

УДК 615.322:616.9:616-089

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ
ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ «ФИТОМП»
ДЛЯ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ**

Фролова А.В.¹, Петров В.В.², Косинец А.Н.¹, Жолнерович М.Л.², Грушин В.Н.¹

¹ УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Беларусь

² УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь

На модели гнойной раны у крыс проведено экспериментальное изучение фармакологической активности лекарственного средства растительного происхождения «ФитоМП» в виде присыпки. Установлено, что выраженность ранозаживляющего эффекта зависит от соотношения компонентов «маклея/подорожник». Изучение безопасности средства показало, что «ФитоМП» в максимальных испытанных дозах не токсичен для животных при однократном внутривнутреннем введении.

On model of a purulent wound at rats experimental studying pharmacological activity of a medical remedy «PhytoMP» in the form of powder. It is established, that expressiveness healing effect depends on a party of components "macleaya / plantago". Studying of safety of means has shown, that «PhytoMP» in the maximal tested dozes is not toxic for animals at unitary intragastric introduction.

Введение. На сегодняшний день отмечается увеличение числа гнойно-воспалительных заболеваний и послеоперационных осложнений, которые в большинстве случаев тяжело поддаются традиционному лечению. Участились случаи реинфицирования раневых поверхностей госпитальными штаммами, а также генерализации инфекции и развития токсико-аллергических реакций [1, 3, 8, 9]. При этом увеличивается число антисептических препаратов, к которым обнаруживаются устойчивые варианты микроорганизмов. Это диктует необходимость разработки и последующего внедрения новых групп эффективных лекарственных средств, в том числе и растительного происхождения, поскольку антибактериальная химиотерапия требует значительных финансовых затрат.

Известно, что лечебные свойства растений обусловлены их богатым химическим составом. Поэтому при производстве фитопрепаратов с целью обеспечения высокой эффективности лекарственных средств, как правило, проводится извлечение действующих веществ растений или синтез их аналогов. При этом происходят колоссальные сырьевые и производственные затраты, что зачастую ведет к снижению объемов промышленного выпуска и исчезновению эффективных средств из аптечной сети. Создать новые и при этом экономически выгодные лекарственные средства, не прибегая к дорогостоящим оборудованию и технологиям, возможно, используя в качестве перспективных источников растительное сырье.

Нами разработано лекарственное средство «ФитоМП», фармакологическая активность которого обусловлена действующими веществами его компонентов – маклейи мелкоплодной (*Macleaya microcarpa* (Maxim.) Fedde), сем. Маковых (*Papaveraceae*) и подорожника большого (*Plantago major* L.), сем. Подорожниковых (*Plantaginaceae*) [7]. Растения принадлежат к различным семействам; отличен их химический состав и специфичен оказываемый ими эффект. В частности, пектины подорожника большого обеспечивают ранозаживляющий эффект, иридоидный гликозид аукубин – выраженное противовоспалительное действие, а сумма бисульфатов бензо[с]фенантридиновых алкалоидов сангвинарина и хелеритрина (сангвиритрин) маклейи мелкоплодной – антимикробную активность.

Антимикробный лекарственный препарат «Сангвиритрин» широко применяется в Российской Федерации на протяжении десятилетий для лечения заболеваний бактериального и грибкового генеза [2]. По имеющимся литературным данным, он является умеренно токсичным средством, при этом отсутствуют заметные видовые и половые различия в чувствительности к препарату. LD₅₀ для белых мышей и крыс составляет 14,2 ± 1,9 и 12,0 ± 0,9 мг/кг (внутрибрюшинно), 470 ± 68 и 500 ± 86 мг/кг (внутрижелудочно) [4].

Материал и методы. Целью настоящей работы явилось экспериментально изучить ранозаживляющую активность лекарственного средства «ФитоМП» в виде присыпки и определить его токсичность.

Экспериментальные исследования проведены в соответствии с действующими нормативно-техническими методическими документами и требованиями Фармакологического комитета МЗ РБ, предъявляемыми к проведению доклинического изучения новых лекарственных средств и препаратов с модифицированной лекарственной формой [5–6]. Животные поступали из питомника РАМН «Рапполово» (г. Санкт-Петербург). Моделирование гнойной раны по методу Ю.В. Стручкова (1982) проводили у 100 белых крыс-самцов линии *Wistar* массой 230–250 г, содержащихся в вивариях Витебского государственного медицинского университета и Витебской государственной академии ветеринарной медицины. Крысы находились на полноценном стандартном пищевом рационе и перед экспериментом проходили двухнедельный карантин.

Каждому животному в рану вводили 2 мл суточной культуры штамма *S. aureus* ATCC 25923, содержащей 1 млрд. микробных тел в 1 мл. В подопытной группе (n=75) лечение ран проводили ежедневными перевязками с лекарственным средством «ФитоМП» в виде присыпки при соотношении компонентов «маклея / подорожник» 1:1, 2:1, 1:2», в контрольной группе (n=25) – с раствором фурацилина. Критериями заживления раны являлись сроки очищения от гнойно-некротических тканей и появления грануляций, начала эпителизации.

Безопасность «ФитоМПа» в виде присыпки изучена только при соотношении компонентов «маклея / подорожник» 2:1, поскольку именно при нем содержание алкалоидов в средстве максимально. Для токсикологических исследований отбирали здоровых, с нормальной поведенческой реакцией половозрелых животных (16 белых мышей и 16 белых крыс линии *Wistar*) обоего пола, прошедших 10-дневный карантин. Острая токсичность «ФитоМПа» при соотношении компонентов «маклея/подорожник» 2:1 изучена в соответствии с «Правилами доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP)» (РД 64–126–91). Мыши были в возрасте 2–2,5 месяца с массой 18–20 г, крысы – 2,5–3,5 месяца, масса составляла 230–

250 г. Для проведения исследований формировали равноценные группы по 8 животных обоего пола. Лабораторные животные содержались в соответствии с действующими «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» при температуре 19–24°C, относительной влажности воздуха 50–70%, при естественном освещении. Помимо комбикорма в рацион грызунов входили хлеб, творог, дрожжи, витамины, сырые овощи.

В первый день эксперимента животным из подопытных групп с помощью шприца и изогнутой инъекционной иглы с напаянной на конец оливой вводили внутрижелудочно лекарственное средство «ФитоМП» в виде 50% суспензии на 2% крахмальном клейстере. Объем введения был равен 2 мл для мыши и 10 мл для крысы, что составляло 50000 мг/кг для мышей и 20833 мг/кг для крыс, а в пересчете на алкалоиды – 330 мг/кг и 137,5 мг/кг, соответственно. Животным из контрольной группы вводили внутрижелудочно 2% крахмальный клейстер в равном объеме с подопытными. В остальные дни эксперимента все животные получали стандартный рацион кормления, характерный для условий вивария, и необходимое количество свежей кипяченой воды (мыши – 3–10 мл, крысы – 5–80 мл в сутки).

Наблюдения за внешним видом и поведением животных проводили ежедневно, а углубленное изучение, включающее физиологические, гематологические и биохимические исследования, выполняли в установленные сроки.

Полученные данные статистически обрабатывали с помощью программы Statistica 7.0, MS Excel 2002 с использованием методов описательной статистики, парного теста Стьюдента, теста Mann-Whitney (Wilcoxon).

Результаты исследований. Экспериментальные исследования показали, что лекарственное средство «ФитоМП» обладает ранозаживляющим эффектом, выраженность которого зависит от соотношения компонентов «маклея / подорожник ÷ 1:1, 2:1, 1:2».

В таблице 1 приведены данные, характеризующие протекание раневого процесса у крыс при инфицировании *S. aureus*.

Таблица 1 – Динамика раневого процесса под действием «ФитоМПа» при различных соотношениях компонентов «маклея/подорожник» и раствора фурацилина при инфицировании *S. aureus*

Исследуемый образец	Сроки, сутки (M±σ)				
	очищение раневой поверхности	появление грануляций	начало краевой эпителизации	50% эпителизация	полная эпителизация
м/п 1:1 (n=25)	3,92±0,28 ^{3,4}	3,20±0,41 ^{2,4}	2,60±0,50 ^{3,4}	5,36±0,49 ^{2,4}	11,36±0,49 ^{2,4}
м/п 2:1 (n=25)	3,60±0,50 ^{3,4}	2,60±0,50 ^{1,3,4}	2,36±0,49 ^{3,4}	0,00±0,00 ^{1,3,4}	0,00±0,00 ^{1,3,4}
м/п 1:2 (n=25)	5,52±0,51 ^{1,2,4}	4,60±0,50 ^{1,2,4}	3,20±0,41 ^{1,2,4}	6,56±0,51 ^{1,2,4}	10,76±0,78 ^{1,2,4}
раствор фурацилина (n=25)	10,04±1,02 ¹⁻³	9,08±0,70 ¹⁻³	7,28±0,46 ¹⁻³	16,24±0,44 ¹⁻³	20,28±0,68 ¹⁻³

Примечание: 1 – м/п – соотношение компонентов «маклея/подорожник» в лекарственном средстве «ФитоМП».

Примечание: 2 – $p < 0,01$, ¹ достоверно в сравнении с присыпкой МП 1:1, ² достоверно в сравнении с присыпкой МП 2:1, ³ достоверно в сравнении с присыпкой МП 1:2, ⁴ достоверно в сравнении с раствором фурацилина

Как видно из таблицы 1, достоверно наиболее быстрое очищение раневой поверхности происходит под действием лекарственного средства «ФитоМП» при соотношении компонентов «маклея / подорожник» 2:1, однако более ранняя полная эпителизация раневой поверхности отмечается при использовании соотношения 1:2 ($p < 0,01$).

При изучении острой токсичности в связи со сложностью однократного введения животным исследуемого объема мы использовали 4 приема по 0,5 мл с интервалом в 30 минут для мышей и 2 приема по 5 мл с интервалом в 30 минут для крыс. Исследования показали, что после внутрижелудочного введения изучаемых доз лекарственного средства «ФитоМП» подопытные мыши и крысы практически не отличались от контрольных. Животные переносили вводимые дозы алкалоидов в лекарственном средстве без видимых отклонений от нормального состояния и поведения. Они охотно поедали корм в обычном количестве, сохраняли нормальную координацию движений, демонстрировали нормальные реакции на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители, имели удовлетворительный внешний вид – ровный гладкий блестящий шерстный покров, хорошо удерживающийся в коже. Двухнедельное наблюдение за животными, получавшими «ФитоМП» в испытанных дозах показало, что средство не имеет отрицательного последствие. У мышей и крыс не выявлено существенных изменений в поведении, неврологическом статусе, отсутствовали отсроченные признаки нейротоксичности, оцениваемой по моторно-координационным тестам.

Испытания на мышах показали, что при внутрижелудочном введении в максимальной дозе – 50000 мг/кг, превосходящей в 35014 раз рекомендуемую дозу для человека при нанесении на тонзиллы и в 4377 раз – дозу для нанесения на рану размером 2x2 см², «ФитоМП» не оказывает общетоксического действия и не вызывает гибели животных. Под действием лекарственного средства у мышей не выявлено ни существенных изменений в приросте массы тела (таблица 2), ни отклонений в гематологических показателях и в функциональном состоянии печени наравне с контрольными животными.

Как видно из таблицы 2, несколько больший прирост массы тела к концу исследования как у самок, так и у самцов из подопытной группы не имел достоверного различия с показателями в контрольной группе.

Таблица 2 – Динамика массы тела у мышей после однократного внутрижелудочного введения «ФитоМПа» в дозе 50000 мг/кг

Сроки наблюдения	Масса тела, г (M±σ)					
	♀			♂		
	группа, достоверность различий			группа, достоверность различий		
	подопытная (n=8)	контрольная (n=8)	p	подопытная (n=8)	контрольная (n=8)	p
1-е сутки	18,50±0,76	18,50±0,76	1,000	19,00±0,76	19,13±0,64	0,798
2-е сутки	18,00±0,76	18,00±0,53	1,000	18,75±0,71	18,75±0,71	1,000
7-е сутки	18,88±0,64	18,50±0,53	0,328	19,38±0,92	19,25±0,71	0,720
14-е сутки	19,88±0,99	19,38±1,06	0,441	20,63±1,19	19,88±0,99	0,194

При исследовании токсичности «ФитоМПа» на крысах установлено, что в максимальной испытанной дозе – 20833 мг/кг, превосходящей в 14589 раз рекомендуемую дозу для человека при нанесении на тонзиллы и в 1824 раз – дозу для нанесения на рану размером 2x2 см², лекарственное средство не оказывает видимого влияния на поведение, неврологический статус и состояние вегетативных функций у животных на протяжении всего периода наблюдения. Лишь к 20 ч. 30 мин. в первый день исследования у крыс-самцов отмечалась несколько избыточная саливация, а у крыс-самок – слезотечение, которые исчезли на следующие сутки. На протяжении двухнедельного наблюдения у животных отсутствовали симптомы холиномиметического гипервозбуждения, характерные для действия антихолинэстеразных средств (избыточное мочеиспускание, диарея, бронхоспазм, одышка, цианоз, бронхорея, признаки холинергической блокады в скелетных мышцах). На протяжении всего периода наблюдения у подопытных крыс отмечен нормальный прирост массы тела, не выявлено существенных изменений в гематологических показателях, в диурезе, отклонений в функциональном состоянии печени по гексеналовому тесту, отсутствовали признаки нейротоксичности по моторно-координационному тесту. По окончании эксперимента не отмечено достоверных изменений в клеточном составе крови животных (таблица 3).

Таблица 3 – Показатели периферической крови белых крыс после однократного внутрижелудочного введения «ФитоМПа» в дозе 20833 мг/кг (по окончании острого эксперимента) (M±σ)

Показатель	Группы, достоверность различий		
	подопытная	контрольная	p
гемоглобин, г%	15,2 ± 0,6	15,1 ± 0,7	0,82
эритроциты, млн./мкл	7,4 ± 0,3	7,56 ± 0,4	0,51
базофилы, %	0	0	
эозинофилы, %	2,6 ± 0,9	2,6 ± 0,9	1,00
юные, %	0	0	
палочкоядерные нейтрофилы, %	4,0 ± 0,7	3,8 ± 1,3	0,78
сегментоядерные нейтрофилы, %	13,6 ± 1,1	13,2 ± 1,3	0,65
моноциты, %	3,2 ± 1,3	3,2 ± 1,3	1,00
лимфоциты, %	75,2 ± 2,9	76,4 ± 1,9	0,47

В конце исследования мышей и крыс подвергали эвтаназии передозировкой эфира. При вскрытии животных для изучения морфологической картины их внутренние органы не имели внешних признаков отклонений от нормы, существенных макроскопических изменений в них не обнаружено.

Так, при осмотре грудной и брюшной полостей не наблюдалось нарушений в расположении органов. Легкие при вскрытии спадались, их поверхность и ткань на разрезе имели бледно-розовую окраску. Слизистая оболочка внегочных бронхов была гладкой, блестящей, также имела бледно-розовую окраску. Форма и величина сердца, печени, почек, яичников или яичек не отличались от обычных. Сердечная мышца была плотной, коричневого цвета. Поверхность почек была гладкой, имела однородную коричневатую-серую окраску, капсула легко снималась. Коровое и мозговое вещество отчетливо различались на разрезе. Не отмечено раздражающего действия на слизистые оболочки органов желудочно-кишечного тракта. Капсула печени была тонкой и прозрачной, ткань имела коричневатый цвет и умеренно плотную консистенцию. Селезенка была темно-вишневого цвета, с гладкой поверхностью и плотноватой консистенции. Размер и форма желудка не отличались от контрольных, просвет был заполнен плотным пищевым содержимым, слизистая оболочка – бледно-розовой окраски, блестящая и складчатая. Слизистая оболочка тонкого и толстого кишечника была блестящей, гладкой. Оболочки головного мозга были тонкими и прозрачными, вещество – умеренной плотности, расширения желудочков не отмечено.

Масса внутренних органов у подопытных животных достоверно не отличалась от значений у животных контрольной группы, что подтверждается приведенными величинами массовых коэффициентов (таблица 4, 5).

Таблица 4 – Массовые коэффициенты внутренних органов мышей (0,1 г/10 г веса тела) после однократного внутрижелудочного введения «ФитоМПа» в дозе 50000 мг/кг

Орган	Массовый коэффициент, 0,1 г/10 г веса тела (M±σ)					
	♀			♂		
	группа, достоверность различий			группа, достоверность различий		
	подопытная (n=8)	контрольная (n=8)	p	подопытная (n=8)	контрольная (n=8)	p
печень	37,13±0,99	37,50±0,93	0,442	38,25±0,89	38,00±0,76	0,574
почки	9,50±0,53	9,50±0,53	1,000	9,75±0,46	9,88±0,35	0,721

Продолжение таблицы 4

сердце	3,38±0,52	3,50±0,53	0,721	3,75±0,46	3,75±0,46	1,000
селезенка	3,63±0,74	3,75±0,71	0,721	3,75±0,71	3,88±0,64	0,721
головной мозг	17,13±0,83	17,25±0,89	0,798	17,63±0,74	17,38±0,52	0,328
яичники или яички	0,25±0,46	0,25±0,46	1,000	4,13±0,35	4,00±0,00	0,442

Таблица 5 – Массовые коэффициенты внутренних органов крыс (г/100 г веса тела) после однократного внутрижелудочного введения «ФитоМПа» в дозе 20833 мг/кг

Орган	Массовый коэффициент, 0,1 г/10 г веса тела (M±σ)					
	♀			♂		
	группа, достоверность различий			группа, достоверность различий		
	подопытная (n=8)	контрольная (n=8)	p	подопытная (n=8)	контрольная (n=8)	p
печень	28,6±2,8	30,4±2,1	>0,05	30,4±1,4	29,9±1,4	>0,05
почки	7,7±0,4	6,7±0,4	>0,05	7,2±0,2	7,9±0,1	>0,05
сердце	4,7±0,2	4,0±0,4	>0,05	4,3±0,5	4,4±0,2	>0,05
селезенка	5,6±0,2	4,9±0,2	>0,05	5,9±0,3	5,3±0,2	>0,05
головной мозг	8,4±0,09	8,4±0,4	>0,05	8,9±0,2	8,0±0,4	>0,05
яичники или яички	0,38±0,04	0,31±0,01	>0,05	7,85±0,21	7,36±0,1	>0,05

Как видно из таблиц 4–5, статистически достоверных изменений в относительной массе внутренних органов животных не наблюдается.

Исходя из проведенных исследований и полученных в результате этого данных можно заключить, что нам не удалось установить LD₅₀ для «ФитоМПа» (в отличие от имеющейся для очищенного сангвиритрина) из-за нивелирования токсического эффекта алкалоидов полисахаридами подорожника и другими действующими веществами компонентов средства. Невозможность использования более высокой концентрации взвеси обусловлена техническими сложностями ее приготовления, а именно, очень высокой набухающей активностью сырья. Увеличить концентрацию алкалоидов в лекарственном средстве также не представляется возможным из-за необходимости в таком случае увеличивать его объем, что повлечет новые сложности с введением «ФитоМПа» мелким грызунам.

Заключение. 1. Выраженность ранозаживляющего эффекта лекарственного средства «ФитоМПа» зависит от соотношения компонентов «маклея / подорожник» ÷ 1:1, 2:1, 1:2.

2. Наиболее выраженная регенеративная активность присуща присыпке «ФитоМПа» при соотношении компонентов «маклея / подорожник» 1:2.

3. «ФитоМПа» не токсичен для животных при однократном внутрижелудочном введении в максимальных испытанных дозах – 50000 мг/кг мышам и 20833 мг/кг крысам. Они превосходят рекомендуемую дозу для человека при нанесении на тонзиллы (1,428 мг/кг) в 35014 и 14589 раз, а также рекомендуемую дозу для человека при нанесении на рану размером 2x2 см² (11,424 мг/кг) – в 4377 и 1824 раз, соответственно.

Литература. 1. Абаев, Ю.К. Современные особенности хирургической инфекции / Ю.К. Абаев // *Вестн. хирургии.* – 2005. – Т. 164, № 3. – С. 107–111. 2. Абизов, Е.А. Сангвиритрин / Е.А. Абизов и [и др.] // *Медицинская помощь.* – 2003. – № 4. – С. 41–46. 3. Блатун, Л.А. Некоторые аспекты госпитальной инфекции / Л.А. Блатун // *Врач.* – 2007. – №1. – С. 3–5. 4. Бортникова Л.В., Крелкова Л.В., Шкаренков А.А. Сравнительное токсикологическое изучение лекарственных форм сангвиритрина, рекомендованных в педиатрии // *Тез. докл. VIII Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство».* – М., 2001. – С. 549. 5. *Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (РД 64-126-91).* М., МЗ РФ, ФК. – 1992. – 45 с. 6. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.Х. Хабриева.* – 2-е изд. – М., 2005. – 399 с. 7. *Состав лекарственного препарата: пат 7728 Респ. Беларусь, А 61К 35/78 / А.Н. Косинец, А.В. Фролова, Г.Н. Бузук; заявитель УО «Витебский государственный медицинский университет».* – № а 20020872; u// *Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці.* 2006. № 1. С. 48–49. 8. Rapp, R.P. Overview of resistant gram-positive pathogens in the surgical patient / R.P. Rapp // *Surg. Infect. (Larchmt).* – 2000. – Vol. 1, № 1. – P. 39–47. 9. Samra, Z. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to vancomycin, teicoplanin, linezolid, pristinamycin and other antibiotics / Z. Samra, O. Ofer, H. Shmueli // *Isr. Med. Assoc. J.* – 2005. – Vol. 7, № 3. – P. 148–150.

Статья поступила 11.02.2010 г.

УДК 636.2:612.015.

ПАТОБИОХИМИЯ КРОВИ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Холод В.М., Соболева Ю.Г.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Изучены биохимические изменения в крови коров с жировой гепатодистрофией и дана оценка этих изменений с учетом физиологического состояния животных (стельности).

Biochemical changes in blood of cows with fatty hepatodystrophy have been studied and the estimation of these changes taking into account physiological condition of animals has been given.