

УДК 619:578

М. І. МАРЧЕНКО, аспірант*

Інститут ветеринарної медицини НААН,

МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ЕКСТРАКТУ АЛОЕ ВЕРА ДЛЯ ЗНИЖЕННЯ ІНФЕКЦІЙНОЇ АКТИВНОСТІ ВІРУСІВ ТВАРИН

У статті наводиться теоретичне обґрунтування застосування у ветеринарній медицині екстракту (пропіленгліколевого) Алое Вера для зниження інфекційної активності вірусів тварин. Започатковані дослідження із застосування рослинних екстрактів для використання у противірусній стратегії. Проведені початкові етапи доклінічних випробувань в системі in vitro показали перспективність подальших досліджень.

Ключові слова: екстракт (пропіленгліколевий) Алое Вера (Aloe Vera Extract), віруси, цитотоксичність, культури клітин тварин.

Сучасні підходи до терапії вірусних захворювань охоплюють цілий арсенал хіміотерапевтичних засобів, як синтезованих хімічно, так і засобів, отриманих з рослинної сировини. Проблема застосування цих засобів полягає в тому, що існуючий арсенал препаратів ефективний лише проти доволі невеликого спектру збудників вірусних інфекцій, можуть викликати тяжкі побічні ефекти та індукувати виникнення вірусних мутантів, резистентних до дії цих препаратів [1].

З давніх часів лікарська сировина рослинного походження широко використовувалась для лікування інфекцій. Так, застосовують екстракти, що містять в своєму складі антарквінони, зокрема листя Алое Вера (*Aloe Vera*). Вони проявляють різноманітну фармакологічну дію, наприклад, протимікробну, протизапальну, протипухлинну [2].

Так, в медицині сировина отримана з листя Алое Вера використовувалась протягом багатьох тисячоліть в різних культурах Єгипту, Греції, Риму, Китаю та Індії.

За хімічним складом листя алое деревовидного містить алое-емодин (1,66 %). Сік містить антраглікозиди і смолисті маловивчені речовини. Сік зі свіжого листя багатий ферментами і вітамінами [3].

Все це нашогує на пошуки нових антивірусних речовин. Особливу зацікавленість представляють речовини рослинного походження, зокрема представлені в Алое Вера. Одним з його компонентів Алое Вера є антархінон - емодин, який володіє противірусною активністю щодо ряду вірусів, таких як цитомегаловірус людини, герпесвірус першого типу, поліовірус [4,5].

Метою роботи був аналіз можливості застосування сировини рослинного походження для зниження інфекційної активності вірусів.

Матеріали та методи

Цитотоксичну дію досліджуваного екстракту оцінювали в системі in vitro у перещеплюваних культурах клітин тварин мікрометодом у 96-лункових культуральних планшетах відповідно до «Руководства по експериментальному

* – науковий керівник, д.в.н. Клестова З.С.

(доклинічному) изучению новых фармакологических веществ» (Москва, 2005), «Методическим рекомендациям по первичному изучению антивирусных свойств синтетических и природных соединений» (Минск, 1986) і ін. Тестована хімічна речовина: екстракт (пропіленгліколевий) Алое Вера (*Aloes extractum*) деревовидного. Використано лінію перещеплених культур клітин тварин: ВНК-21 (культура клітин нирки новонародженого сирійського хом'яка).

Культивування клітин проводили на поживному середовищі ДМЕ з додаванням 5-7 % сироватки крові ВРХ. Всі культури клітин були тестовані на відсутність контамінації мікроорганізмами у тіюгліколевому середовищі та МПБ. Моношар клітин вирощували у скляних та пластикових культуральних флаконах об'ємом 50 см³ та у 96-лункових культуральних планшетах.

Тест-модельними системами були обрані ДНК та РНК -вміщуючі віруси – вірус хвороби Ауескі (штам "Арсський") та вірус трансмісивного гастроентериту свиней (штам "Чугуєв").

Статистичні методи: Обробку отриманих даних здійснювали з використанням комп'ютерної техніки в Microsoft Excel. При цьому визначали середнє арифметичне (M), статистичну помилку середнього арифметичного (m), середнє квадратичне відхилення (δ), показник різниці між середнім арифметичним двох варіаційних рядів за критерієм вірогідності (td) і таблицею Ст'юдента. Різницю між двома величинами вважали вірогідною при P<0,05; P<0,01; P<0,001.

Визначили розчинність та параметри стерилізації екстракту (пропіленгліколевого) алое Вера деревовидного.

Для проведення дослідів був використаний готовий пропіленгліколевий екстракт. Для визначення максимально допустимої концентрації (МДК) в культурах клітин екстракт був розведений у різних концентраціях: 16, 25, 32,5 65, 125, 250, 500, 1000 мкл/см³.

Результати досліджень

При тестуванні екстракту було досліджено його цитотоксичну властивість, а саме визначено максимально допустиму концентрацію для клітин культури ВНК-21 (дані наведені в таблиці 1).

Таблиця 1

Визначення МДК пропіленгліколевого екстракту Алое Вера деревовидного, пропіленгліколевого в культурі клітин ВНК-21 (n=4)

№ п/п	Назва тестованої речовини	Тестовані концентрації, мкл/см ³						МДК для КК ВНК-21, мкг/см ³
		1000	500	250	125	65,0	32,5	
1	Екстракт алое вера, пропіленгліколевий	+	+	+	+	-	-	65

Примітка "+" - наявність цитопатичної дії в моношарі культури клітин
 "-" відсутність цитопатичної дії в моношарі культури клітин

Антивірусну дію визначали, оцінюючи зниження цитопатичного ефекту та титру вірусу обраних модельних об'єктів (вірусу хвороби Ауескі та трансмісивного

гастроентериту свиней). Для цього на сформований моношар клітин вносили підтримуюче середовище ДМЕМ, попередньо оброблене досліджуваним екстрактом та додавали вірус (експозиція 1 година). Після чого клітини інкубували при 37 °С в атмосфері 5 % CO₂. Стан клітин контролювали кожні 24 години, виявляли наявність цитопатичної дії під світловим мікроскопом. Через 96 годин було встановлено, що титр інфекційної активності вірусу хвороби Ауескі становив $5,3 \pm 0,03 \text{ lg ТЦД/см}^3$, в той час, як з пропіленгліколевим екстрактом алое вера деревовидним, титр інфекційної активності вірусу становив $4,0 \pm 0,01 \text{ lg ТЦД/см}^3$.

У наступній серії дослідів використано вірус трансмісивного гастроентериту свиней, антивірусну активність екстракту оцінювали тим самим методом, але використавши, інший вірус. На 96-годину було встановлено зниження інфекційної активності вірусу трансмісивного гастроентериту свиней на $1,2 \text{ lg ТЦД/см}^3$, в контролі титр вірусу становив $6,0 \pm 0,03 \text{ lg ТЦД/см}^3$, в той час як в досліді він складав $4,8 \pm 0,01 \text{ lg ТЦД/см}^3$ (таблиця 2,3).

Таблиця 2

Дослідження антивірусної активності екстракту (пропіленгліколевого) алое вера (*Aloes Vera Extractum*) щодо вірусу трансмісивного гастроентериту свиней в системі *in vitro*, n=5

Назва дослідної речовини	Максимально допустима концентрація в культурі клітин, ВНК-21 Мкл/см ³ , M±m	Титр інфекційної активності вірусу трансмісивного гастроентериту, lg ТЦД /см ³ M±m	Титр інфекційної активності вірусу трансмісивного гастроентериту при взаємодії з дослідною речовиною, lg ТЦД/см ³ M±m
Екстракт (пропіленгліколевий) алое Вера <i>Aloes Vera Extractum</i>	65±1,95	6,0±0,03	4,8±0,01

Таблиця 3

Дослідження антивірусної активності екстракту (пропіленгліколевого) Алое Вера (*Aloes Vera Extractum*) щодо вірусу хвороби Ауескі в системі *in vitro*, n=5 (кожна концентрація тестувалась в 10 лунках)

Назва дослідної речовини	Максимально допустима концентрація в культурі клітин, Мкл/см ³ , M±m	Титр інфекційної активності вірусу хвороби Ауескі, lg ТЦД /см ³ M±m	Титр інфекційної активності хвороби Ауескі при взаємодії з дослідною речовиною, lg ТЦД /см ³ M±m
Екстракт (пропіленгліколевий) алое Вера <i>Aloes extractum</i>	65±1,95	5,3±0,03	4,0±0,01

Таким чином, встановлено, що МДК досліджуваного екстракту у культурі клітин ВНК-21 (65 мкл/см³) вірогідно знижувала титр інфекційної активності вірусу хвороби Ауескі на 1,3 lg, а вірусу трансмісивного гастроентериту свиней – на 1,2 lg. Аналіз наукової літератури та наші експериментальні дані довели перспективність застосування рослинної сировини, зокрема екстракту (пропіленгліколевого) Алоє Вера для створення лікувальних засобів.

Висновки.

1. Вперше досліджено *in vitro* в культурі клітин ВНК-21 цитотоксичні властивості екстракту (пропіленгліколевого) Алоє Вера. Встановлено максимально допустиму концентрацію, що склала 65 мкл/см³. Встановлені цитотоксичні показники (МДК) для живих клітин тварин в культурі екстракту (пропіленгліколевого) Алоє Вера показали можливість використання цієї сировини в подальших дослідженнях з розробки нових засобів противірусної терапії щодо вірусних захворювань тварин.

2. Встановлено, що дія екстракту Алоє Вера знижує інфекційну активність вірусу хвороби Ауескі на 1,3 lg, а вірусу трансмісивного гастроентериту свиней на 1,2 lg.

Список використаної літератури.

1. Malvy D. A retrospective case control study of acyclovir resistance in herpes simplex virus/ D. Malvy, M. Treilhou, S. Bouee // Clin. Inf. Dis – 2005. – Vol. 41 – P. 320-326.

2. Bisset N.G. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals A Handbook for Practice on a Scientific Basis./ Bisset N.G.// Medpharm Scientific Publishers, G. – 1994 – 351 p.

3. Н. В. Цицина./Биологически активные вещества растительного происхождения/ Н. В. Цицина. – М.: "Наука", 2001. – 350 с.

4. Bernard D. L. / Evaluation of the antiviral activity of anthraquinones, anthrones and anthraquinone derivatives against human cytomegalovirus / Bernard D.L., Huffman G.F., Morris G.F.// Antiviral research – 1992 – Vol 35. – P. 2463-2466

5. Cudi A.C./Antiviral activities on some Nigerian medicinal plants extracts/ Cudi A.C., Myrint S.H.//J. Ethnopharmacology – 1999 – Vol 64. – P. 235-240.

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСТРАКТА АЛОЭ ВЕРА ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ВИРУСОВ ЖИВОТНЫХ / Марченко М. И.

В статье приводится теоретическое обоснование применения в ветеринарной медицине экстракта (пропиленгликолевой) Алоэ Вера, для снижения инфекционной активности вирусов животных

*Начаты исследования по применению растительных экстрактов в качестве противовирусных веществ. Начальные этапы доклинических испытаний в системе *in vitro* показали перспективность дальнейших исследований.*

Ключевые слова: экстракт (пропиленгликолевой) Алоэ Вера, вирусы, цитотоксичность, культуры клеток животных.

APPLICATION OF ALOE VERA EXTRACT TO REDUCE INFECTIVITY OF VIRUSES OF ANIMALS/ Marchenko M.

This paper provides a theoretical justification for the use in veterinary medicine extract (propylenglycol) of aloe vera to reduce the infectious activity of animal viruses

Initiated research on the use of plant extracts as antiviral substances. The initial stages of pre-clinical tests in the system in vitro have shown promising future research.

Keywords: extract (propilenglycol) Aloe Vera, viruses, cytotoxicity, cell culture animals.

Рецензент – кандидат ветеринарних наук І. М. Полупан

Рукопис надійшов 06.03.2014 року.