

Рекомендована д. мед. наук, проф. О. М. Олещук
УДК 615.322:615.06:616-056.3
DOI 10.11603/2312-0967.2016.1.6057

ВИВЧЕННЯ СЕНСИБІЛІЗУВАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НОВИХ РОСЛИННИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

© О. В. Геруш¹, Л. В. Яковлева², С. В. Спиридонов², С. А. Гращенко²

ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет», Чернівці¹
Національний фармацевтичний університет, Харків²

Резюме: метою даної роботи стало вивчення можливої сенсibilізувальної дії капсул «Гепафісан», гранул «Полігербагастрин», «Гепатропін» та капсул «Фітовенол», які було розроблено як нові комбіновані рослинні гепатотропні засоби. Можливі сенсibilізувальні властивості досліджуваних засобів оцінювали за їх здатністю викликати реакції гіперчутливості негайного та повільного типів у тестах непрямой дегрануляції мастоцитів та кон'юнктивальної проби. На підставі отриманих даних можна стверджувати, що капсули «Гепафісан», гранули «Полігербагастрин», «Гепатропін» та капсули «Фітовенол» при внутрішньошлунковому введенні в умовнотерапевтичній та в десять разів збільшеній дозі не проявляють сенсibilізувальних властивостей на моделях кон'юнктивальної проби та непрямой дегрануляції мастоцитів. Таким чином, капсули «Гепафісан», гранули «Полігербагастрин», «Гепатропін» та капсули «Фітовенол» можна рекомендувати для виробництва нових рослинних лікарських засобів, які не проявляють алергенних властивостей.

Ключові слова: алергія, рослинні засоби, гепатопротектори, щури, мурчаки, сенсibilізація, гістамін.

Вступ. Проблема алергії сьогодні серед найважливіших у медицині, оскільки інтенсивність алергічних захворювань в останні десятиліття зростає і має тенденцію до подальшого зростання. Сучасні синтетичні антигістамінні препарати для лікування алергічних захворювань іноді проявляють алергізуючу дію на організм хворого [14]. Ця обставина зумовлює необхідність вивчення сенсibilізувальних властивостей усіх нових лікарських засобів, у тому числі рослинного походження.

Останнім часом видано багато монографій про лікарські рослини, їх застосування, проте більшість авторів докладно зупиняються лише на корисних властивостях рослин. Але віддаючи належне лікувальній силі природи, не применшуючи значення лікувальних препаратів рослинного походження, високо оцінюючи глибину і мудрість досвіду народної медицини, треба підкреслити, що фітотерапія, як і будь-який інший вид терапії, має не тільки свої позитивні характеристики, але і протипоказання [4, 6]. Це ще раз підкреслює важливість вивчення питання алергії і ролі рослинних алергенів у патогенезі цих захворювань. Вищенаведене свідчить про актуальність питання нешкідливості нових лікарських засобів, в тому числі і рослинного походження. Згідно з існуючими вимогами Державного експертного центру МОЗ України при доклінічному вивченні нових лікарських засобів, у тому числі рослинного походження, обов'язковим є визначення їх сенсibilізувальних властивостей [2].

Метою даної роботи стало вивчення можливої сенсibilізувальної дії нових рослинних засобів кап-

сул «Гепафісан», гранул «Полігербагастрин», «Гепатропін» та капсул «Фітовенол». Як об'єкти дослідження були використані окремі лікарські рослини та багатокomпонентні рослинні комбінації у вигляді гранул та капсул, які отримані в «Лабораторії «Ірис» та на кафедрі заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету (м. Харків, Україна).

Капсули «Гепафісан» містять нативний порошок лікарських рослин наступного складу (у розрахунку на одну капсулу): насіння розторопші – 0,075 г; коріння кульбаби лікарської 0,06 г; листя м'яти перцевої – 0,045 г; трави бобівника трилистого – 0,015 г; квіток нагідок лікарських – 0,03 г; трави реп'яшка звичайного – 0,045 г; трави рутки лікарської – 0,03 г.

Однодозовий пакет гранул «Полігербагастрин» містить нативний порошок суцвіть цмину піщаного – 0,1 г; стовпчиків з приймочками кукурудзи – 0,1 г; трави хвоща – 0,1 г; трави споришу – 0,1 г; насіння гіркокаштану звичайного – 0,02 г; коріння солодки – 0,08 г; висівок пшеничних – 3,0 г.

Однодозовий пакет гранул «Гепатропін» містить нативний порошок квіток нагідок лікарських – 0,1 г; коріння солодки – 0,1 г; коріння та кореневищ валеріани – 0,1 г; квіток ромашки – 0,04 г; насіння гіркокаштану звичайного – 0,02 г; листя кропиви – 0,1 г; плодів шипшини – 0,04 г; висівок пшеничних – 3,0 г.

Капсули «Фітовенол» містять нативний порошок лікарських рослин наступного складу (у розрахунку на одну капсулу): насіння гіркокаштану звичайного – 0,09 г; листя гамамелісу віргінського – 0,075 г; зерна

вівса посівного – 0,03 г; плодів софори японської – 0,03 г; трави золотушника звичайного – 0,03 г; трави гадючника в'язолистого – 0,03 г; трави буркуну лікарського – 0,015 г [8–14].

Методи дослідження. Можливі сенсibiliзувальні властивості досліджуваних засобів оцінювали за їх здатністю викликати реакції гіперчутливості негайного та повільного типів в тестах непрямой дегрануляції мастоцитів та кон'юнктивальної проби [2, 7].

Експерименти проводили на 2-х видах тварин: морських свинках (кон'юнктивальна проба) та білих безпородних щурах (реакція дегрануляції мастоцитів). Оскільки досліджувані засоби призначені для перорального застосування, їх вводили мурчакам та щурам внутрішньошлунково впродовж 14 діб.

Для виявлення здатності нових рослинних засобів викликати гіперчутливість негайного типу застосовували тестування *in vitro*: реакцію непрямой дегрануляції мастоцитів. Ця реакція є результатом взаємодії перитоніальних мастоцитів інтактних щурів із сироваткою крові сенсibiliзованої тварини і відповідним алергеном, що вивчається [2, 3]. При наявності сенсibiliзації в присутності специфічного алергену відбувається дегрануляція мастоцитів з виділенням гістаміну. Для постановки тесту непрямой дегрануляції мастоцитів використовували 72-х білих нелінійних щурів масою тіла (190±10) % г, сенсibiliзованих досліджуваними засобами в умовнотерапевтичних дозах [1], що були встановлені при вивченні фармакологічної активності у щурів для:

- капсул «Гепафісан» – 108 мг/кг;
- гранул «Полігербагастрин» – 900 мг/кг;
- гранул «Гепатропін» – 900 мг/кг;
- капсул «Фітовенол» – 150 мг/кг.

А також у дозах, які в 10 разів перевищували вказані вище. Для сенсibiliзації тварин дослідних груп застосовували водну суспензію гранул та вмісту капсул досліджуваних засобів. Контрольним тваринам вводили відповідний об'єм води. На 21-у добу всіх тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом, одержували сироватку для постановки тесту. Для досліджень *in vitro* застосовували суспензії досліджуваних засобів та їх дворазові розведення у фізіологічному розчині натрію хлориду в концентрації, яка у попередніх експериментах викликала не більше 10 % дегрануляції мастоцитів. Зразки готували на предметних скельцях, пофарбованих 0,3 % спиртовим розчином нейтрального червоного. До 0,03 мл суспензії мастоцитів, отриманих з перитоніального ексудату інтактних тварин, додавали 0,03 мл сироватки дослідної (сенсibiliзованої) або контрольної тварини і 0,03 мл розчину досліджуваного засобу. Потім зразки інкубували 15 хвилин при температурі 37 °С та досліджували під світловим мікроскопом. У кожній камері підраховували по 100 клітин. Оцінку результатів проводили, підраховуючи

відсоток дегранульованих мастоцитів. Реакцію вважали позитивною, якщо кількість дегранульованих клітин перевищувала 10 %. Ступінь сенсibiliзувальної дії досліджуваних засобів визначали за шкалою [7]: слабкопозитивна – від 10 до 20 % дегранульованих клітин; позитивна – від 20 до 30 % дегранульованих клітин; різко позитивна – від 30 % і більше дегранульованих клітин.

Тест «кон'юнктивальна проба» є відтворенням алергічної реакції повільного типу на слизовій кон'юнктиви і рогівки [2, 7]. Досліди проведено на 54-х мурчаках масою тіла (275±10) %, г. Сенсibiliзацію мурчаків здійснювали досліджуваними засобами в умовнотерапевтичних дозах для:

- капсул «Гепафісан» – 60 мг/кг;
- гранул «Полігербагастрин» – 654 мг/кг;
- гранул «Гепатропін» – 654 мг/кг;
- капсули «Фітовенол» – 109 мг/кг.

А також у дозах, які в 10 разів перевищують. Умовнотерапевтичні дози, що вказані вище, були встановлені при вивченні фармакологічної активності досліджуваних засобів на щурах. Дози для мурчаків перераховували за допомогою коефіцієнту видової стійкості Ю. Р. Риболовлева [5]. На 21-у добу після початку сенсibiliзації всім тваринам під верхнє праве повіко закапували 1 краплю розчину досліджуваного засобу у концентрації, яка у попередніх дослідженнях місцевоподразнювальної дії, проведених на кролях згідно з методичними рекомендаціями [2], не викликала подразнювальної дії на слизову оболонку ока (завершальна доза). Ліве око брали за контроль, аналогічно вводили 1 краплю води. Реакцію слизової оболонки реєстрували через 15 хвилин і 24 години після закапування завершальної дози та виражали в балах за такою шкалою: 1 – легке почервоніння сльозового протоку; 2 – почервоніння сльозового протоку та склери в напрямку до рогівки; 3 – почервоніння всієї кон'юнктиви та склери.

Результати й обговорення. Введення щурам капсул «Гепафісан», гранул «Полігербагастрин», «Гепатропін» та капсул «Фітовенол» впродовж 14 днів не змінювало загального стану тварин.

Тестування показало, що кількість дегранульованих мастоцитів у сироватці сенсibiliзованих впродовж 14-ти днів щурів, на 21 добу відповідала кількості дегранульованих мастоцитів у щурів контрольної групи (табл. 1). Капсули «Гепафісан», гранули «Полігербагастрин», «Гепатропін» та капсули «Фітовенол» не викликають збільшення рівня в крові дегранульованих мастоцитів і, отже, не проявляють сенсibiliзувальної дії. Аналіз отриманих результатів свідчить про відсутність сенсibiliзувальних властивостей в тесті *in vitro* у досліджуваних рослинних засобів.

Введення мурчакам капсул «Гепафісан», гранул «Полігербагастрин», «Гепатропін» та капсул

Таблиця 1. Вплив капсул «Гепафісан», гранул «Полігербагастрин», «Гепатропін» та капсул «Фітовенол» на дегрануляцію мастоцитів у щурів, $x \pm Sx$ (n=8)

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Шлях сенсibiliзації	Кількість дегранульованих мастоцитів, %
Контроль		–	6,11±0,75
Капсули «Гепафісан»	108	внутрішньо-шлунковий	5,50±0,56
	1080		6,00±0,89
Гранули «Полігербагастрин»	900		5,63±0,56
	9000		6,13±0,65
Гранули «Гепатропін»	900		5,75±0,57
	9000		6,25± 0,58
Капсули «Фітовенол»	150		6,75±0,84
	1500		5,13±0,74

Примітка: n – кількість тварин у групі.

«Фітовенол» впродовж 14 днів не змінювало загального стану тварин. Проведене на 21 добу тестування показало відсутність проявів будь-якої алергічної реакції у відповідь на закапування в око мурчаків завершальної дози досліджуваних засобів. У всіх дослідних тварин не спостерігали алергічної запальної реакції слизової оболонки

ока. Результати експерименту представлено в таблиці 2.

Таким чином, отримані результати показали, що капсули «Гепафісан», гранули «Полігербагастрин», «Гепатропін» та капсули «Фітовенол» у застосованих дозах не проявляють сенсibiliзуючої дії в тесті «кон'юнктивальна проба».

Таблиця 2. Вивчення сенсibiliзуючих властивостей капсул «Гепафісан», гранул «Полігербагастрин», «Гепатропін» та капсул «Фітовенол» у тесті «кон'юнктивальна проба» у мурчаків (n=6)

Умови досліджу		Доза, мг/кг	Офтальморекція, бали	
			15 хв	24 год
Контроль	Контрольне око	–	0 (0-0)	0 (0-0)
	Дослідне око		0 (0-0)	0 (0-0)
Капсули «Гепафісан»	Контрольне око	60	0 (0-0)	0 (0-0)
	Дослідне око	60	0 (0-0)	0 (0-0)
	Контрольне око	600	0 (0-0)	0 (0-0)
	Дослідне око	600	0 (0-0)	0 (0-0)
Гранули «Полігербагастрин»	Контрольне око	654	0 (0-0)	0 (0-0)
	Дослідне око	654	0 (0-0)	0 (0-0)
	Контрольне око	6540	0 (0-0)	0 (0-0)
	Дослідне око	6540	0 (0-0)	0 (0-0)
Гранули «Гепатропін»	Контрольне око	654	0 (0-0)	0 (0-0)
	Дослідне око	654	0 (0-0)	0 (0-0)
	Контрольне око	6540	0 (0-0)	0 (0-0)
	Дослідне око	6540	0 (0-0)	0 (0-0)
Капсули «Фітовенол»	Контрольне око	109	0 (0-0)	0 (0-0)
	Дослідне око	109	0 (0-0)	0 (0-0)
	Контрольне око	1090	0 (0-0)	0 (0-0)
	Дослідне око	1090	0 (0-0)	0 (0-0)

Примітка: n – кількість тварин у групі.

Висновки. На підставі вищенаведених даних можна стверджувати, що капсули «Гепафисан», гранули «Полигербагастрин», «Гепатропін» та капсули «Фитовенол» при внутрішньошлунковому введенні в умовнотерапевтичних та десятикратно збільшених дозах

не проявляють сенсibiliзувальних властивостей на моделях кон'юнктивальної проби та непрямой дегрануляції мастоцитів. Таким чином, нові рослинні лікарські засоби можна рекомендувати для виробництва, як такі, що не проявляють алергенних властивостей.

Список літератури

1. Геруш О. В. Скринінгове фармакологічне дослідження капсул «Гепафисан», гранул «Полигербагастрин», «Гепатропін», капсул «Фитовенол» з метою вибору ефективної дози / О. В. Геруш // 96-а підсумк. наук. конф. проф.-викладацького персоналу Бук. держ. мед. університету, 16, 18, 23 лютого 2015 р. : матер. конф. – Чернівці, 2015. – С. 264–265.
2. Доклінічне вивчення сенсibiliзуючої дії лікарських засобів : метод. рекоменд. / за ред. О. В. Стефанова. – К, 2002. – 27 с.
3. Ишимова Л. М. Тучные клетки соединительной ткани и базофилов крови в диагностике аллергии немедленного типа / Л. М. Ишимова // В сб. «Проблемы иммунологической реактивности и аллергии». – М. : Медицина, 1971. – С. 186.
4. Попович В. П. Дослідження асортименту гепатопротекторів на фармацевтичному ринку України / В. П. Попович // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 1 (20). – С. 75–81.
5. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – № 6. – С. 1513–1516.
6. Сапронова Н. Н. Гепатопротекторы: средства растительного происхождения / Н. Н. Сапронова // Новая аптека. – 2008. – № 8. – С. 60–66.
7. Трубицкая Г. П. Кон'юнктивальная проба в эксперименте на морских свинках / Г. П. Трубицкая // Актуальные вопросы аллергологии и иммунологии. – Ташкент, 1978. – С. 79–83.
8. Agarwal S. S. Development of hepatoprotective formulations from plant sources. In: Pharmacology and Therapeutics in the New Millennium; edited by S.K.Gupta. – New Delhi: Narosa Publishing House, 2001. – P. 357–358.
9. Ali B. H. Effect of the traditional medicinal plants *Rhazya stricta*, *Balanitis aegyptiaca* and *Haplophylum tuberculatum* on paracetamol induced hepatotoxicity in mice / B. H. Ali, A. K. Bashir, R. A. Rasheed // *Phytother. Res.* – 2001. – Vol.15 (7). – P. 598–603.
10. Bean P. The use of alternative medicine in the treatment of hepatitis C / P. Bean // *Am. Clin. Lab.* – 2002. – Vol. 21 (4). – P. 19–21.
11. *British herbal compendium.* – London: Peter Bradley, 2006. – 409 p.
12. Dhiman R. K. Herbal medicines for liver diseases / R. K. Dhiman, Y. K. Chawla // *Dig. Dis. Sci.* – 2005. – Vol. 50(10). – P.1807–1812.
13. Hydroalcoholic plant extracts with anti-inflammatory activity / A. Herold, L. Cremer, A. Clugaru [et al.] // *Roum. Arch. Microbiol. Immunol.* – 2003. – Vol. 62 (1–2). – P. 117–129.
14. Shakouri A. A. Hypersensitivity to antihistamines / A. A. Shakouri, S. L. Bahna // *Allergy Asthma Proc.* – 2013. – Vol. 34, Iss. 6. – P. 488–496.

ИЗУЧЕНИЕ СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ НОВЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

О. В. Геруш¹, Л. В. Яковлева², С. В. Спиридонов², С. А. Гращенкова²

*ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет», Черновцы¹
Национальный фармацевтический университет, Харьков²*

Резюме: целью данной работы стало изучение возможного сенсibiliзирующего действия капсул «Гепафисан», гранул «Полигербагастрин», «Гепатропін» и капсул «Фитовенол», разработанных в качестве гепатопротекторов. Возможные сенсibiliзирующие свойства исследуемых средств оценивали по их способности вызывать реакции гиперчувствительности немедленного и замедленного типов в тестах непрямой дегрануляции тучных клеток и кон'юнктивальной пробы. На основании полученных данных можно утверждать, что капсулы «Гепафисан», гранулы «Полигербагастрин», «Гепатропін» и капсулы «Фитовенол» при внутривентриальном введении в условнотерапевтической и десятикратно увеличенной дозе не проявляют сенсibiliзирующих свойств на моделях кон'юнктивальной пробы и косвенной дегрануляции тучных клеток. Таким образом, капсулы «Гепафисан», гранулы «Полигербагастрин», «Гепатропін» и капсулы «Фитовенол» можно рекомендовать для производства как новые растительные лекарственные средства, не проявляющие алергенных свойств.

Ключевые слова: аллергия, растительные средства, гепатопротекторы, крысы, морские свинки, сенсibiliзация, гистамин.

EXAMINATION OF SENSITIZING PROPERTIES OF NEW HERBAL MEDICINES

O. V. Herush¹, L. V. Yakovlieva², S. V. Spirydonov², S. A. Hrashchenkova²

*Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovynian State Medical University», Chernivtsi¹
National University of Pharmacy, Kharkiv²*

Summary: the objective of the work was examination of possible sensitizing action of the capsules «Hepafisan», granules «Polyherbagastrin», «Hepatropin» and the capsules «Phytovenol» designed as hepatoprotectors. Possible sensitizing properties of the examined medicines were estimated by their ability to provoke hypersensitive response of an immediate and delayed types in the tests of indirect degranulation of the mast cells and conjunctival test. The data obtained are indicative of suggestion that the capsules «Hepafisan», granules «Polyherbagastrin», «Hepatropin» and the capsules «Phytovenol» in case of endogastric administration in relatively therapeutic and tenfold increased dose do not manifest sensitizing properties on the pattern of conjunctival test and indirect degranulation of the mast cells. Therefore, the capsules «Hepafisan», granules «Polyherbagastrin», «Hepatropin» and the capsules «Phytovenol» can be recommended for manufacture as new herbal medicines without allergic properties.

Key words: allergy, herbal medicines, hepatoprotectors, rats, guinea pigs, sensitization, histamine.

Отримано 02.02.2016