

Л.В. Яковлева, Н.Я. Музика, С.О. Мачуліна

## ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ ВИДІВ СПЕЦИФІЧНОЇ ТОКСИЧНОСТІ НОВОГО ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОГО ЗАСОБУ - СУПОЗИТОРІЇВ "АЛЬТАБОР"

Національний фармацевтичний університет  
Центральна науково-дослідна лабораторія

**Ключевые слова:** специфічна токсичність, алергізувальна дія, імунотоксичні властивості, супозиторії "Альтабор"

Проведено дослідження специфічної токсичності нового простатопротекторного засобу - супозиторіїв "Альтабор". Встановлено відсутність алергізувальних та імунотоксичних властивостей у досліджуваного препарату.

Значне підвищення інтересу до застосування рослинних лікарських засобів зумовлено широким спектром їх фармакологічної активності, практичною відсутністю звикання та побічних реакцій порівняно з синтетичними препаратами, а також їх добрим поєднанням з харчовими продуктами і синтетичними медикаментозними засобами та низькою вартістю [9,10]. Таким чином, одним із найбільш перспективних напрямків фармацевтичної і фармакологічної науки є пошук та вивчення нових видів лікарських рослин, а також створення на їх основі нових лікарських засобів.

Об'єктом наших досліджень є новий простатопротекторний засіб – супозиторії "Альтабор", які створені на основі субстанції альтабору, що розроблена на ЗАТ НВЦ "Борщагівський ХФЗ" із шишок вільхи клейкої (*Alnus glutinosa* L.) і вільхи сірої (*Alnus cinerea* L.) родини Березові (*Betulaceae*). У попередніх дослідженнях було встановлено, що супозиторії "Альтабор" виявляють такі види фармакологічної дії, як антиоксидантна, протизапальна, анальгетична, а також мають виражений терапевтичний ефект щодо порушень у передміхуровій залозі на різних експериментальних моделях.

Відомо, що різноманітні фармакотерапевтичні ефекти фітопрепаратів виявляються завдяки їх біологічно активним речовинам [9, 10]. Зокрема, субстанція альтабору містить олігомерні елаготаніни на основі глюкози, елагової і валонієвої кислот (60 -70%), меланінові водорозчинні пігменти (10-15%), вуглеводи, водорозчинні полісахариди (5-7%), вільні амінокислоти, фенолокислоти та інші речовини, що обумовлюють її фармакологічну активність [9,10].

Певна хімічна структура кожної лікарської речовини забезпечує її взаємодію з тим чи іншим типом рецепторів в органах і тканинах, при цьому, поряд з основними (терапевтичними) ефектами, може обумовлювати розвиток небажаних явищ [4]. Слід також зазначити, що побічна дія може бути пов'язана із особливостями реакції організму на лікарський засіб [4].

Таким чином, при доклінічному дослідженні нових лікарських засобів, в тому числі і рослинних пре-

паратів, обов'язковою вимогою ДФЦ МОЗ України є дослідження різних видів їх можливої токсичності.

**Мета роботи** – дослідження алергізувальної (антигенної) та імунотоксичної дії нового рослинного лікарського засобу – супозиторіїв "Альтабор", призначених для лікування простатитів.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивчення можливої алергізувальної дії супозиторіїв "Альтабор" включало дослідження таких алергічних реакцій як активна шкірна анафілаксія [1], реакція непрямої дегрануляції гладких клітин [3] та кон'юнктивальна проба [5]. Сенсibiliзацію тварин проводили при ректальному введенні супозиторіїв "Альтабор" в умовнотерапевтичній дозі - 50 мг/кг (за діючою речовиною), протягом 14-ти днів.

Модель активної шкірної анафілаксії є реакцією негайного типу і дозволяє виявити можливу сенсibiliзуючу дію в умовах *in vivo* [1]. Експеримент проводили на мурчаках масою 450-500 г. На 21-у добу після початку сенсibiliзації дослідним і контрольним тваринам на вистрижені ділянки шкіри спини вводили внутрішньошкірно 40 мкл суспензії альтабору в концентрації, яка не викликає неспецифічної запальної реакції. Для контролю розчинника на ділянці протилежного боку тварини внутрішньошкірно вводили 40 мкл фізіологічного розчину. Потім внутрішньовенно - 0,5 мл 1% розчину синього Еванса. Через 30 хвилин тварин знеживлювали передозуванням ефірного наркозу, відсепарували ділянки шкіри і визначали площу синіх плям у місці введення препарату. Показником місцевої анафілактичної реакції на моделі активної шкірної анафілаксії є діаметр зафарбованої плями в місці внутрішньошкірної ін'єкції антигену. Чим більша площа плями, тим більш виразна реакція [1].

Наступним етапом стало вивчення сенсibiliзуювальних властивостей супозиторіїв "Альтабор" в реакції дегрануляції гладких клітин (ДГК). Тест ДГК дозволяє визначити здатність досліджуваного препарату викликати в організмі накопичення гомоцитотропних антитіл [3].

В експерименті використовували щурів масою 150-200 г. На 21-у добу після початку сенсibiliзації супо-



зиторіями "Альтабор", тварин виводили з експерименту методом декапітації під ефірним наркозом, одержували сироватку для постановки реакції. У попередніх експериментах підбирали концентрацію розчину альтабору, яка викликає не більше за 5% неспецифічної дегрануляції. Препарати готували на предметному склі, які попередньо фарбували 0,3% спиртовим розчином нейтрального червоного. До 30 мкл суспензії гладких клітин, отриманих від інтактних тварин, додавали 30 мкл сироватки дослідної або контрольної тварини і 30 мкл суспензії досліджуваного препарату. При постановці реакції з метою виключення спонтанної дегрануляції гладких клітин і дегрануляції під впливом розчинника враховували наступні контролю:

1) контроль сироватки: 30 мкл суспензії гладких клітин, 30 мкл досліджуваних сироваток, 30 мкл фізіологічного розчину;

2) контроль алергену: 30 мкл суспензії гладких клітин, 30 мкл фізіологічного розчину і 30 мкл алергену.

Після 15-хвилинної інкубації при 370С препарати вивчали під мікроскопом і підраховували показник дегрануляції гладких клітин (ПДГК) за формулою:

$$\text{ПДГК} = \frac{1a+2b+3c+3d}{100}, \text{ де}$$

а, б, в, г – кількість (середнє з трьох повторень) дегранульованих клітин відповідно до ступеня дегрануляції.

У кожній камері підраховували 100 клітин. Реакцію вважали позитивною, якщо ПДГК перевищував 0,2 [3].

Дослідження алергізувальної дії супозиторіїв "Альтабор" проведено також на моделі "кон'юнктивальна проба", оскільки вона є відтворенням алергічної реакції на слизовій кон'юнктиви і роговиці [5]. Для постановки даної моделі використовували мурчаків масою 450-510 г, яким на 21-й день після початку сенсibiliзації проводили закапування 1-ї краплі розв'язувальної дози препарату під верхню повіку і враховували реакцію слизової оболонки через 15 хвилин, 1 годину і через 24 години. Друге око служило контролем на дистильовану воду [5].

Оцінку результатів кон'юнктивального тесту виражали в балах:

- 1 – легке почервоніння слізної протоки;
- 2 – почервоніння слізної протоки і склери в напрямку до роговиці;
- 3 – почервоніння всієї кон'юнктиви і склери.

Імунотоксичну дію супозиторіїв "Альтабор" оцінювали за його здатністю впливати на клітинні системи, які забезпечують реалізацію імунних реакцій за Т- і В-типами. Експерименти проводили на нелінійних мишах масою 18-20 г. Імунізацію тварин здійснювали

шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення 0,5 мл 1% суспензії еритроцитів барана 108. Досліджуваний препарат вводили ректально в умовнотерапевтичній дозі 50 мг/кг, протягом 9-ти днів до імунізації і 5 днів після імунізації (14 днів).

Вивчення впливу препарату на клітинну ланку імунітету проведено в реакції гіперчутливості повільного типу (ГПТ) за методом К.Р. Kitamura [8]. Для виявлення імунізації мишам на 5-у добу, як розв'язувальну дозу, вводили суспензію еритроцитів барана 108 у 0,5 мл фізіологічного розчину під апоневротичну пластинку однієї з нижніх кінцівок. У контрлатеральну лапу вводили фізіологічний розчин у тому же об'ємі і через 24 години оцінювали виразність місцевої реакції за співвідношенням величини набряку стоп дослідної і контрольної лап шляхом виміру маси стоп задніх кінцівок. Контрольною групою були інтактні тварини. Індекс реакції розраховували за формулою [1,7]:

$$\text{ІР} = \frac{\text{Мд. лапи} - \text{Мк. лапи}}{\text{Мк. лапи}} \cdot 100\%, \text{ де}$$

ІР – індекс реакції;

Мд. лапи – середня маса лапи у дослідній групі;

Мк. лапи – середня маса лапи у контрольній групі.

Вплив препарату на гуморальну імунну відповідь оцінювали за кількістю антитілоутворюючих клітин селезінки (АУК) і за титром антитіл у сироватці крові мишей, імунізованих еритроцитами барана.

Визначення кількості антитілопродукентів селезінки проводили за допомогою методу локального гемолізу в гелі [1,7]. За числом макроскопічно видимих зон гемолізу навколо антитілоутворювальних клітин (АУК) підраховували кількість продукентів антитіл на лімфоїдний орган.

Титри гемаглютининів (ГА) у сироватці крові імунізованих тварин визначали на 5-у добу після імунізації методом серійних розведень у полістиролових планшетах [2]. Схема імунізації мишей і умови введення досліджуваного препарату аналогічні при визначенні числа АУК.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На моделі активної шкірної анафілаксії супозиторіїв "Альтабор" в дозі 50 мг/кг не проявляють анафілактогенної дії, оскільки результати експерименту наведені в таблиці 1 свідчать про те, що при введенні антигену дослідним тваринам площа пофарбованої плями в місці ін'єкції антигену залишалась на рівні показника в групі інтактного контролю.

У тесті дегрануляції гладких клітин супозиторіїв "Альтабор" не проявляють здатності викликати появу гомоцитотропних антитіл (табл.1), оскільки ПДГК в групі інтактних тварин та тварин, яким вводили досліджуваний препарат, не перевищував 0,2. Отже, супозиторіїв "Альтабор" не проявляють сенсibiliзувальної активності у тесті "реакція дегрануляції гладких клітин".

Результаты вивчення алергізувальної активності супозиторіїв "Альтабор"

Дослідна група	Модель активної шкірної анафілаксії		Реакція дегрануляції гладких клітин	
	n	Площа плями, мм <sup>2</sup>	n	ПДГК
Інтактний контроль	5	14,16±1,64	6	0,08±0,01
Супозиторії "Альтабор"	5	14,64±1,40	6	0,11±0,01

n - кількість тварин у групі

Таблица 2

Результаты дослідження впливу супозиторіїв "Альтабор" на клітинну ланку імунітету

Дослідна група	Реакція гіперчутливості повільного типу	
	n	Індекс реакції
Інтактний контроль	10	7,89±1,26
Супозиторії "Альтабор"	10	6,65±1,13

n - кількість тварин у групі

Таблица 3

Результаты дослідження впливу супозиторіїв "Альтабор" на гуморальну імунну відповідь

Дослідна група	n	Кількість АУК на селезінку	n	Титри ГА
Інтактний контроль	10	6232,0±708,0	10	6,20±0,80
Альтабор	9	6000,0±854,0	9	6,78±1,02

n - кількість тварин у групі

Внаслідок проведення реакції кон'юнктивальної проби були відсутні видимі ознаки алергічної запальної реакції на слизовій оболонці ока, що вказує на відсутність сенсibiliзувальної дії досліджуваного препарату.

Індекс реакції (ІР) ГПТ в групі тварин, яким вводили супозиторії "Альтабор" в умовнотерапевтичній дозі 50 мг/кг вірогідно не відрізняється від показника в групі тварин інтактного контролю (табл. 2). Таким чином, проведено дослідження показало, що супозиторії "Альтабор" не чинять суттєвого впливу на клітинну ланку імунітету.

Кількість АУК у селезінці мишей при ректальному введенні супозиторіїв "Альтабор" у дозі 50 мг/кг залишається на рівні інтактного контролю. Супозиторії "Альтабор" у вивченій дозі не змінюють рівень циркулюючих антитіл у сироватці крові експериментальних тварин вірогідно до інтактного контролю. Отримані дані свідчать про те, що досліджуваний препарат не чинить токсичної дії на гуморальну ланку імунітету.

#### ВИСНОВКИ

1. Супозиторії "Альтабор" у дозі 50 мг/кг при ректальному введенні не виявляють антигенних властивостей.

2. Результати проведеного дослідження з оцінки

імунотоксичних властивостей супозиторіїв "Альтабор" показали, що при ректальному введенні дослідний препарат не впливає ні на клітинну, ні на гуморальну ланку імунітету.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. // За ред. О.В. Стефанова. - Київ. - 2001. - 528 с.
2. Зигль Э. Реакция гемагглютинации // Иммунологические методы. - М.: Мир, 1987. - С. 348-353.
3. Ишимова О.Г. Гладкі клітини сполучної тканини і базофіли крові в діагностиці алергії негайного типу // Проблеми імунологічної реактивності й алергії. - М.: Медицина, 1971. - С. 186.
4. Побочные действия лекарственных средств / [И. Нир, Е.Л. Эдельштейн, А. Амдисен и др]; Под ред. М.Н. Дюкса; Перевод с англ. Астаховой и др.; Под ред. Э.А. Бабаяна. - М., 1983. - 560 с.
5. Трубицкая Г.П. Кон'юнктивальна проба в експерименте на морських свинках. // Актуальные вопросы аллергологии и иммунологии. - Ташкент, 1978. - С. 79-83.
6. Brubn J.G. The use of natural products in modern medicines // Acta Pharm. Nord. - 1989. - V.1, №3. - P.117-130.



7. Ierne K.N., Nordin A.A. Plaque formation by single antibody - producing cells // Science. - 1963. - V.140. - P.405-406.
8. Kitamura K. A foodpad weigh assay method to evaluate delayed-tire hypersensitivity in the mouse // J. Immunol. Methods. - 1980. - V.39. - P.277-283.
9. Valnet J. Phytoterapie: traitement de maladies par les plantes. - Paris: Maloine, 1983. - 942 p.
10. Weiss R.F. Lehrbuch der Phytoterapie. - Stuttgart: Hippocrates Verlag, 1985. - 442 s.

Надійшла 15.04.2008р.

Л.В. Яковлева, Н.Я. Музыка, С.О. Мачуліна

**Исследование некоторых видов специфической токсичности нового простатопротекторного средства - супозитория "Альтабор"**

Проведено исследование специфической токсичности нового простатопротекторного средства - супозитория "Альтабор". Установлено отсутствие алергизирующих и иммунотоксических свойств у исследуемого препарата.

**Ключевые слова:** специфическая токсичность, алергизирующее действие, иммунотоксические свойства, супозитории "Альтабор"

L.V. Jakovleva, N.J. Muzyka, S.A. Machulina

**The research of some kinds of specific toxicity of the new prostatoprotective remedy**

The investigation of some kinds of specific toxicity of the new prostatoprotective remedy the suppository "Altabor" was conducted. It was determined the lack of allergic and immunotoxic characteristics of the preparation "Altabor" .

**Key words:** specific toxicity; allergic action immunotoxic characteristics of the suppository "Altabor"

**Відомості про авторів:**

**Яковлева Лариса Василівна**, д.фарм.н., професор, зав. кафедри фармакоелекономіки, зав. ЗНДЛ НФаУ;

**Музыка Наталія Ярославна**, асистент кафедри фармації Буковинського державного медичного університету;

**Мачуліна Світлана Олександрівна**, м.н.с. ЗНДЛ НФаУ.

**Адреса для листування:**

Яковлева Лариса Василівна, 61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12 ЦНДЛ НФаУ. Тел./факс: 714-27-15