

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Рекомендована д.ф.н., професором С.М.Дроговоз

УДК 615.015.1:638.138.1:547.461.4

ФАРМАКОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ СИРОПУ “ПРОПОЛІС-ЛМ” НА ОСНОВІ ПРОДУКТІВ БДЖІЛЬНИЦТВА

Л.М.Унгурян, Л.В.Яковлева, О.І.Тихонов

Національний фармацевтичний університет
Одеський державний медичний університет

Проведено дослідження сиропу “Прополіс-ЛМ” на моделі іммобілізаційного стресу за Сельє. Новий комбінований засіб виявив помірну стреспротективну дію, яка переважає активність препарату порівняння (сироп “Брусника”) за вираженістю позитивного впливу на виразкоутворення у шлунку, антиоксидантною дією та іншими показниками. В умовах передозування засіб не викликає загибелі експериментальних тварин. Відсутність клінічних проявів дає можливість прогнозувати даний засіб у клініці.

За даними ВООЗ якість життя 50% населення земної кулі залежить від вибраного ними способу та ритму життя, вибору харчування та ін. І лише 8% населення вдаються до медикаментозного лікування. Адже наш вік комп’ютерних технологій, шалений ритм життя та вплив навколишнього середовища накладають відбитки на здоров’я нації і кожної людини окремо. Пошук нових біологічно активних сполук рослинного походження, що мають стреспротективну активність з низькою токсичністю, відноситься до важливих проблем експериментальної фармакології.

Об’єкт наших досліджень — новий комбінований засіб, розроблений співробітниками кафедри АТЛ НФаУ під керівництвом проф. О.І.Тихонова з продуктів бджільництва та кислоти бурштинової (КБ) — сироп “Прополіс-ЛМ” (ПЛМ).

Мета даної роботи — дослідити антистресову дію сиропу “Прополіс-ЛМ” та його гостру токсичність [11, 13, 17].

Експериментальна частина

Стреспротективну дію сиропу “Прополіс-ЛМ” та засобу порівняння сиропу “Брусника” вивчали на моделі нервово-м’язового напруження за Сельє [5]. Для цього було сформовано чотири групи тварин. Перша — інтактний контроль, друга —

контрольна патологія, яка піддавалася дії стресу (отримувала розчинник — очищену воду), третя — піддавалася дії стресу та внутрішньошлунково отримувала ПЛМ у дозі 3 мл/кг, четверта — піддавалася дії стресу та внутрішньошлунково отримувала сироп “Брусника” (виробництва ТОВ “ТД Петродіет”, Росія) у дозі 1,8 г/кг, яка була перерахована з терапевтичної дози для людини на дозу для щурів за коефіцієнтом видової стійкості по Риболовлеву Ю.Р. [10]. Стрес модулювали шляхом тригодинної іммобілізації щурів на спині на операційному столу атрауматичним фіксуванням за кінцівки. Оцінку стреспротективної дії препаратів проводили через дві години після завершення дії стресорного фактора [5]. Для цього тварин декапітували під легким ефірним наркозом та забирали біологічний матеріал для визначення біохімічних показників. Загальносоматичними показниками стреспротективної дії препаратів були коефіцієнт маси наднирникових залоз (КМНЗ) і тимусу (КМТ), ступінь виразкоутворення в шлунку (площа виразок). У сироватці крові тварин визначали піровиноградну кислоту (ПВК) в реакції з 2,4-динітрофенілгідразином [6, 11, 13]. Показники перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та стану антиоксидантної системи (АОС): ТБК-активні продукти (ТБК-АП) та відновлений глутатіон (ВГ) визначали в гомогенатах печінки [1]. Рівень глікогену в печінці досліджували за методом [8, 15, 17]. Вміст білка та глюкози в сироватці крові визначали з використанням набору фірми “Філісіт-діагностика” (Україна), загальні ліпіди — за допомогою набору фірми “Lachema” (Чехія). Дослідження гострої токсичності ПЛМ проводили при внутрішньошлунковому шляху введення на щурах самицях. В експерименті з вивчення гострої токсичності ПЛМ було сформовано 2 групи тварин по 6 у кожній. Перша група отримувала

Таблиця 1

Масові коефіцієнти органів тварин, які отримували сироп “Прополіс-ЛМ” та препарат порівняння в умовах гострого стресу (n=6), $(\bar{X} \pm S_{\bar{X}})$, $\bar{X}(X_{\min} \div X_{\max})$

Показники	Інтактний контроль	Контрольна патологія	ПЛМ	Сироп “Брусника”
Печінка	2,99±0,06	3,41±0,14*	2,92±0,09**	3,02±0,17**
Наднирники	0,044±0,003	0,043±0,004	0,044±0,001	0,042±0,002
Тимус	0,192±0,024	0,215±0,022	0,171±0,023	0,174±0,020
Площа виразок, у балах	0,00 (0÷0)	0,25 (0÷0,5)*	0,00 (0÷0)**/**	0,58 (0÷2)*

Примітки: * — відхилення вірогідні щодо значень групи інтактного контролю, p<0,05;

** — відхилення вірогідні щодо значень групи контрольної патології, p<0,05;

*** — відхилення вірогідні щодо значень групи препарату порівняння, p<0,05.

ПЛМ у дозі 5000 мг/кг, друга (негативний контроль) — розчинник у аналогічному режимі (очищену воду). Термін спостереження за тваринами склав два тижні [5]. Після закінчення терміну спостереження був проведений розтин та макроскопічний огляд внутрішніх органів тварин та визначені масові коефіцієнти внутрішніх органів.

Для отримання статистичних висновків використовували стандартний пакет програм “Statistics 6.0”. Прийнятий рівень значущості p<0,05 [7, 3].

Результати та їх обговорення

Згідно з теорією Сельє катаболічні процеси, що посилюються в організмі під дією стресу внаслідок активації гіпофіз-адреналової системи, призводять до інволюції тимусу, гіпертрофії наднирників та утворення виразок у шлунку. Розвиток стресорних пошкоджень, викликаних іммобілізацією в нашому експерименті, характеризувався вираженим виразкоутворенням у шлунку, про що свідчить статистично висока площа виразок у тварин з групи контрольної патології у порівнянні з інтактними. Проте, коефіцієнти маси наднирників та тимусу (табл. 1) залишалися на рівні інтактного контролю, що може вказувати на високий рівень резистентності дослідних тварин до використаного стресорного впливу. Проте аналіз інших досліджуваних показників вказує на розвиток катаболічних процесів у тварин з групи КП: спостерігали вірогідне зниження рівня загального білка у сироватці крові. Зниження опірності тварин

супроводжувалось посиленням процесів ПОЛ, про що свідчить підвищення рівня ТБК-АП в 1,3 рази у гомогенаті печінки тварин КП щодо тварин ІК на тлі зниження (тенденція до вірогідності) ВГ — компоненту антиоксидантного захисту (табл. 3). Посилення пероксидної деградації мембран гепатоцитів призвело до підвищення коефіцієнта маси печінки у шурів КП щодо інтактних тварин, що вказує на розвиток можливих альтеративних процесів в органі (табл. 1). При цьому спостерігали збережену сталість вуглеводного (рівень глюкози у сироватці крові та глікогену в печінці були на рівні інтактного контролю, табл. 2, 3) та ліпідного (нормальний рівень загальних ліпідів сироватки крові, табл. 3) обмінів та гліколітичних процесів (вміст ПВК на рівні інтактних тварин, табл. 2).

Досліджувані засоби в різній мірі запобігали розвитку стресорних пошкоджень. Сироп “Прополіс-ЛМ” виявив вірогідну протективну дію на розвиток виразкоутворення у шлунку. На тлі засобу відбувалось вірогідне зниження площі виразок щодо групи тварин КП. Гастро- та гепатопротективна (нормалізація коефіцієнта маси печінки) дії ПЛМ, ймовірно, є результатом вираженої цитопротекції в результаті прямої антиоксидантної дії, на що вказує вірогідно в 2 рази нижчий рівень ТБК-АП. Підвищений рівень ПВК у сироватці крові на тлі засобу свідчить про посилення гліколітичних процесів як таких, що забезпечують енергоутворення в результаті активації симпато-

Таблиця 2

Результати досліджень біохімічних показників у сироватці крові на моделі гострого стресу $(\bar{X} \pm S_{\bar{X}})$

Групи тварин	Інтактний контроль	Контрольна патологія	ПЛМ	Сироп “Брусника”
Глюкоза, ммоль/л	4,86±0,17	5,55±0,56	5,63±0,41	4,98±0,31
Загальні ліпіди, г/л	2,78±0,05	2,67±0,07	2,76±0,06	2,67±0,09
ПВК, ммоль/л	0,129±0,008	0,134±0,006	0,150±0,006**/**	0,151±0,008*/Т**
Загальний білок, г/л	66,62±1,03	60,37±2,00*	63,70±2,30	60,63±1,36*

Примітки: * — відхилення вірогідні щодо значень групи інтактного контролю, p<0,05;

** — відхилення вірогідні щодо значень групи контрольної патології, p<0,05;

*** — відхилення вірогідні щодо значень групи препарату порівняння, p<0,05;

Т — тенденція до відповідної групи (тут і надалі).

Таблиця 3

Результати досліджень біохімічних показників у гомогенаті печінки щурів ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Групи тварин	Інтактний контроль	Контрольна патологія	ПЛМ	Сироп "Брусника"
Глікоген, мкг/100 г	212,7±29,9	203,5±49,3	182,2±58,4	109,4±20,4*/Г**
ВГ, мкмоль/л	7,81±0,55	6,73±0,36 Т*	5,54±0,12*/**/**	4,79±0,18*/**
ТБК-АП, мкмоль/г	79,88±8,38	105,16±9,84*	51,40±4,82*/**	54,83±4,30*/**

Примітки: * — відхилення вірогідні щодо значень групи інтактного контролю, $p < 0,05$;** — відхилення вірогідні щодо значень групи контрольної патології, $p < 0,05$;*** — відхилення вірогідні щодо значень групи препарату порівняння, $p < 0,05$.

Таблиця 4

Динаміка маси тіла тварин (г) при вивченні гострої токсичності при внутрішньошлунковому введенні, $n=6$ ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Термін дослідження	Негативний контроль	ПЛМ, 5000 мг/кг
Вихідні дані	154±3	157±3
3 доби	168±3*	163±2*
7 діб	178±5*	173±3*
14 діб	183±5*	183±3*

Примітка: * — відхилення вірогідні щодо значень вихідних даних, $p < 0,05$.

Таблиця 5

Динаміка масових коефіцієнтів внутрішніх органів щурів при вивченні гострої токсичності сиропу "Прополіс-ЛМ", ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показники	Негативний контроль	ПЛМ, 5000 мг/кг
Печінка	3,42±0,14	3,12±0,12 Т*
Нирки	Прав.	0,35±0,03
	Лів.	0,35±0,01
Легені	0,82±0,04	0,81±0,03
Серце	0,34±0,01	0,33±0,02
Селезінка	0,49±0,03	0,40±0,04 Т*
Тимус	0,272±0,035	0,210±0,009 Т*
Надирники	0,028±0,003	0,021±0,001 Т*

Примітка. Т* — тенденція до відхилення значень групи інтактного контролю, $0,05 < p < 0,100$.

адреналової системи. Поряд з тим позитивний вплив на відновлення показників білкового обміну, відсутність виразок у шлунку та нормальний масовий коефіцієнт печінки дають можливість стверджувати про наявність у засобу помірної стреспротективної дії, оскільки для характеристики стреспротективної дії достатнім є коригувальний вплив хоча б на один компонент тріади Сельє [5, 16].

Стреспротективна активність ПЛМ, очевидно, обумовлена комплексом БАР. Це фенольні сполу-

ки водної витяжки з прополісу, які виявляють пряму антиоксидантну дію та мембраностабілізуючі властивості, що й обумовлює виражений антиоксидантний захист клітинних мембран від стресового впливу. Мед завдяки великому вмісту (98-99% сухих речовин) легкодоступних вуглеводів, зокрема глюкози та фруктози [4], які визначають його цінність, є енергетичним продуктом. Кислота бурштинова є субстратом енергоутворення в циклі Кребса, який посилює енергозабезпечення органів [9, 14]. Поєднання водорозчинних фенольних сполук прополісу, меду та БК у досліджуваному засобі, ймовірно, забезпечує всебічний антиоксидантний захист та відновлювальний вплив на енергоутворення — механізм реалізації стреспротективної дії та переваги ПЛМ перед засобом порівняння сиропом "Брусника" за вираженістю гастропротективного впливу в умовах гострого іммобілізаційного стресу. Ймовірно, препарат порівняння має менш збалансований набір БАР, в основному фенольні сполуки та полісахариди.

Після внутрішньошлункового введення ПЛМ у дозі 5000 мг/кг ознак інтоксикації не спостерігали. Рефлекторна збудливість у всіх тварин була збережена. Внутрішньошлункове введення ПЛМ у дозі 5000 мг/кг не викликає загибелі щурів. Позитивний приріст динаміки маси тварин (табл. 4) вказує на відсутність токсичного впливу на трофічні процеси. Масові коефіцієнти (табл. 5) печінки, селезінки, надирників та тимусу тварин зазнали вірогідних відхилень у бік зниження, що дозволяє припустити виснаження цих органів під впливом ПЛМ в умовах передозування. Враховуючи склад досліджуваного засобу, цілком ймовірно припустити його моделювальний вплив у терапевтичних дозах на систему гіпофіз-надирники, що відіграє значну роль у формуванні адаптаційних процесів в організмі [2, 12]. Вивчення гострої токсичності дозволяє віднести сироп "Прополіс-ЛМ" при внутрішньошлунковому введенні до V класу токсичності — до практично нетоксичних речовин ($LD_{50} > 5000$ мг/кг) [2].

ВИСНОВКИ

1. На моделі гострого іммобілізаційного стресу сироп "Прополіс-ЛМ" виявляє помірну стреспро-

тективну активність, яка переважає активність препарату порівняння за вираженістю позитивного впливу на більшість показників.

2. Сироп “Прополіс-ЛМ” відноситься до V класу токсичності — практично нетоксичних речовин (LD₅₀ > 5000 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні).

ЛІТЕРАТУРА

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: Метод. рекоменд. — С.Пб: ИКФ “Фолиант”, 2000. — 104 с.
2. Бобков Ю.Г., Виноградов В.М., Катков В.Ф. и др. Фармакологическая коррекция утомления. — М.: Медицина, 1984. — 207 с.
3. Буркацкая Е.Н., Байер В.Ф., Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях. — К., 1980. — 47 с.
4. Генцицкий И.П. // *Вопр. питания.* — 1990. — №5. — С. 57-60.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекоменд. / За ред. О.В. Стефанова. — К., 2001. — С. 457-471.
6. Камышиников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. — Мн: Беларусь, 2000. — Т. 2. — С. 103-104.
7. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — 2001. — 320 с.
8. Прохорова М.И., Тупикова З.Н. Большой практикум по углеводному и липидному обмену. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1995. — С. 53-65, 260.
9. Регуляторы энергетического обмена. Клинико-фармакологические аспекты / Под ред. В.А.Хазанова. — Томск: Изд-во Том. ун-та, 2003. — 110 с.
10. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. // Доклады АН СССР. — 1979. — Т. 247, №6. — С. 1513-1516.
11. Droge W. // *Physiol. Rev.* — 2002. — Vol. 82. — P. 47-95.
12. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.* — Council of Europe. Strasburg, 1986. — №123. — P. 52.
13. McArdle A., van der Meulem J.H., Catapano M. et al. // *J. Physiol. (Lond.).* — 1995. — Vol. 487. — P. 157-158.
14. Kondrashova M.N., Winlow W., Vinogradova O.S. et al. *Succinic acid as a physiological signal molecule. Editors Signal Molecule and Behaviour.* — Manchester and NY: Manchester University Press, 1991. — P. 295-300.
15. Kant C.J., Leu J.R. Andersen S.V. et al. // *Physiol. Behav.* — 1987. — Vol. 4. — P. 775-779.
16. Minckley R.L., Cane J.H., Kervin L. // *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* — 2000. — Vol. 267, №1440. — P. 265-271.
17. Saija A., Scalese M., Lanza M. et al. // *Free Radicals Biology and Medicine.* — 1995. — Vol. 19, №4. — P. 481-486.

УДК 615.015.1:638.138.1:547.461.4

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СИРОПА “ПРОПОЛИС-ЛМ” НА ОСНОВЕ ПРОДУКТОВ ПЧЕЛОВОДСТВА

Л.М.Унгуриян, Л.В.Яковлева, А.И.Тихонов

Проведено исследование сиропа “Прополис-ЛМ” на модели иммобилизационного стресса по Селье. Новое комбинированное средство оказывает умеренное стресспротекторное действие, которое превосходит активность препарата сравнения (сироп “Брусника”) за выраженностью позитивного влияния на язвообразование в желудке, антиоксидантным действием и другими показателями. В условиях передозировки средство не вызывает гибели экспериментальных животных. Отсутствие клинических проявлений дает возможность прогнозировать данное средство в клинике.

UDC 615.015.1:638.138.1:547.461.4

THE PHARMACOLOGICAL RESEARCH OF “PROPOLIS-LM” SYRUP ON THE BASIS OF APICULTURE PRODUCTS

L.M.Unguryan, L.V.Yakovleva, A.I.Tikhonov

The research of “Propolis-LM” syrup has been conducted on the model of the Seleu immobilization stress. A new combined medicine has a moderate stress-protective action, which exceeds by its activity the reference drug (“Cowberry” syrup) concerning the positive effect on gastric ulcerations, the anti-oxidative action and other indexes. In the conditions of overdosage the medicine does not cause death in experimental animals. The absence of clinical symptoms gives the possibility to forecast the given medicine in clinics.