflon 500 mg on canine lymph duct // Inter. Angio. 1989. V. 8, № 4. P. 15—18.
12. Da Ros R., Assaloni R., Ceriello A. Molecular targets of diabetic vascular complications and potential new drugs // Curr. Drug Targets. 2005. V. 6, № 4. P. 503—509.
13. Ghibu S., Richard C., Delemasure S. et al. An endogenous dithiol with antioxidant properties: Alpha-lipoic acid, potential uses in cardiovascular diseases // Ann Cardiol Angeiol.

2008. V. 57, № 3. P. 161—165.
14. *Hojnacki D., Zamboni P., Lopez-Soriano A. et al.* Use of neck magnetic resonance venography, Doppler sonography and selective venography for diagnosis of chronic cerebrospinal venous insufficiency: a pilot study in multiple sclerosis patients and healthy controls // *Int. Angiol.* 2010. V. 29, № 2. P. 127—139.
15. *Sándor T.* Chronic venous disease. A state of art // *Orv. Hetil.* 2010. V. 154, № 4. P. 131—139.
16. *Shay K.P., Moreau R.F., Smith E.J. et al.* Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanisms and therapeutic potential // *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. V. 1790, № 10. P. 1149—1160.
17. *Taute B.M.* Chronic venous insufficiency // *Internist.* 2010. V. 51, № 3. P. 351—357.
18. *Wang Y.H., Wang W.Y., Liao J.F. et al.* Prevention of macrophage adhesion molecule-1 (Mac-1)-dependent neutrophil firm adhesion by taxifolin through impairment of protein kinase-dependent NADPH oxidase activation and antagonism of G protein-mediated calcium influx // 2004. V. 67, № 12. P. 2251—2262.
19. *Wollin S.D., Jones P.J.* Alpha-lipoic acid and cardiovascular disease // *J. Nutr.* 2003. V. 133, № 11. P. 3327—3330.
20. *Wu G., Fang Y.Z., Yang S. et al.* Glutathione metabolism and its implications for health // *J. Nutr.* 2004. V. 134, № 3. P. 489—492.

Поступила в редакцию 18.06.2010 г.

Утверждена к печати 22.12.2010 г.

#### Сведения об авторах

*И.С. Иванов* — канд. биол. наук, мл. науч. сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск).

*А.В. Сидехменова* — аспирант лаборатории фармакологии кровообращения НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск).

*А.М. Анищенко* — канд. мед. наук, науч. сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск).

*О.И. Алиев* — д-р мед. наук, ведущий науч. сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск).

*Н.А. Тюкавкина* — д-р ф. наук, профессор кафедры органической химии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (г. Москва).

*М.Б. Плотников* — д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией фармакологии кровообращения НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск).

#### Для корреспонденции

*Плотников Марк Борисович*, тел. 8 (382-2) 41-83-73; e-mail: mbp2001@mail.ru

---

## Порядок рецензирования статей в журнале «Бюллетень сибирской медицины»

Все поступающие в редакцию рукописи после регистрации проходят этап обязательного двойного конфиденциального рецензирования членами редакционного совета либо внешними рецензентами. Рецензенты не имеют права копировать статью и обсуждать ее с другими лицами (без разрешения главного редактора).

При получении положительных рецензий работа считается принятой к рассмотрению редакционной коллегией журнала, которая окончательно решает вопрос о публикации материала в «Бюллетене сибирской медицины».

Редакция журнала извещает основного автора о результатах прохождения рецензирования и сроках публикации.

Редакция не принимает рукописи научно-практического характера, опубликованные ранее в других изданиях.

Все полученные редакцией журнала «Бюллетень сибирской медицины» рукописи будут рассмотрены без задержек и при получении положительных рецензий и решения редакционной коллегии опубликованы в течение одного года.

С правилами оформления работ можно ознакомиться в Интернете на сайте СибГМУ: <http://ssmu.tomsk.ru>.

Статьи и информация для журнала принимаются в редакционно-издательском отделе СибГМУ.