

Влияние Стилена (эупатилина), производного флавоноида, на экспериментальные модели воспалительного заболевания кишечника на ЖИВОТНЫХ

Ю Сон Ки¹, Мивон Сон, Июн И Ко, Хён Чо, Мухи Ю, Вон Бэ Ким, Ин Сунг Сон и Чанг фу. Ки.

1. Кафедра внутренней медицины, Сеульский национальный университет, Медицинский колледж, Сеул 110-460, Корея и

2. Research Laboratories, Dong-A Pharm. Co. Ltd., Кюнгидо 449-900, Корея

(11 марта 1999 г.)

Абстракт

Воспалительное заболевание кишечника (180) - многофакторное заболевание с неизвестной этиологией и патогенезом. Стилен, 7-карбоксиметилокси-3', 4', 5-триметоксифлавоноид, представляет собой синтетический флавоноид, обладающий противовоспалительной активностью. Это исследование было проведено для оценки перорального терапевтического эффекта Стилена на трех экспериментальных моделях животных из 180: двух 180 · моделях крыс, индуцированных химическим путем, и модели трансгенных крыс с человеческим лейкоцитарным антигеном (HLA) - 827, у которых, как известно, развивается спонтанный колит без использования экзогенных агентов. Острый химический колит вызывали закапыванием в толстую кишку 1,2 мл 4% раствора уксусной кислоты. Преднизолон (1 мг / кг), сульфасалазин (100 мг / кг) и Стилен (0,3–3 мг / кг) вводили этим крысам перорально дважды в день в течение 6 дней. Кроме того, хронический химический колит был вызван введением внутрь ободочной кишки 30 мг тринитробензолсульфоновой кислоты (TNBS) в 50% этаноле, и агенты вводились перорально в течение 6 или 20 дней. В моделях ВЗК, индуцированных химическими веществами, все эти агенты снижали тяжесть колита, и особенно DA-6034 (3 мг / кг) показал более сильное действие, чем другие препараты, по шкале макроскопических повреждений. Трансгенным крысам HLA-827 Стилен (3 мг / кг) и преднизолон (0,5 мг / кг) вводили перорально дважды в день в течение 6 недель. У трансгенных крыс HLA-B27 обнаружен только легкий колит по сравнению с моделями химически индуцированного колита. Стилен улучшил жидкий стул и уменьшил микроскопические повреждения, что является важным показателем этой модели. В заключение, пероральная терапия Стиленом ослабила макроскопические и гистологические повреждения толстой кишки во всех трех экспериментальных моделях 180, что позволяет предположить, что Стилен может быть многообещающим препаратом для лечения ВЗК.

Ключевые слова: воспалительное заболевание кишечника, Стилен, TNBS, уксусная кислота, трансгенная крыса HLA-827.

ВСТУПЛЕНИЕ

Флавоноиды были признаны потенциально полезными противовоспалительными агентами ввиду их ингибирующего действия на ряд клеток иммунной системы, таких как макрофаги, нейтрофилы, тучные клетки и ферменты, участвующие в запуске или усилении воспалительной реакции (Havsteen, 1983; Миддлтон и Кандасвами, 1993; Вы Км, 1999 г.). Стилен (эупатилин), производное флавоноидов, является основным компонентом экстракта видов *Artemisiae*, корейской народной медицины, применяемой для лечения хронической диареи (Wu, 1985; Ahn et al., 1997). Стилен, 7-

карбоксиметилокси-3', 4', 5-триметоксифлавоном, является синтетическим производным эупатилина. Хотя противовоспалительный механизм

Как известно, ректальное введение Стилена эффективно при колите, вызванном тринитробензолсульфоновой кислотой (fNBS) (Chang et al., 1998). Это исследование было проведено для оценки перорального терапевтического эффекта Стилена на трех экспериментальных моделях воспалительного заболевания кишечника (ВЗК): острый колит крыс, индуцированный уксусной кислотой, хронический колит крыс, индуцированный TNBS, и человеческий лейкоцитарный антиген (HLA) -827 трансгенные крысы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

Трансгенные крысы HLA-B27, экспрессирующие гены HLA-827 и 2-микροглобулин человека и крысы Fisher 344, были приобретены у Taconic (Germantown, NY, USA) в возрасте 10-11 недель. Самцы крыс Sprague-Dawley (250-300 г, возраст 7-8 недель) были приобретены в Харлес Япония (Канагава, Япония). Животных содержали в индивидуальных клетках с 12-часовым циклом свет / темнота и обеспечивали свободный доступ к питьевой воде и корму для грызунов.

Материалы и реактивы

Стилен (7-карбоксиметилокси-3', 4', 5-триметоксифлавоном) Nas, синтезированный в Research Laboratories, Dong-A Phai naceutical Co. (Кёнги-до, Корея). Уксусная кислота-ледяная, 2, 4, 6-тринитробензолсульфоновая кислота, сульфасалазин и преднизолон были закуплены у Sigma (Сент-Луис, США).

Колит, вызванный уксусной кислотой

Острый колит у крыс вызывали модификацией ранее опубликованного метода (MacPherson and Pieiffer, 1976, 1978). Крыс анестезировали эфиром и вводили 1,2 мл 4% раствора уксусной кислоты (pH 2,3) внутрь через резиновую канюлю длиной 8 см. После 1-дневного периода восстановления Стилен вводили перорально в трех дозах (0,3, 1 и 3 мг / кг) два раза в день в течение 6 дней (n = 10). Сульфасалазин (100 мг / кг) и преднизолон (1 мг / кг) вводили перорально в качестве эталонных препаратов в каждой группе крыс (n = 10). Контрольная группа уксусной кислоты и контрольная группа физиологического раствора также были включены для справки.

Колит, вызванный TNBS

Хронический колит вызывали введением в толстую кишку 30 мг TNBS в 0,5 мл 50% этанола, как описано ранее (Morris et al., 1989). Стилен вводили перорально в двух дозах (1 и 3 мг / кг), 1 раз в день в течение 6 дней (острая фаза) или 20 дней (хроническая фаза) с 1 дня после травмы (n = 10). Дозу сульфасалазина 100 мг / кг или преднизолона 1 мг / кг вводили перорально в качестве препаратов сравнения в каждой группе крыс (n = 10). Контрольная группа TNBS и контрольная группа физиологического раствора также были включены для справки.

Трансгенные крысы с микροглобулином HLA-827 и j32

Трансгенных крыс, экспрессирующих гены HLA-827 и 2-микροглобулина человека, были получены от крыс Fisher 344 с использованием технологии рекомбинантной ДНК. У них спонтанно развиваются полиорганные заболевания, проявляющиеся колитом, артритом, орхитом и псориазоподобными изменениями кожи и ногтей, которые похожи на спондилоартропатии человека, связанные с генами HLA-827 и 2 микροглобулинами (Hammer et al., 1990). Колит начинается в возрасте от 6 до 20 недель, болезнь носит хронический и прогрессирующий характер. Мы получили 18 трансгенных крыс в возрасте 10–11 недель и разделили их на 3 группы. DA-6034 (3

мг / кг) и преднизолон (0,5 мг / кг) в качестве проверочного материала. Препарат вводили перорально два раза в день в течение 6 недель. Трансгенная контрольная группа и нормальный Фишер 344 особи были включены для сравнения, и крысы из каждой группы получали физиологический раствор в течение того же периода.

Общее наблюдение

Снижение массы тела и диарея (жидкий стул и / или диарея) являются одними из важных клинических признаков колита. У крыс с колитом, вызванным уксусной кислотой и TNBS, ежедневно измеряли массу тела и частоту диареи. У трансгенных крыс Fisher HLA-827 консистенцию стула оценивали по шкале, приведенной в таблице I.

Макроскопическое исследование и измерение веса толстой кишки

Через 24 часа после последней лекарственной обработки крыс умерщвляли под эфирным наркозом и выполняли лапаротомию. Часть толстой кишки (10 см), показывающая большее повреждение, была изолирована, взвешена и затем открыта продольным разрезом. При колите, вызванном уксусной кислотой, макроскопическую оценку повреждения проводили путем измерения площади изъязвления толстой кишки. Повреждение толстой кишки у крыс с TNBS-индуцированным колитом и трансгенных крыс HLA-827 оценивали в соответствии с критериями (Таблица II) двумя наблюдателями, которые не знали о лечении.

Гистологическая оценка

Оценка консистенции стула

Таблица I. Оценка консистенции стула

0 Нормальный стул: хорошо сформированные гранулы, жесткий как обычно

Жидкий стул: образованные гранулы с влагой, мягкий стул, сохраняющий форму стула.

2 Жидкий стул: стул неправильной формы с большим количеством влаги, более мягкий стул теряет форму

3 Водянистый понос

Таблица II. Критерии макроскопической оценки поражения толстой кишки Оценка внешнего вида

0 Нормальный

Локализованная гиперемия, язв нет.

2 Линейные изъязвления без гиперемии или утолщения стенки кишечника

3 Линейные изъязвления с воспалением на одном участке

4 Два или более участка изъязвления и воспаления

5 Два или более участка изъязвления и воспаления или один крупный участок повреждения, простирающийся более чем на 1 см по длине толстой кишки

610 Когда область изъязвления и воспаления простиралась более чем на 2 см по длине толстой кишки, оценка увеличивалась на 1 за каждый дополнительный см.

Таблица III. Гистологическая оценка поражения толстой кишки

| Оценка | Параметры | Критерии |
|--------|------------------------|----------|
| Язвы | Нет язвы, эпителизации | 0 |

| | | |
|-------------------|---|---|
| | Небольшие язвы <3 мм Большие язвы > 3 мм | 2 |
| Воспаление | Нет | 0 |
| | Незначительный Умеренный | 2 |
| | Тяжелая | 3 |
| Глубина поражения | Нет | 0 |
| | Подслизистая основа Собственная мышечная ткань | 2 |
| | Серозная ткань | 3 |
| Фиброгенез | Нет | 0 |
| | Незначительный Тяжелый | 2 |

Образцы воспаленных тканей толстой кишки (4 мм на 1 см) были получены от крыс с HLA-B27, фиксированных в нейтральном забуференном формалине, и обработаны стандартными методами перед заливкой в парафин. Толстые срезы (4 мкм) помещали на предметные стекла и окрашивали гематоксилином и эозином. Срезы были исследованы под световым микроскопом (BH-2, Olympus) ветеринарным патологоанатомом, который не знал о лечении. Оценка повреждений была присвоена в соответствии с критериями, приведенными в таблице III.

Статистический анализ

Все данные были выражены как среднее значение \pm стандартная ошибка. Сравнение непараметрических данных, например оценок повреждений, проводилось с помощью критерия суммы рангов Манна-Уитни. Статистическая значимость параметрических данных была установлена на уровне $p < 0,05$.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Колит, вызванный уксусной кислотой

Крысы с колитом, вызванным уксусной кислотой, демонстрировали потерю массы тела и диарею в течение первых трех дней, а затем медленно восстанавливались в оставшиеся периоды эксперимента. Поражение толстой кишки уксусной кислотой проявилось диффузно некротическими изменениями слизистой оболочки. При вскрытии были очевидны диффузное утолщение стенки кишечника и гиперемизированные изменения серозной поверхности; однако перфорации выявлено не было. И преднизолон, и сульфасалазин значительно уменьшали повреждение толстой кишки, $p < 0,05$). Стилен улучшал поражение толстой кишки дозозависимым образом, а эффективность Стилена достигала статистической значимости при дозах > 1 мг / кг (рис. 1). Кроме того, Стилен в дозе 3 мг / кг значительно увеличивал степень увеличения веса (Таблица IV) и уменьшал частоту диареи (данные не показаны). Стилен, как и другие препараты сравнения, уменьшал массу толстой кишки (Таблица IV).

Таблица IV. Влияние Стилена на увеличение массы тела и массу толстой кишки у крыс с колитом, вызванным уксусной кислотой

ВЗК, вызванная уксусной кислотой (1 неделя)

| Группа | Доза мг/кг | Кол-во животных | Прибавка в весе | Вес толстой кишки (г / 10 см) |
|----------|------------|-----------------|-----------------|-------------------------------|
| Контроль | | 9 | 2.1 \pm 0.6 | 1.10 \pm 0.05 |

| | | | | |
|---------------|-----|----|----------|------------|
| Prednisolone | | 10 | 0.7±0.4 | 1.05±0.05 |
| Sulfasalazine | 100 | 9 | 3.4±0.6 | 0.94±0.06* |
| Стилен | 0.3 | 10 | 2.7±0.6 | 0.92±0.09* |
| Стилен | 1 | 10 | 3.1±0.5 | 0.99±0.05 |
| Стилен | 3 | 10 | 4.5±0.5* | 0.93±0.04* |

Данные выражены в виде среднего значения ± стандартная ошибка. * представляет р <0,05 по сравнению с контролем.

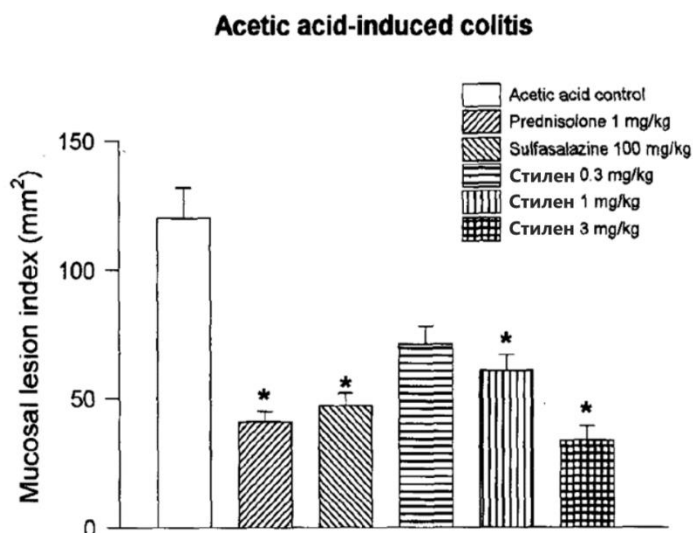


Рис. 1. Лечебное действие Стилена, сульфасалазина и преднизолона на слизистую, индекс поражения у крыс с колитом, вызванным уксусной кислотой. Каждая полоса представляет собой среднее значение ± стандартное отклонение. 10 крыс. * представляет р <0,05 по сравнению с контролем.

Колит, вызванный TNBS

Введение внутрь колонии TNBS (30 мг), растворенного в 50% этаноле, вызывало у крыс тяжелый колит. Крысы с TNBS-индуцированным колитом демонстрировали потерю веса и диарею в течение первых трех дней, а затем медленно восстанавливались в оставшиеся периоды эксперимента. Поражение толстой кишки вызванное TNBS колитом показало диффузный геморрагический некроз, отек и глубокую язву. Общий балл повреждения у контрольных крыс составил 9,0 через 1 неделю (острая стадия) и 6,2 через 3 недели (хроническая стадия). Пероральное введение Стилена в дозе 3 мг / г ослабляло потерю веса и заметно улучшало состояние поражения толстой кишки по сравнению с контролем. Эффекты были более благоприятными, чем у преднизолона и сульфасалазина (рис. 2). Кроме того, лечение Стиленом в дозе 3 мг / г снижает массу толстой кишки (Таблица V) и снижает частоту диареи (данные не показаны).

Таблица V. Влияние Стилена на увеличение массы тела и массу толстой кишки у крыс с индуцированным TNBS колитом

| Группа | Доза мг/кг | Количество животных | 1 неделя | | 3 недели | |
|--------|------------|---------------------|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| | | | Увеличение массы тела (г / день) | Вес толстой кишки (г / 10 см) | Увеличение массы тела (г / день) | Вес толстой кишки (г / 10 см) |
| | | | | | | |

| | | | | | | |
|---------------|-----|----|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Контроль | | 10 | 1.6±1.5 | 2.14±0.26 | 5.9±0.5 | 1.46±0.20 |
| Prednisolone | | 10 | 2.2±1.4 | 1.93±0.38 | 5.4±0.4 | 1.40±0.20 |
| Sulfasalazine | 100 | 10 | 2.4±2.0 | 1.82±0.27 | 6.6±0.8 | 1.52±0.40 |
| Стилен | 1 | 10 | 1.92±0.47 | 6.3±0.6 | 1.48±0.24 | |
| Стилен | 3 | 10 | 6.0±0.8* | 1.72±0.45 | 6.4±0.7 | 1.11±0.14 |

Данные выражены в виде среднего значения ± стандартная ошибка. * представляет $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

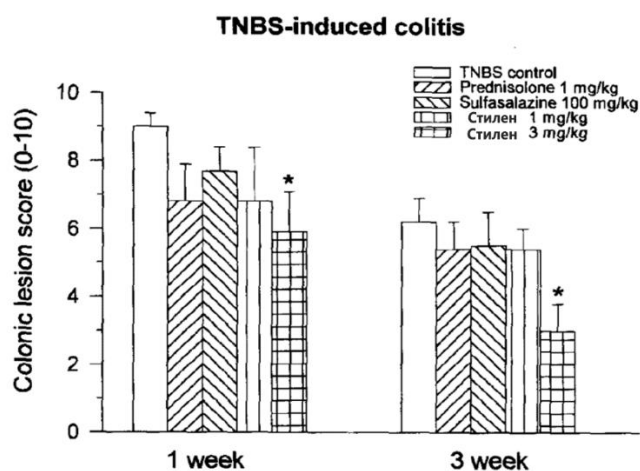


Рис. 2. Терапевтический эффект Стилена, сульфасалазина и преднизолона на индекс баллов повреждения у крыс с индуцированным TNBS колитом. Каждая полоса представляет собой среднее значение ± стандартное отклонение. 10 крыс. * представляет $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Трансгенные крысы HLA-827

У трансгенных контрольных крыс, получавших физиологический раствор, спонтанно развивался жидкий стул и / или диарея (жидкий стул более 1,0 балла по стулу) в возрасте 12–13 недель, и оценка стула постоянно увеличивалась в оставшиеся периоды эксперимента. Однако у нетрансгенных крыс Fisher 344 клинических признаков не наблюдалось. Лечение Стиленом (3 мг / кг) показало тенденцию к улучшению консистенции стула в течение экспериментальных периодов и значительно снизило оценку стула через 6 недель по сравнению с контрольной группой. Препарат сравнения, преднизолон, также значительно улучшил оценку стула через 4 недели лечения (рис. 3).

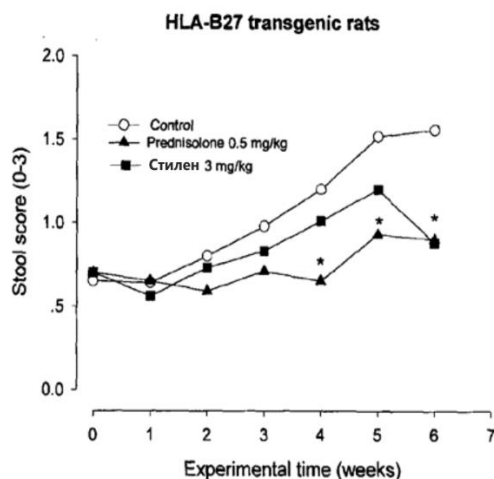


Рис. 3. Влияние Стилена на консистенцию стула у трансгенных крыс HLA-B27. Каждая точка данных представляет собой среднее значение \pm стандартное отклонение из 6 крыс. * представляет $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Макроскопические исследования толстой кишки трансгенных крыс показали расширение толстой кишки и утолщение стенки кишечника с отеком. Наблюдалось также набухание лимфатических узлов. Однако такие поражения, как эрозии или изъязвления, не наблюдались ни у каких трансгенных или нетрансгенных крыс Fisher 344. Показатели макроскопического поражения толстой кишки не различались между группами трансгенных крыс. При гистологическом исследовании толстой кишки у трансгенных контрольных крыс была обнаружена диффузная хроническая воспалительная клеточная инфильтрация (в основном лимфоциты), которая распространялась на подслизистый слой. Многоочаговые эрозии с фиброзом также наблюдались в некоторых тяжелых случаях (фиг. 4B), тогда как нетрансгенные крысы Fisher 344 демонстрировали нормальный внешний вид слизистой оболочки (фиг. 4A). У трансгенных крыс, получавших преднизолон или Стилен, наблюдались поражения воспалительной клеточной инфильтрации или эрозии, но степень повреждений была значительно меньше, чем у трансгенных контрольных крыс (рис. 4C и 4D). Общий гистологический показатель повреждений трансгенных контрольных крыс HLA-827 был значительно повышен. Напротив, лечение Стиленом и преднизолоном значительно снизило общую гистологическую оценку поражений. Эффективность Стилена была выше, чем у преднизолона, при хроническом прогрессирующем колите трансгенных крыс HLA-827 (рис. 5 и таблица VI).

Таблица VI. Терапевтические эффекты трансгенных крыс

| Группа | Изъязвления (0-2) | Воспаление (0-3) | Глубина поражения (0-3) | Фиброз (0-2) | Всего(0-10) |
|--------------|-------------------|------------------|-------------------------|----------------|----------------|
| Норма | 0.0 \pm 0.0 | 0.4 \pm 0.2 | 0.3 \pm 0.2 | 0.0 \pm 0.0 | 0.6 \pm 0.3 |
| Контроль | 1.3 \pm 0.2# | 2.5 \pm 0.2# | 2.3 \pm 0.5# | 1.7 \pm 0.2# | 7.8 \pm 0.9# |
| Prednisolone | 0.5 \pm 0.2 | 1.5 \pm 0.4 | 1.0 \pm 0.0 | 0.8 \pm 0.3 | 3.7 \pm 0.7* |
| Стилен | 0.3 \pm 0.2* | 1.2 \pm 0.2* | 1.0 \pm 0.0 | 0.2 \pm 0.2* | 2.7 \pm 0.5* |

Данные выражены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка.

представляет $P < 0,05$ по сравнению с нормой. * представляет $p < 0,05$ по сравнению с трансгенным контролем.

are представлена нормальная группа Fisher 344

bre представляет трансгенную группу Fisher 344.

Рис. 4. Гистология толстой кишки нормальных крыс Fisher 344 и трансгенных крыс HLA-B27. (A) Нормальные крысы Fisher 344 показали нормальную слизистую оболочку ($\times 100$). (B) HLA-B27 трансгенные контрольные крысы продемонстрировали серьезную инфильтрацию воспалительных клеток из слоя слизистой оболочки в подслизистую основу и изъязвление с утолщением стенки кишечника ($\times 100$). (C) Трансгенные крысы HLA-B27, получавшие преднизолон (0,5 мг / кг), показали мультифокальную инфильтрацию воспалительных клеток в слизистой оболочке и собственной пластинке ($\times 100$). (D) Трансгенные крысы HLA-B27, получившие Стилен (3 мг / кг), не показали заметных аномальных повреждений ($\times 100$).

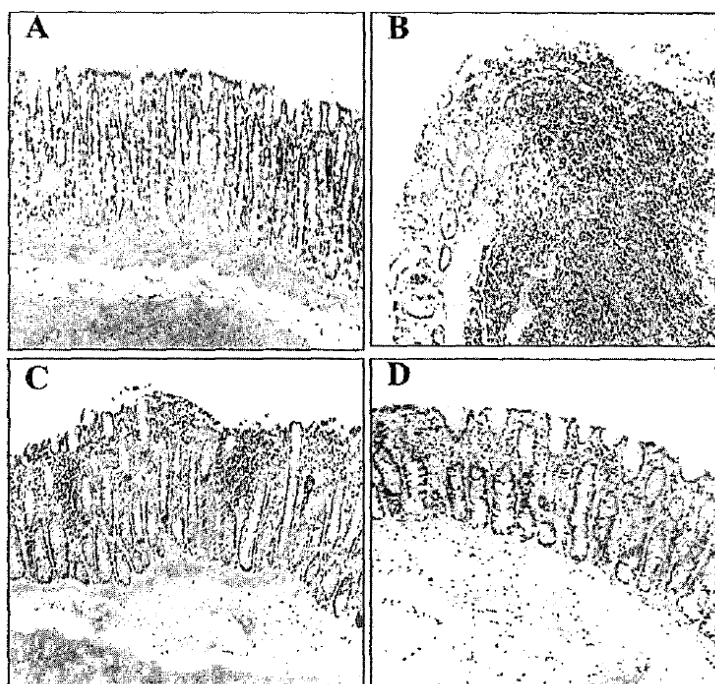
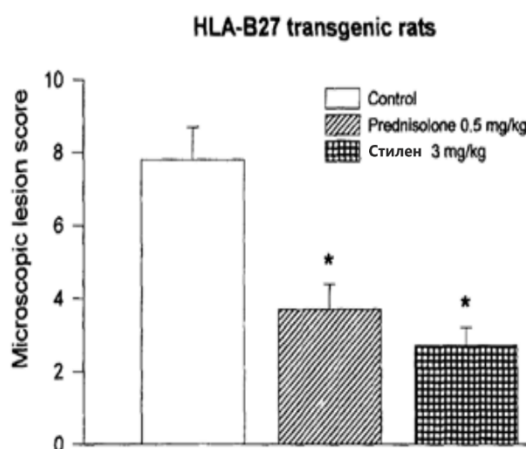


Рис. 5. Терапевтические эффекты Стилена и преднизолона на оценку микроскопических повреждений у трансгенных крыс HLA-B27. Каждая полоса представляет собой среднее значение \pm стандартное отклонение. из 6 крыс. * представляет $p < 0.05$ по сравнению с трансгенным контролем.



ОБСУЖДЕНИЕ

Заболеваемость ВЗК, особенно болезнью Крона, увеличивалась за последние несколько десятилетий (Calkins and Mendeloff, 1995). Тем не менее, не было достигнуто значительного прогресса в разработке новых терапевтических агентов для лечения ВЗК. Традиционная терапия, включающая сульфасалазин, преднизолон и иммуномодуляторы, такие как азатиоприн и метотрексат, как правило, помогают улучшить симптомы и поддерживать ремиссию заболевания. Однако эти лекарственные средства имеют побочные эффекты, такие как лекарственная токсичность и иммуносупрессия и т. д. Для оценки терапевтического эффекта новых лекарств, а также для понимания этиологии и патогенеза заболевания необходима адекватная модель на животных. Однако идеального экспериментального Модель ВЗК существует в настоящее время (Elson et al., 1995). Особенностью такой модели являются множественные компоненты, способствующими ВЗК; гены, окружающая среда, специфический иммунитет, врожденный иммунитет, неспецифическое воспаление и процесс заживления ран (Элсон и др., 1995). Модели

химического колита: наиболее часто используются, потому что они недороги, воспроизводимы и легко доступны. Модель колита, индуцированного уксусной кислотой, полезна для изучения неспецифического воспаления и заживления ран (Elson et al., 1995). Он имеет много общих гистологических признаков язвенного колита, включая слизистую оболочку, отек, нейтрофильную инфильтрацию слизистой оболочки и изъязвление. Однако существуют большие различия между моделью колита, вызванного уксусной кислотой, и язвенного колита. Колит, вызванный уксусной кислотой, быстро разрешается и имеет только гистологические признаки острого воспаления, тогда как язвенный колит развивается и разрешается медленнее с гистологическими признаками острого и хронического воспаления (Fedorak et al., 1990; Sharon et al., 1985). Снижение массы тела и увеличение массы толстой кишки являются важными признаками острой стадии ВЗК у экспериментальных животных (Son et al., 1998; Wallace and Keenan, 1990). В нашем эксперименте Стилен значительно ослабил эти симптомы. Более того, Стилен, как и преднизолон и сульфасалазин, показал значительно улучшенные поражения толстой кишки, вероятно, за счет модуляции неспецифического воспаления.

Модель колита, индуцированного TNBS / этанолом, является более подходящей экспериментальной моделью 18D, чем колит, индуцированный уксусной кислотой. Воспаление слизистой, повреждение, вызванное разрушающим барьер этанолом, быстро проходит (Wallace et al., 1985), но за ним следует более хроническая фаза воспаления через реакцию гиперчувствительности замедленного типа на TNBS, действующую как гаптен (Hoshino et al., 1992; Morris et al., 1989). Эта модель имеет много общих гистологических особенностей болезни Крона; трансмуральный некроз, очаговая язва, очаговый базальный криптит и фиброз. Следовательно, эта модель больше подходит для болезни Крона, чем для язвенного колита. Поскольку TNBS-индуцированная модель колита сохраняет относительно длительные периоды (Morris et al., 1989), мы оценивали терапевтические эффекты на двух стадиях: острой (1 неделя) и хронической (3 недели) стадии. Лечение Стиленом (3 мг / кг) значительно улучшило состояние поражения толстой кишки ($p < 0,05$) как в острой, так и в хронической стадии. В этих двух моделях химически индуцированного колита Стилен в дозе 3 мг / кг показал сильную терапевтическую эффективность.

Эффекты Стилена, обнаруженные у трансгенных крыс HLA-827, были интересными, поскольку эта модель основана на экспрессии генов человека, которые, как известно, связаны с несколькими воспалительными заболеваниями человека (Elson et al., 1995; Hammer et al., 1990). Эта модель ВЗК обладает тремя основными преимуществами по сравнению с моделями химически индуцированного колита с использованием TNBS или уксусной кислоты. Во-первых, экзогенные агенты не действуют необходимо для индукции колита. Во-вторых, отнимающий много времени и утомительный характер выживания не требуется. В-третьих, воспаление является хроническим и прогрессирующим без спонтанного разрешения воспаления, что позволяет проводить длительные наблюдения. Но эта модель имеет основные недостатки, такие как отсутствие рецидивов или ремиссий и отсутствие острой нейтрофильной составляющей 18D человека. Различия в общей оценке колита между группами трансгенных крыс не выявлено. Это может быть связано с легкой формой колита. Однако микроскопические исследования колита у этих крыс выявили существенные различия между группами. Лечение Стиленом (3 мг / кг) в течение 6 недель заметно улучшило колит в этой модели, а эффективность Стилена несколько выше, чем преднизолона. Длительное использование преднизолона для лечения ВЗК довольно ограничено из-за его серьезных побочных эффектов. В этом отношении наши выводы о том, что длительное лечение Стилена показало хорошую терапевтическую эффективность без побочных эффектов.

Некоторые флавоноиды, такие как кверцетин и рутин, изучались на различных экспериментальных моделях ВЗК (Galvez, 1996; Sanchez et al., 1996). Сообщалось, что флавоноиды обладают рядом биохимических и фармакологических активностей, влияющих на функцию ферментных систем, критически участвующих в иммунном ответе (Миддлтон и др., 1993), и генерации воспалительных

процессов, а именно тирозиновых и серин-треониновых протеинкиназ, фосфолипазы. А, фосфолипаза С, липоксигеназа, циклооксигеназа и т. Д. (Feriola et al, 1989; Laughton et al, 1991; Lee et al, 1982; Welton et al, 1986). Флавоноиды были признаны антиоксидантами и агентами, удаляющими свободные радикалы (Bors et al, 1990; Nakayama et al, 1993). Но известно, что некоторые флавоноиды обладают также мутагенностью и цитотоксичностью (Das et al., 1994). В корейской народной медицине недавно было высказано предположение, что Artemisia эффективна при хронической диарее, а также в качестве возможного экомпонента эупатилина, производного флавоноида (Wu, 1985; Ahn et al., 1997). Стилен является производным эупатилина. В этом исследовании было обнаружено, что Стилен эффективен при лечении колита в трех экспериментальных моделях ВЗК на животных. Терапевтическая эффективность Стилена была сопоставима с преднизолоном и сульфасалазином или превосходила их.

Для лекарств со значительными побочными эффектами Стилен оказался безопасным производным флавоноидов (Cohen, 1996; Das et al., 1973; World et al., 1996). Основываясь на этих выводах, Стилен представляется отличным кандидатом в терапию ВЗК.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана исследовательским грантом Центра фармацевтических исследований Кёнги (KPRC).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ahn, B. O., Ryu, B. K., Ko, J. I., Oh, T. Y., Kim, S. H.,
2. Kim, W. B., Yang, J., Lee, E. B. and Hahm, K. B., Beneficial effect of DA-9601, an extract of Artemisiae Herba, on animal models of inflammatory bowel disease. Kor. }. Appl. Pharmacol., 5, 165-173 (1997).
3. Bors, W., Heller, W., Michel, C. and Saran, M., Flavonoids as antioxidants. Determination of radical-scavenging efficiencies. Methods Enzymol., 186, 343-355 (1990).
4. Calkins, B. M. and Mendeloff, A. I., The epidemiology of idiopathic inflammatory bowel disease, In Kirsner,
5. J. B. and Shorter, R. G. (Eds.). Inflammatory bowel disease. Williams & Wilkins, Maryland, pp. 31-68, 1995. Chang, D. K., Chin, Y. J., Jung, H. C., Song, I. S., Son,
6. M., Yoo, M. and Kim, C. Y., The effect of DA-6034, eupatilin derivatives of flavonoids, on the rats with trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis. Korean }. Med., 55, 302-309 (1998).
7. Cohen, Z., Therapy of inflammatory bowel disease: a surgeon's perspective. Can. }. Gastroenterol., 10, 43-47 (1996).
8. Das, A., Wang, J. H. and Lien, E. J., Carcinogenicity, mutagenicity and cancer preventing activities of flavonoids; a structure-system-activity relationship (SSAR) analysis. Prag. Drug Res., 42, 133-166 (1994).
9. Das, K. M., Eastwood, M. A., McManus, J. P. A. and
10. Sircus, W., Adverse reactions during salicylazosulphapyridine therapy and the relation with drug metabolism and acetylator phenotype. N. Engl. }. Med., 289, 481-495 (1973).
11. Elson, C. O., Sartor, R. B., Tennyson, G. S. and Riddle,
12. R. H., Experimental models of inflammatory bowel disease. Gastroenterol., 109, 934-940 (1995).
13. Fedorak, R. N., Empey, L. R., Macarthur, C. and Jewell, L. D., Misoprostol provides a colonic mucosa! protective effect during acetic acid-induced colitis in rats. Gastroenterol., 98, 615-625 (1990).
14. Feriola, P. C., Cody, V. and Middleton, E. Jr., Protein kinase C inhibition by plant flavonoids. Kinetic mechanisms and structure-activity relationships. Biochem. Pharmacol., 38, 1617-1624 (1989).

15. Galvez, J., Application of natural products in experimental models of intestinal inflammation in rats. *Meth. Find. Exp. Cf in. Pharmacol.*, 18 (Suppl. B.), 7-10 (1996).
16. Hammer, R. E., Maika, S. D., Richardson, J. A., Tang, J. P. and Taurog J. D., Spontaneous inflammatory disease in transgenic rat expressing HLA-B27 and human 2m: an animal model of HLA-B27 associated humai disorders. *Cell*, 63, 1099-1112 (1990).
17. Havsteen, B., Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.*, 32, 1141-1148 (1983).
18. Hoshino, H., Sugiyama, S., Ohara, A., Goto, H., Tsukamoto,
19. Y. and Ozawa, T., Mechanism and prevention of chronic colonic inflammation with trinitrobenzene sulfonic acid in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 19, 717-722 (1992).
20. Laughton, M. J., Evans, P. J., Moreney, M. A., Houlst, J.
21. R. and Halliwell, B., Inhibition of mammalian 5- lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and iron-reducing ability. *Biochem. Pharmacol.*, 42, 1673-1681 (1991).
22. Lee, T. P., Mattellano, M. and Middleton, E., Effect of quercetin on human polymorphonuclear leukocyte ly- sosomal enzyme release and phospholipid metabolism. *Lif e Sci.*, 31, 2767-2774 (1982).
23. MacPherson, B. and Pfeiffer, C. J., Experimental colitis.
24. *Digestion*, 14, 424-452 (1976). MacPherson, B. and Pfeiffer, C. J., Experimental production of diffuse colitis in rats. *Digestion*, 17, 135- 150 (1978).
25. Middleton, E. and Kandaswami, G., Plant flavonoid modulation of immune and inflammatory cell functions, In Klurfeld, D. M. (Eds.). *Human Nutrition-A compre- hensive treatise: Nutrition and Immunology*. Plenum Press, New York, pp. 239-266, 1993.
26. Morris, G. P., Beck, P. L., Herridge, M. S., Szewczuk, M., Depew, W. and Wallace, J. L., A haptent-induced model for chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Castroenterol.*, 96, 795-803 (1989).
27. Nakayama, T., Yamada, M., Osaka, T. and Kawakishi, S., Suppression of active oxygen-induced cytotoxicity by flavonoids. *Biochem. Pharmacol.*, 45, 265-267 (1993).
28. Sanchez, F., Galvez, J., Romero, J. A. and Zarzuela, A., Effect of quercetin on acute and chronic experimental colitis in the rat. *}. Pharmacol. Exp. Ther.*, 278, 771- 779 (1996).
29. Sharon, P. and Stenson, W. F., Metabolism of arachidonic acid in acetic acid colitis in rats. Similarity to human inflammatory disease. *Castroenterol.*, 88, 55-63 (1985).
30. Son, M., Ko, J. I., Kim, W. B., Kang, H. K. and Kim B. K.,
31. Protective effect of taurine on TNBS-induced inflam- matory bowel disease in rats. *Arch. Pharm. Res.*, 21, 531-536 (1998).
32. Wallace, J. L., Whittle, B. R. J. and Boughton-Smith, N. K., Prostaglandin protection of rat colonic mucosa from damage induced by ethanol. *Dig. Dis. Sci.*, 30, 866 (1985).
33. Wallace, J. L. and Keenan, C. M., An orally active inhibitor of leukotriene synthesis accelerates healing in a rat model of colitis. *Am. }. Physiol.*, 258, G527-G534 (1990).
34. Wallace, J. L., MacNaughton, W. K., Morris, G. P. and Beck, P. L., Inhibition of leukotriene synthesis markedly accelerates healing in a rat model of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol.*, 96, 29-36 (1989).
35. Welton, A. F., Hurley, J. and Will, P., ·Flavonoids and arachidonic acid metabolism, In Cody, V., Middleton Jr, E., Harborne, J. B. and Beretz, A. (Eds.). *Plant Flavonoids in Biology and M edicine:Biochemical, Cellular, and Medicinal Properties*. Alan R. Liss, Inc., New York, pp. 301-312, 1988.
36. World, M. J., Stevens, P. E., Ashton, M. A. and Rainsford, D. J., Mesalazine associated interstitial nephritis. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 11, 614-621 (1996).
37. Wu, C. M., The chemical constituents of *Artemisiae species(III)*. Isolation and identification of the lipophilic constituents from *Artemisiae argyi*. *Chung Yao Tung Pao*, 10(1), 31-32 (1985).

38. You, K. M., Jong, H. G. and Kim, H. P., Inhibition of cyclooxygenase/lipoxygenase from human plate- lets by polyhydroxylated/methoxylated flavonoids iso- lated from medicinal plants. Arch. Pharm. Res., 22, 18- 24 (1999).