

ПРОТИЗАПАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ КОМПЛЕКСІВ, ВИЛУЧЕНИХ З ТРАВИ ЧЕБРЕЦЮ

Беленічев І.Ф., Батура Н.Р., Толок А.Я., Омелянчик Л.О.

Сучасна медицина володіє значною кількістю різноманітних лікарських препаратів, які спроможні впливати на розвиток запального процесу. Проте, не дивлячись на значні успіхи, досягнуті в області фармакології протизапальних засобів, пошук нових високоефективних та малотоксичних препаратів триває. Сполуки, які пропонуються у якості протизапальних засобів, повинні володіти спроможністю впливати на проліферативні процеси, а також вираженими анальгізуючими властивостями. Вони повинні мати велику широту терапевтичного ефекту, бути нешкідливими при довготривалому застосуванні, не мати або мати мінімально виражені побічні ефекти. Бажано, щоб нові протизапальні засоби мали також жаропонижачий ефект, імуномодуючі та антиоксидантні властивості. Вони повинні бути дешеві, технологічні у виробництві, синтезуватися або вилучатися із доступної вітчизняної сировини. Найбільш перспективним в цьому плані є пошук таких протизапальних засобів серед рослинної сировини. Так, аналізуючи літературні дані [1], нами була звернена увага на рослини роду *Thymus*, що містять велику кількість біологічно активних речовин, які в перспективі можуть бути використані як антиоксидантні і протизапальні засоби.

Даний етап досліджень передбачав проведення початкового вивчення протизапальних властивостей екстрактів чабрецю з метою виявлення спроможності впливати на модельований гострий запальний процес.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом дослідження були експериментальні водо- (ВК) та спирторозчинний (СК) комплекси, вилучені за раніше розробленою нами методикою комплексного використання трави чабрецю [2, 3].

ВК являє собою рідину коричневого кольору з характерним запахом, яка має густину ≈ 0.99 г/мл. Водний комплекс, екстрагований з 100 г абсолютно сухої сировини, містить: сухого залишку 24.210 ± 0.199 г, простих фенолів 0.226 ± 0.004 г, поліфенольних сполук, які здатні окислюватися перманганатом калію, 6.531 ± 0.098 г.

СК - рідина зелено- коричневого кольору з запахом етанолу, яка має густину ≈ 0.85 г/мл. Спиртовий комплекс, вилучений з 100 г абсолютно сухої сировини, містить: сухого залишку 5.654 ± 0.093 г, простих фенолів 0.216 ± 0.004 г, поліфенольних сполук, які здатні окислюватися перманганатом калію, 1.480 ± 0.046 г.

Дослідження проводилися на білих щурах лінії Вістар обох статей, масою 220 ± 20 г., отриманих з розплідника Одеського медичного університету. Щурі були стандартизовані за фактором годування і перед дослідженнями були витримані на двотижневому карантині.

Для розрахунку разової дози досліджуваних препаратів було проведено визначення їх гострої токсичності за стандартною методикою В.М. Прозоровського [4]. Екстракти, що вивчалися, вводилися перорально згідно з припущеним шляхом їх введення в клініці. В експерименті, при дослідженні окремих доз кожної витяжки, використовувалось по 6 тварин.

Досліди з вивчення протизапальної активності проводилися на моделях гострого запального набряку, який був викликаний субплантарним введенням в задню лапку щура 0.1 мл 1% розчину карагеніну та 0.1 мл 2.5% розчину формальдегіду. Названі моделі рекомендовані Фармакологічним комітетом України для вивчення нестероїдних протизапальних фармакологічних речовин. Вимірювання об'єму лапки проводилися за допомогою онкометра до початку досліду і через 1, 3, 5 годин (при формаліновій моделі запалення) і через 6, 12, 24 та 48 годин (при карагеніновій моделі запалення). Досліджувані екстракти чабрецю вводилися перорально за 30 хвилин до введення флогогенного агента в дозах 1/50 від LD₅₀, що в перерахунку на сухий залишок ВК складає 0.169 мг, СК - 0.004 мг. СК безпосередньо перед введенням розводили дистильованою водою. За фармакологічний еталон був вибраний нестероїдний протизапальний препарат бутадіон, який вводився перорально в дозі 10 мг/кг [5, 6].

З метою більш детального вивчення протизапальних властивостей ВК та СК у крові експериментальних тварин визначалися хімічні маркери запалення - гістамін і серотонін. При формаліновій моделі запалення забір крові проводився через 1 годину після розвитку патології, а при карагеніновій моделі - через 6 годин. Для цього 0.2 мл плазми забраної крові вливали в 0.6 М хлорну кислоту з подальшою нейтралізацією 5 М карбонатом калію. Отриманий безбілковий екстракт розділяли за допомогою тонкошарової хроматографії на пластинках "Silufol" у системі диметилформамід : оцтова кислота : метанол : вода (2:2:2:1). Після розділення гістамін і серотонін елюювали 2Н соляною кислотою при 4°C

на протязі 12 годин. Кількісне визначення гістаміну і серотоніну проводили спектрофотометричним методом по забарвленню 1,4-дигідроксibenzenом при довжині хвилі 532 нм [10].

Усього при вивченні протизапальної активності використано 56 щурів.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Гостра токсичність, визначена за вище згаданою методикою, для ВК складає 4100 (3300 ÷ 5000) мг/кг, для СК трави чебрецю дорівнює 890 (780 ÷ 1020) мг/кг. В останньому випадку тварини гинули при явищах інтоксикації, яка характеризувалася пригніченням центральної нервової системи, зокрема бульбарних центрів, що визначало зупинення дихання.

Результати дослідження протизапальної активності експериментальних комплексів представлені в таблицях 1-4. Дані, наведені в таблицях, оброблені загальноприйнятими методами статистики з розрахунком середнього арифметичного та його стандартної похибки. Достовірність похибки результатів дослідів менше 0.05.

Таблиця 1- Вивчення впливу водо- та спирторозчинного комплексів на набряк лапок щурів на формаліновій моделі запалення

Препарат	Набряк лапки (мл) через:		
	1 год.	3 год.	5 год.
СК	0.33 ± 0.07	0.30 ± 0.07	0.25 ± 0.06
ВК	0.35 ± 0.08	0.31 ± 0.06	0.27 ± 0.08
Бутадіон	0.38 ± 0.08	0.35 ± 0.03	0.32 ± 0.07
Контроль	0.42 ± 0.06	0.49 ± 0.07	0.52 ± 0.06

Таблиця 2 - Вплив водо- та спирторозчинного комплексів на рівень гістаміну та серотоніну (нМоль/г білку крові), у відтікаючій крові в умовах формалінового запалення

Препарат	Гістамін	Серотонін
СК	10.4 ± 0.07	12.5 ± 0.10
ВК	12.0 ± 0.09	13.2 ± 0.12
Бутадіон	13.8 ± 0.14	15.1 ± 0.11
Контроль	14.2 ± 0.10	16.8 ± 0.12
Інтакт	9.8 ± 0.09	11.4 ± 0.07

Таблиця 3 - Вивчення впливу водо- та спирторозчинного комплексів на набряк лапок щурів на карагеніновій моделі запалення

Препарат	Набряк лапки (мл) через:			
	6 год.	12 год.	24 год.	48 год.
СК	0.28 ± 0.04	0.20 ± 0.05	0.15 ± 0.03	0.09 ± 0.01
ВК	0.31 ± 0.05	0.26 ± 0.05	0.19 ± 0.02	0.12 ± 0.01
Бутадіон	0.35 ± 0.06	0.28 ± 0.07	0.23 ± 0.02	0.13 ± 0.02
Контроль	0.42 ± 0.06	0.46 ± 0.07	0.45 ± 0.05	0.31 ± 0.04

Таблиця 4 - Вплив водо- та спирторозчинного комплексів на рівень гістаміну та серотоніну (нМоль/г білку крові), у відтікаючій крові в умовах карагенінового запалення

Препарат	Гістамін	Серотонін
СК	11.0 ± 0.07	13.7 ± 0.07
ВК	11.4 ± 0.03	14.5 ± 0.06
Бутадіон	12.0 ± 0.06	16.4 ± 0.10
Контроль	13.6 ± 0.08	17.5 ± 0.11
Інтакт	10.4 ± 0.07	12.6 ± 0.08

Як видно з представлених таблиць, які відображають динаміку розвитку величини запального набряку, досліджувані екстракти чебрецю володіють явно вираженими антиексудативними властивостями. Слід відмітити, що на обох моделях запалення обидва екстракти чебрецю по силі дії перевищують ефект відомого протизапального засобу - бутадіону. Так, на формаліновій моделі комплекси, що вивчаються, виявляють антиексудативну активність вже з першої години спостереження, котра найбільш посилюється на п'ятій годині від початку спостереження - у момент максимального розвитку набряку. Якщо дослідити дію експериментальних комплексів по відношенню до контролю в загальній динаміці розвитку формалінового набряку, то СК перевищує по активності бутадіон на 11.5%, а ВК - на 8%.

Таким чином, найбільш перспективним у цьому плані можна назвати СК. Набряк лапки через 5 годин після введення СК під час експериментів на моделі формалінового запалення складав 48% по відношенню до контролю, у той час, як під дією бутадіона приблизно дорівнював 61.5%.

При вивченні антиексудативних властивостей екстрактів чебрецю на карагеніновій моделі гострого запального набряку було встановлено, що зниження ступеню набряку спостерігалось з перших строків експерименту (1- 6 годин). До дванадцятої години спостереження - часу максимального розвитку набряку - антиексудативна активність досліджуваних комплексів була найвищою. Через дві доби після введення флогогенного агента набряк практично зникав. Даний ефект був найбільш виражений під дією СК чебрецю. Його протизапальна активність виявилася на 16.5% вище, по відношенню до контролю в загальній динаміці розвитку запального набряку, тоді як ВК по силі активності перевищував бутадіон на 6.8%.

Таким чином, експериментальні водо- і спирторозчинні комплекси, вилучені з трави чебрецю, володіють вираженою антиексудативною активністю, перевіреною на двох моделях гострого запального набряку, яка співпадає по строках спостереження з розвитком експериментального набряку, але є протилежною що до напрямку.

Під час досліджень рівня вмісту в крові експериментальних тварин біогенних амінів - гістаміну та серотоніну, які є маркерами запального ушкодження тканин, був виявлений їх підвищений вміст у перші строки спостереження на обох моделях патології. Призначення екстрактів чебрецю знижувало виділення у кров'яне русло як серотоніну, так і гістаміну, при цьому ступінь зниження був достовірно більший, чим під час застосування бутадіона. Встановлений факт може підтвердити, що механізм антиексудативної дії комплексів, що вивчалися, подібний до дії нестероїдних протизапальних засобів. Однак більш висока, ніж у фармакологічного аналогу, антиексудативна активність комплексів і більш виражений ступінь зниження рівня гістаміну і серотоніну в крові експериментальних тварин свідчать, що в механізмі фармакологічної дії екстрактів чебрецю можуть бути присутні і мембраностимулюючий і антиоксидантний ефекти.

ВИСНОВКИ

1. Спирто- і водорозчинні комплекси чебрецю відносяться до класу малотоксичних і практично нетоксичних сполук.
2. Визначена протизапальна активність експериментальних комплексів чебрецю: дія фракції водорозчинних речовин перевищує ефективність фармакологічного стандарту препаратів нестероїдної групи - бутадіона - на 8% і 6.8%, спиртового комплексу на - 11.5% і 16.5% відповідно на формаліновій і карагеніновій моделях запального набряку, у розрахунку, зробленому відносно контролю в загальній динаміці розвитку запалення.
3. Дослідження доводять перспективність отримання препаратів протизапальної дії на основі експериментальних водо- і спирторозчинних комплексів, вилучених з трави чебрецю.

ЛІТЕРАТУРА

1. Батура Н.Р. До питання про комплексне використання трави чебрецю // Вісник Запорізького держ. ун-ту. - 1998. - № 1. - С. 159-161.
2. Батура Н.Р., Толок А.Я., Омелянчик Л.О. Оптимізація умов вилучення комплексів діючих речовин з трави чебрецю // Фармацевтичн. журн. - 1997. - № 1. - С. 103-106.
3. Толок А.Я., Батура Н.Р. Порівняльний аналіз фенольних сполук в екстрактах чебрецю // Вісник Запорізького держ. ун-ту. - 1998. - № 1. - С. 161-171.
4. Прозоровский В.М. Определение токсичности и кумулятивных свойств биологически активных веществ. - М.: Медицина, 1971. - 268 с.
5. Glenn E.M. Simple laboratory procedures for the evolution of topically-active anti-inflammatory drugs. - Agents a. actions. - 1978, vol. 8. - P. 497-503.
6. Методы скрининга и фармакологического изучения противовоспалительных, анальгезирующих и жаропонижающих средств / Метод. рекомендации. Авт. Ф.П. Тринус, В.М. Клебанов, Н.А. Мохарт. - К: Здоров'я, 1974. - 27 с.