



УКРАЇНА

(19) UA (11) 92445 (13) C2

(51) МПК

A61K 36/28 (2006.01)

A61K 31/194 (2006.01)

A61K 36/738 (2006.01)

A61K 36/73 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАСІБ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ІМУННОГО СТАТУСУ У ДІТЕЙ

1

2

(21) а201004484

(22) 16.04.2010

(24) 25.10.2010

(46) 25.10.2010, Бюл.№ 20, 2010 р.

(72) ГУДЗЕНКО ОЛЕКСАНДР ПАВЛОВИЧ, НЕМЯТИХ ОКСАНА ДМИТРІВНА, ЯКОВЛЄВА ЛАРИСА ВАСИЛІВНА, КОТОВ АНДРІЙ ГЕОРГІЙОВИЧ, БОНДАР СЕРГІЙ ІВАНОВИЧ

(73) ГУДЗЕНКО ОЛЕКСАНДР ПАВЛОВИЧ, НЕМЯТИХ ОКСАНА ДМИТРІВНА, ЯКОВЛЄВА ЛАРИСА ВАСИЛІВНА, КОТОВ АНДРІЙ ГЕОРГІЙОВИЧ, БОНДАР СЕРГІЙ ІВАНОВИЧ

(57) Засіб для корекції імунного статусу у дітей на основі лікарської рослинної сировини, який відрізняється тим, що як рослинну сировину використовують кореневища з коренями ехінацеї пурпурової, плоди горобини звичайної, шипшини собачої, а як фармацевтично прийнятні носії застосовують кислоту лимонну, цукор, воду при такому співвідношенні компонентів, мас. %:

водний екстракт кореневищ з коренями ехінацеї пурпурової, горобини звичайної, шипшини собачої (30:10:5) 45,0
кислота лимонна 0,2
цукор 54,8
вода решта.

Винахід відноситься до медицини та хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема, до створення, виробництва та використання лікувально-профілактичних засобів на основі лікарської рослинної сировини.

Стрімке зростання темпів науково-технічного прогресу, погіршення екологічної ситуації, підвищення напруженості життя та посилення впливу факторів, що чинять патогенний вплив на імунітет (стреси, СНІД, наслідки аварії на ЧАЕС), визначають проблему фармакологічної корекції імунологічної реактивності організму зростаючого організму як одну з найбільш важливих і актуальних для вітчизняної медицини та фармації.

Гострі респіраторні захворювання на протязі останніх десятиріч стійко займають одне із провідних місць серед інфекційно-запальних патологій, переважна частка яких в структурі загальної захворюваності припадає на вік від 1 до 6 років. Висока захворюваність ОРЗ наносить істотну економічну й соціальну втрату суспільству і це є однією з основних причин інтенсивного пошуку найбільш ефективних методів профілактики та терапії імунodefіцитних станів в педіатрії [9, 11].

На жаль, номенклатуру сучасних імуностимулюючих препаратів складають, перш за все, синтетичні засоби, на фоні застосування яких ймовірно надмірне втручання в функцію імунної системи і, як наслідок, виснаження останньої.

В площині окресленої проблеми особливий інтерес представляють препарати рослинного походження, які вигідно відрізняються від синтетичних аналогів біологічною спорідненістю до тканин організму, м'якою дією та низькою токсичністю.

Останні роки пильну увагу фітохіміків, фармакологів та технологів привертає ехінацея пурпурова як перспективне джерело для створення нових імуномодуючих засобів, що підтверджується наявністю на фармацевтичному ринку України достатньо широкого асортименту препаратів на основі лікарської рослини як вітчизняного, так і закордонного виробництва [9]. Однак, переважна кількість лікарських засобів представлена спиртовмісткими ліками, застосування яких обмежено у окремих пацієнтів, що обумовлює доцільність розробки імуностимулюючих засобів, в першу чергу для педіатрії, на основі рослин з роду Echinacea, зокрема ехінацеї пурпурової.

(13) C2

(11) 92445

(19) UA

Існує лікувально-профілактичний засіб, що містить водний екстракт кореневищ з коренями ехінацеї пурпурової, кислоту лимонну, цукор, спирт етиловий, воду.

Патент України №33075, кл. А61К36/28; А61К9/08. Опубл. офіц. бюл. «Промислова власність», №11, 10.06.2008.

Відома синергічна антибактеріальна композиція, що містить екстракти подорожника, звіробію, ехінацеї і прополісу, коричну олію. Засіб застосовується для лікування і профілактики захворювань ротової порожнини, бактеріальних Інфекцій шкірних і слизових покривів.

Патент США №6027716, кл. А61К007/26; А61К035/78. Опубл. офіц. бюл. "Official Gazette", 22.02.2000.

Існує композиція для полоскання ротової порожнини, що містить настойки червоного стручкового перцю, календули, ехінацеї, жовтокорня канадського, прополісу - 23-33%, оцет і вода - решта.

Патент США №5376374, кл. А61К035/78; А61К007/26; С070305/12; С010009/02. Опубл. офіц. бюл. "Official Gazette", 27.12.1994.

Відомий водяний розчин, що містить настойку ехінацеї, жовтокорня канадського, сангуїнарії канадської, екстракт кісточок грейпфрута, сік алое вера, настойку календули, воду, гліцерин, м'ятну олію. Засіб призначений для лікування і профілактики запальних захворювань ротової порожнини.

Патент США №5378465, кл. А61К035/78; А61К007/16; А61К007/42. Опубл. офіц. бюл. "Official Gazette", 03.01.1994.

Відомий спосіб, що попереджає утворення осаду у свіжечавленому соці ехінацеї. Спосіб здійснюють шляхом охолодження свіже чавленого соку, наступною фільтрацією і стабілізацією 0,01-5% полівалентною карбоною кислотою, переважно лимонною.

Патент США №6019977, кл. А01М065/00. Опубл. офіц. бюл. "Official Gazette", 01.02.2000.

Відомий лікарський засіб "Фіто-новосед" у формі рідкого екстракту, який отримують шляхом спиртової екстракції суміші трави кропиви собачої (100-150г), трави меліси лікарської (100-150г), плодів шипшини (100-150), трави ехінацеї пурпурової (50-75) і плодів глоду (50-75г), спирт етиловий (40%) до 1000мл. Препарат застосовують як седативний засіб у дорослих при різних невропатичних реакціях, що супроводжуються дратівливістю, безсонням, тривогою, страхом і т.д. Засіб впливає на працездатність, не викликає міорелаксацію, не виявляє снотворного ефекту.

Патент Российской Федерации №2241486, кл. А61К35/78, А61Р7/00. Опубл. офіц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 10.12.2004.

Відомий лікарський засіб, що містить сухий екстракт ехінацеї пурпурової 15-70%, пектин 20-80%, кислоту аскорбінову 1-10%. Препарат застосовують як адаптогенний засіб, що підвищує загальну опірність організму.

Патент Российской Федерации №2129010, кл. А61К35/78. Опубл. офіц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 20.04.1998.

Відомий спосіб одержання настойки ехінацеї пурпурової шляхом триразової екстракції сировини

40%-ним етиловим спиртом методом мацерації у трьох екстракторах при співвідношенні сировини:екстрагент 1:8. Першу екстракцію здійснюють при кімнатній температурі і дві наступні при нагріванні до 70-80°C на протязі 30хв. Спосіб дозволяє підвищити вихід біологічно активних речовин.

Патент Российской Федерации №2134584, кл. А61К35/78, А61К9/08, А61К35/78, А61К31/19, ф61К31/715. Опубл. офіц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 20.08.1999.

Відомий спосіб одержання настойки ехінацеї пурпурової методом багаторазової перколяції при кімнатній температурі попередньо здрібненої і підігрітої перед екстрагуванням трави ехінацеї пурпурової з подальшим змішуванням отриманих на кожному з етапів перколяції екстрактів і відстоюванням отриманої суміші екстрактів. Препарат використовують як засіб, що має загальнозміцнюючу, імуномодулюючу, імунокорегуючу, антиоксидантну, радіопротекторну, протипухлинну, антимікробну, протизапальну і противірусну дію.

Патент Российской Федерации №2163138, кл. А61К35/78. Опубл. офіц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 20.02.2001.

Відомі способи одержання настоек з ехінацеї пурпурової. Спосіб одержання настойки ехінацеї пурпурової шляхом екстракції сировини етиловим спиртом, у процесі екстрагування здійснюють періодично кількаразовий вплив ультразвуком визначеної частоти і потужності за певних умов, чергуючи його з настоюванням. Спосіб одержання настойки ехінацеї пурпурової шляхом екстракції сировини етиловим спиртом, причому сировину попередньо замочують 40% етиловим спиртом у визначеному співвідношенні й у процесі екстракції здійснюють кількаразовий періодичний вплив ультразвуком визначеної частоти і потужності за певних умов, періодично чергуючи його настоюванням. Способи дозволяють одержати настоек з високим вмістом оксикоричних кислот при мінімальному вмісті екстрактивних речовин і тим самим підвищити фармакологічну дію настойки.

Патент Российской Федерации №2261103, кл. А61К35/78. Опубл. офіц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 27.09.2005.

Відомий лікарський засіб імуностимулюючої дії "Естіфан" у формі таблеток. Препарат містить сухий екстракт трави ехінацеї пурпурової 25-60% і фізіологічне прийнятні наповнювачі - решта. "Естіфан" виявляє високий рівень терапевтичної дії у випадках недостатньої ефективності антибактеріальної і протизапальної терапії.

Патент Российской Федерации №2137490, кл. А61К35/78. Опубл. офіц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 20.09.1999.

Відомий лікарський засіб "Віларін" у формі таблеток, що містить суміш екстрактів великоголовника сафлоровидного, елеутерококу колючого, ехінацеї пурпурової, солодки голої, листів мучниці і плодів шипшини. Засіб підвищує фізичну працездатність, поліпшує координацію рухів, підвищує стійкість до гіпоксії й емоційного стресу.

Патент Российской Федерации №2187326, кл. А61К35/78. Опубл. офіц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 20.08.2002.

Відомий лікарський засіб на основі густого рослинного екстракту, отриманого з трав ехінацеї пурпурової, череди і солянки холмової, листів кропиви, коренів солодки і сланей ламінарії. Засіб застосовують у формі гранул. Препарат виявляє виражену клінічну ефективність при невеликих аномаліях імунітету, які проявляються частими гострими респіраторними захворюваннями.

Патент Российской Федерации №2203676, кл. А61К35/78. Оpubл. офиц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 10.05.2003.

Існує сироп, що містить деалкоголізований екстракт елеутерококу, у перерахуванні на суху речовину екстракту 0,60-1,20%, вітамін С 0,25-0,50%, лимонну кислоту 0,10-0,20%, цукор 50,00-65,00%, воду - решта. Засіб призначений для дітей двох-трьох років і більше, має адаптогенні і вітамінні властивості.

Патент Российской Федерации №2143825, кл. А231.2/00, А231-2/385. Оpubл. офиц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 10.01.2000.

Відомий продукт для лікувального харчування, що містить плоди шипшини 7,24-7,46%, ягоди горобини 2,83-2,91%, цукор 68,7-70,8%, лимонну кислоту 0,073-0,075%, бета-каротин (10%-ний) 0,15-0,20%, полівітамінну добавку і мікроелементи 0,50-0,70%, воду - решта.

Патент Российской Федерации №2156094, кл. А231.2/385. Оpubл. офиц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 20.09.2000.

Відомий імуностимулюючий і протизапальний засіб, що містить траву ехінацеї пурпурової 8-10%, корінь солодки 0,9-1,1%, траву чебрецю 0,9-1,1%, мед 4,5-5,0%, 30%-ний спирт етиловий 82,8-85,7%.

Патент Российской Федерации №2180586, кл. А61К35/78. Оpubл. офиц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 20.03.2002.

Існує лікарський засіб у формі сиропу або гранул, що містить сухі екстракти ехінацеї пурпурової, звіробою, шипшини і солодкового кореня, кислоту лимонну харчову і цільові добавки. Засіб застосовують при застуді.

Патент Российской Федерации №2187320, кл. А61К35/78. Оpubл. офиц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 20.08.2002.

Відомий імуностимулюючий засіб "Стімунал" у формі сиропу, що містить водяний настій трави і/чи коренів ехінацеї пурпурової і свіжих плодів журавлини в співвідношенні (1-2):(0,5-1,0):10, мед натуральний, цукор, сорбінову кислоту. До недоліків способу одержання цього засобу слід віднести необхідність тривалого використання підвищеної температури (кип'ятіння 8-12 хвилин), при якій може істотно знижуватися фармакологічна активність препарату.

Патент Российской Федерации №2191589, кл. А61К35/78, А61Р37/04, А61К31/19, А61К35/54.

Оpubл. офиц. бюл. "Изобретения, полезные модели" от 27.10.2002.

Найбільш близьким до заявляемого є настійка ехінацеї виробництва ВАТ «Лубнифарм». Засіб застосовують для підвищення неспецифічного імунітету при повторюваних застудах, попередження імунодефіциту при тривалій терапії антибіотиками [10].

До причин, що перешкоджають у прототипі та аналогах одержанню технічного результату, якого досягають в заявляемому засобі, слід віднести те, що якісний і кількісний склад їх компонентів обмежує застосування препаратів в дитячій практиці. Варто підкреслити, що відповідно до рекомендацій ВООЗ, препарати для застосування в педіатрії не можуть містити спирту етилового та мають викликати у дитини лише позитивні емоції.

Мета винаходу - створення імуностимулюючого засобу з таким якісним і кількісним складом компонентів, який би забезпечив високий вміст діючих речовин у готовому продукті та виключив негативні побічні ефекти, внаслідок чого препарат можна було б пропонувати для застосування в педіатричній практиці.

Вищезазначеним критеріям в повній мірі відповідає така дитяча лікарська форма, як сироп, що являє собою концентровані розчини сахарози у воді (до 64%) і ягідних соках, а також суміші останніх з розчинами лікарських речовин, настоями, настойками та екстрактами. Звичайно це густі, прозорі рідини, що мають залежно від складу характерний приємний смак і запах.

Поставлене завдання вирішується тим, що в імуностимулюючому засобі «Афлуфіт» в якості рослинної сировини використовують кореневища з коренями ехінацеї пурпурової, плоди горобини звичайної, шипшини собачої, а в якості фармацевтичне прийнятних носіїв застосовують кислоту лимонну, цукор, воду при такому співвідношенні компонентів, мас. %:

водний екстракт кореневищ з коренями ехінацеї пурпурної, горобини звичайної, шипшини собачої (30:10:5)	45,0
кислота лимонна	0,2
цукор	54,8
вода	решта.

Заявляємий склад і співвідношення компонентів виявлені експериментальне і забезпечують терапевтичну ефективність лікарського засобу, стабільність при збереженні, відповідність вимогам діючої фармакопеї і оптимальні органолептичні властивості, необхідні для його застосування у педіатричній практиці.

Введення лікарської рослинної сировини до складу препарату обумовлено фармакологічними ефектами на організм біологічно активних речовин останньої (див. табл.1)

Таблиця

Фармакотерапевтичний дизайн розробляє мого препарату

	Протизапальна дія	Протимікробна дія	Спазмолітична дія	Судинорозширююча дія	Гіпотензивна дія	Протисклеротична дія	Сечогінна дія	Седативна дія	Кровоспинна дія	Секретолітична дія	В'яжуча дія	Репаративна дія	Потогінна	Жовчогінна дія	Підвищення секреції шлунку	Регулювання сольового обміну	Імуностимулююча дія	Тонізування нервової системи	Загальні зміцнююча дія	Десенсибілізуюча дія
Ехінацея: кореневище з коренями	+	+	+							+		+					+	+	+	+
Горобина: плоди	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+		+	+	+	+			+	+
Шипшина: плоди	+	+				+	+	+	+		+	+		+	+	+	+	+	+	+

Висока концентрація цукру поряд з функцією корегування смаку створює високий осмотичний тиск у сиропі, що запобігає росту й розвитку мікроорганізмів при зберіганні лікарського засобу.

Лимонна кислота, що входить до складу сиропу виконує роль консерванта і стабілізатора, що забезпечує стабільність препарату.

Гаряча вода є універсальним розчинником для витягу гідрофільно-ліпофільних речовин з лікарської рослинної сировини.

Результати щодо вивчення залежності кількості екстрактивних речовин водою залежно від температурних режимів процесу та співвідношення сировина-готовий продукт представлені в таблицях 2, 3.

Таблиця 2

Вихід екстрактивних речовин

	Співвідношення сировина-екстрагент*	Температура екстракції °С	Об'єм отриманого витягу, мл	Екстрактивні речовини		
				У витягу, г	У витягу, %	У перерахуванні на сировину, %
1.	1:3	50±5	135	4,32	3,2	9,6
2.	1:4		180	5,4	3	12,0
3.	1:5		225	5,85	2,6	13,0
4.	1:6		270	5,94	2,2	13,2
5.	1:7		315	5,985	1,9	13,3
6.	1:3	70±5	135	6,21	4,6	13,8
7.	1:4		180	7,92	4,4	17,6
8.	1:5		225	9	4	20,0
9.	1:6		270	10,26	3,8	22,8
10.	1:7		315	11,34	3,6	25,2

Продовження таблиці 2

11.	1:3	90±5	135	8,1	6	18,0
12.	1:4		180	10,44	5,8	23,2
13.	1:5		225	11,7	5,2	26,0
14.	1:6		270	11,88	4,4	26,4
15.	1:7		315	12,285	3,9	27,3

* Примітки:

1. Екстрагент - вода очищена

2. Ступінь подрібнювання сировини:

кореневище з коренями ехінацеї - 1-3мм

плоди горобини - 3-7мм

плоди шипшини - 3-5мм

Аналізуючи отримані дані можна зробити висновок, що оптимальними умовами для екстракції

водою є: температура екстракції (90±5)°C і співвідношення сировина : готовий продукту 1:4-1:6.

Таблиця 3

Вихід екстрактивних речовин

	Обумовлені речовини	Вміст, %
1.	Екстрактивні речовини у витягу	5,28-5,56
2.	Екстрактивні речовини у перерахуванні на сировину	26,4-27,8
3.	Білково-полісахаридний комплекс у витягу	1,05-1,15
4.	Білково-полісахаридний комплекс у перерахуванні на сировину	5,25-6,0
5.	Білково-полісахаридний комплекс у перерахуванні на екстрактивні речовини	19,88-22,51
6.	Гідроксикоричні кислоти у витягу	0,31-0,33
7.	Гідроксикоричні кислоти у перерахуванні на сировину	1,55-1,65
8.	Гідроксикоричні кислоти у перерахуванні на екстрактивні речовини	29,35-30,01

Розробка рецептури готової лікарської форми дозволяє дійти висновку, що до складу лікарського засобу доцільно вводити 45г (39-41мл) витягу на 100г (75-90мл) препарату, що в перерахуванні на 1 дозу препарату (5г) складе 90-120мг екстрактивних речовин.

Результати мікробіологічних досліджень вказують на прийнятний профіль чистоти сиропу у відношенні *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, бактерій роду *Enterobacteriaceae* та *Pseudomonas aeruginosa* протягом 28 днів спостереження. Отримані дані дозволяють дійти висновку, що наявність сорбінової кислоти і сорбіту з горобини звичайної, а також фенольних сполук з ехінацеї пурпурної забезпечують відповідну мікробіологічну чистоту, а в окремих випадках навіть й повну відсутність росту мікроорганізмів у дитячій лікарській формі.

У доклінічних дослідженнях заявляемого засобу було проведено вивчення специфічної фармакологічної активності, гострої токсичності, алергизуючої та імуноотоксичної дії. Дослідження проведені у порівнянні з настойкою ехінацеї виробництва ВАТ «Лубнифарм», що виявляє високу імуностимулюючу активність.

Препарат вводили протягом двох тижнів внутрішньошлунково в дозах 0,75, 1,0, 1,5 і 3,0мл/кг. Препарат порівняння застосовували у дозах 1,0 і 2,0мл/кг маси тіла тварин [7].

Дослідження проводили згідно існуючих вимог в рамках правил "Європейської конвенції по захис-

ту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей" на статевонезрілих нелінійних щурах віком 1 місяць, що відповідає віку людини 4-7 років [1, 2, 5, 6].

Для оцінки виразності фагоцитарної активності нейтрофілів розраховували наступні показники: відсоток нейтрофілів, які фагоцитували (Fi - фагоцитарний індекс), середню кількість часточок латексу, що поглинуто одним нейтрофілом (Fu - фагоцитарне число) та інтегральний показник - індекс фагоцитарної активності (IFA - добуток фагоцитарного індексу на фагоцитарне число) [4].

Характер впливу аналізованого сиропу на функціональну активність В-системи оцінювали за рівнем гемаглютининів у сироватці крові щурят, додатково визначали клітинність селезінки. Щурят імунізували тимусзалежним антигеном еритроцитами барана (ЕБ) (3% розчин у дозі 0,2мл/20г маси щурят внутрішньоочеревинно, одноразово). На 5-у добу після імунізації визначали титри гемаглютининів (ГА) у сироватці крові експериментальних тварин методом серійних розведень у полістиролових планшетах [1, 3].

Стан клітинного імунітету визначали за реакцією гіперчутливості повільного типу (ГПТ) за методом К.Р.Kitamura [1, 10]. Тварин імунізували однократним внутрішньоочеревинним введенням суспензії свіжовідмитих ЕБ в дозі 2·10 клітин в об'ємі 0,5мл фізіологічного розчину натрію хлориду на 20г маси тіла. На 5-у добу для виявлення імунізації щурам під апоневротичну пластинку од-

нієї з задніх кінцівок (дослідна лапа) вводили за-
вершальну дозу антигену, що склала 108 еритро-
цитів барана, в об'ємі 0,02мл на тварину. У контр-
латеральну лапу (контрольна лапа) вводили
фізіологічний розчин у тім же об'ємі. Через 24 го-
дини тварин виводили з експерименту передозу-
ванням ефірного наркозу, відрізали стопи задніх
кінцівок тварин на рівні надступаковогомілкового
суглобу, зважували їх на торсійних вагах.

Виразність місцевої реакції оцінювали за спів-
відношенням величини маси стоп дослідної і контр-
ольної лап у кожній групі тварин. Індекс реакції
(IP) розраховували за формулою (1):

$$IP = \frac{M_{д.лапи} - M_{к.лапи}}{M_{к.лапи}} \times 100 \% \quad (1)$$

де

$M_{д.лапи}$ - маса дослідної лапи; $M_{к.лапи}$ - ма-
са контрольної лапи.

Критеріями фізіологічного стану щурят служи-
ли приріст маси тіла та масові коефіцієнти органів
імуногенезу (селезінки, тимусу) і печінки.

Як видно з таблиці 1, введення сиропу протя-
гом 2 тижнів сприяло підвищенню фагоцитарного

індексу при застосуванні у дозі 1,5мл/кг на рівні
препарату порівняння у дозах 1,0 і 2,0мл/кг. Але
фагоцитарне число, тобто кількість поглинутих
клітин, було достовірно меншим ніж у групі тварин,
які отримували препарат порівняння у дозі
1,0мл/кг.

Зі зниженням доз до 0,75 і 1,0мл/кг відбуваєть-
ся зниження активності засобів, за виключенням
препарату у дозі 1,0мл/кг, в якій він достовірно, у
порівнянні з групою негативного контролю та на-
стойкою ехінацеї у дозі 2,0мл/кг, підвищує кількість
клітин, поглинутих нейтрофілом (Fu) та фагоцита-
рний індекс.

Таким чином, за результатами проведеного
дослідження встановлені властивості сиропу акти-
візувати фагоцитарну активність нейтрофілів крові
статевонезрілих щурів у дозах 1,0 і 1,5 на рівні
препарату порівняння.

Дослідження впливу сиропу на гуморальну
ланку імунітету статевонезрілих щурів свідчать
про імуностимулюючі властивості сиропу (табл. 2).
Найбільшу активність стимулювати утворення ан-
тител препарат реалізує в дозах 1,5 і 0,75мл/кг.

Таблиця 1

Вплив сиропу на фагоцитарну активність нейтрофілів крові щурів (n=6)

Групи тварин	Доза, мл/кг	Показники			
		фагоцитарний індекс(Fi)	фагоцитарне число (Fu)	IFA	
		Median (Q25-Q75)		Mean±St.er.	% A
Інтактний контроль	-	69,5 (63-73)	2,86 (2,61-3,38)	209,33±9,22	-
Референтна	1,0	86,5 (70-91)*	3,13 (2,88-3,43)	264,17±9,22*	26,2
	2,0	80,0 (79-83)*	2,84 (2,54-3,14)	229,33±9,41	9,5
Дослідна	1,5	85,5 (84-87)*	2,93 (2,88-2,95)*	245,50±7,31*	17,3
	3,0	76,0 (72-81)	3,20 (2,55-3,44)	224,83±15,55	10,0
Інтактний контроль	-	65,0 (59,0-71,0)	2,82 (2,72-3,01)	185,20±10,30	-
Негативний контроль (вода)	1,0	67,0 (64,0-73,0)	2,54 (2,42-2,63)*	174,40±9,14	-
Референтна	1,0	65,0 (62,0-78,0)	2,72 (2,63-2,83)**	200,33±28,31	15,0
Дослідна	2,0	68,0(61,0-74,0)	2,46 (2,35-2,48)*	160,78±9,66	-

Примітки:

- 1) * - відмінності достовірні щодо значень тварин з групи інтактного контролю, $p < 0,05$;
- 2) ** - відмінності достовірні щодо значень тварин з групи негативного контролю, $p < 0,05$;
- 3) • - відмінності достовірні щодо значень тварин, яким вводили настоянку ехінацеї у дозі 1мл/кг, $p < 0,05$;
- 4) •• - відмінності достовірні щодо значень тварин, яким вводили настоянку ехінацеї у дозі 2мл/кг, $p < 0,05$;
- 5) % A розраховували по відношенню до даних негативного контролю.

Таблиця 2

Вплив сиропу на первинну імунну відповідь щурів (n=6)

Групи тварин	Доза, мл/кг	Показники			
		кількість спленоцитів, 10 ⁹ /л	титри ГА, Log ₂		r
			Mean±St. er.	Median (Q25-Q75)	
Інтактний контроль	-	1783,33±84,76	8,50 (8,00-9,00)	-	-
Референтна	1,0	1646,67±188,73	10,50 (8,00-14,00)	23,5	-
	2,0	1669,17±174,68	10,00(8,00-12,00)	17,6	
	3,0	1259,17±243,84	9,00 (8,00-9,00)	6	
Дослідна	1,5	1176,67±132,00	13,00 (13,00-14,00)*/**	53	-
	3,0	1047,50±164,57*/*	10,00(8,00-12,00)	17,6	
Інтактний контроль	-	1614,80±105,16	6,0 (5,0-7,0)	-	
Негативний контроль (вода)	1,0	1573,40±104,38	7,5 (5,0-10,0)	-	
Референтна	1,0	1246,25±43,91	7,5 (6,0-8,0)	-	-0,54
	2,0	1268,80±37,79	7,5 (6,0-9,0)*	-	
	1,0	1495,60±150,74	11,0(9,0-11,0)*/**/**	47	
Дослідна	0,75	1389,00±73,98	9,0 (8,0-9,5)*	20	-0,44
	1,0	1272,50±28,96	7,5 (6,5-8,0)*	-	

Примітки:

- 1) * - відмінності достовірні щодо значень тварин з групи інтактного контролю, p<0,05;
- 2) ** - відмінності достовірні щодо значень тварин з групи негативного контролю, p<0,05;
- 3) • - відмінності достовірні щодо значень тварин, яким вводили настійку ехінацеї у дозі 1мл/кг, p<0,05;
- 4) ** - відмінності достовірні щодо значень тварин, яким вводили настійку ехінацеї у дозі 2мл/кг, p<0,05;
- 5) r - коефіцієнт кореляції, p < 0,05;
- 6) % A розраховували: у I серії досліді по відношенню до даних інтактного контролю, у II серії досліді - до даних негативного контролю.

Слід зазначити, що титри антитіл під впливом аналізованого препарату у дозі 1,5мл/кг були достовірно більшими, ніж у групі інтактного контролю та препарату порівняння.

Дослідження насиченості селезінки клітинами показало, що під впливом вивчаемого лікарського засобу відбувається зниження кількості спленоцитів, що може свідчити про активацію рециркуляції імунокомпетентних клітин та імуногенезу. Ана-

лізуючи отримані дані, можна заключити, що сироп виявляє активність на рівні препарату порівняння.

Вивчення впливу препарату на клітинну ланку імунітету за допомогою реакції ГПТ на статевонезрілих щурах виявило спроможність останнього пригнічувати розвиток імунної запальної реакції, на що вказують достовірно менші значення відповідного індексу реакції ГПТ (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив сиропу на розвиток реакції ГПТ у щурів, n=5

Групи тварин	Дози, мл/кг	Індекс реакції ГПТ Median (Q25-Q75)
Неімунізований контроль	-	1,9 (1,2-3,3)
Імунізований контроль (ЕБ)	-	5,1 (5,0-6,3)*
Референтна +ЕБ	1,0	2,9 (2,8-3,3)**
	2,0	1,4 (1,3-2,5)**/•
	1,0	1,8 (0,4-2,1)**/•
Дослідна + ЕБ	0,75	2,5 (2,0-2,9)**/•
	1,0	3,7 (3,6-4,0)**/•

Примітки:

1. * - відмінності достовірні щодо значень тварин з групи неімунізованого контролю, p<0,05;
2. ** - відмінності достовірні щодо значень тварин з групи імунізованого контролю, P<0.05;
- 3) • - відмінності достовірні щодо значень тварин, яким вводили настоянку ехінацеї у дозі 1мл/кг, p<0,05;
- 4) ** - відмінності достовірні щодо значень тварин, яким вводили настоянку ехінацеї у дозі 2мл/кг. p<0,05

Для оцінки загального фізіологічного стану організму щурят реєстрували масу тіла в динаміці та вираховували її приріст. Дані, наведені у таблиці

4, свідчать про те, під впливом сиропу ехінацеї спостерігається збільшення приросту маси тіла щурят.

Таблиця 4

Вплив сиропу на динаміку маси щурів (Median (Q25-Q75))

Групи тварин	Доза, мл/кг	Маса, г		
		вихідна	кінцева	приріст
Інтактний контроль	-	60,0 (50,0-70,0)	95,0 (80,0-100,0)	32,5 (30,0-40,0)
Референтна	1,0	60,0 (60,0-60,0)	67,5 (65,0-70,0)*	7,5 (5,0-15,0)*
	2,0	45,0 (40,0-65,0)	85,0 (75,0-90,0)	32,5 (25,0-35,0)
	3,0	60,0 (50,0-60,0)	65,0 (65,0-70,0)*	7,5 (5,0-10,0)*
Дослідна	1,5	60,0 (60,0-60,0)	62,5 (60,0-70,0)*	0,0 (0,0-5,0)*
	3,0	50,0 (50,0-60,0)	60,0 (60,0-65,0)*	10,0 (5,0-15,0)*
Інтактний контроль	-	100,0 (90,0-110,0)	112,5 (105,0-125,0)	18,5 (12,5-30,0)
Негативний контроль (розчинник)	-	95,0 (90,0-105,0)	117,5 (110,0-130,0)	22,5 (17,5-30,0)
Референтна	1,0	90,0 (90,0-90,0)	100,0 (95,0-120,0)	20,0 (5,0-35,0)
	2,0	80,0 (80,0-90,0)	100,0 (90,0-110,0)	20,0 (15,0-22,5)
	1,0	97,5 (90,0-100,0)	107,5 (95,0-115,0)	15,0 (5,0-27,5)
Дослідна	0,75	105,0 (90,0-112,5)	132,5 (107,5-142,5)	35,0 (31,3-40,0)*/**
	1,0	90,0 (85,0-105,0)	125,0 (120,0-140,0)	35,0 (35,0-45,0)*/**

Примітки:

1) * - відмінності достовірні щодо значень тварин з групи інтактного контролю, $p < 0,05$;

2) ** - відмінності достовірні щодо значень тварин з групи негативного контролю, $p < 0,05$.

Отже, за результатами проведеного дослідження встановлені імуностимулюючі властивості сиропу у діапазоні доз 0,75-3,0мл/кг.

Як видно з даних, представлених на кресленні (Фіг.), найбільшу активність сироп виявляє в дозі 1,5мл/кг (70,3%) і дещо меншу в дозі 1,0мл/кг (34%).

Отже, порівняльний аналіз сиропу «Афлуфит» і настойки ехінацеї показав, що за фармакотерапевтичною активністю він не поступається препарату порівняння.

Сироп «Афлуфит» за даними гострої токсичності може бути віднесений до IV класу токсичності "Малотоксичні речовини". Заявляється засіб не проявляє алергізуючої дії, а також шкідливого впливу на імунну систему тварин.

Раціональний підбір технологічних режимів одержання сиропу ехінацеї забезпечує комплексний вплив на імунну систему, що не поступається за дією прототипу.

Висновок:

Таким чином, заявляється лікувально-профілактичний засіб «Афлуфит» в розробленому режимі застосування має прийнятний мікробіологічний профіль, високий рівень специфічної фармакологічної активності, не викликає побічних явищ, характерних для високих доз етилового спирту та високотоксичних консервантів, внаслідок чого препарат є оптимальним для застосування в педіатричній практиці для профілактики та лікування Імунодефіцитних станів, що цілком підтверджує виконання поставленого завдання.

Перелік літератури

1. Бутенко Г.М., Терешіна О.П., Максимов Ю.М., Аркадьєв В.Г та ін. Вивчення імуноотоксичної

дії лікарських засобів // Доклінічні дослідження лікарських засобів / Метод, рекомендації за ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова - К.: Авіцена, 2001. - С.102-114.

2. Денисова М.Ф., Нікітіна Н.С., Дзюба І.П., Оболенцева Г.В., Лар'яновська Ю.Б., Шадрін О.Г., Брюзгінова Л.П. Доклінічне вивчення нешкідливості лікарських засобів, призначених для застосування в педіатрії. Методичні рекомендації. - Київ, 2002. - 27с.

3. Иммунологические методы / Под ред. Х.Фримеля. - М.: Медицина, 1987-472с.

4. Лабораторные методы оценки иммунного статуса // в кн. Справочник медицинской и лабораторной технологии и диагностики под ред. А.И. Карпищенко, С-Пб., Интермедика, 1999г., том №2.

5. Маркова И.В., Гусель В.А., Западнюк Н.И., Ускова Н.В., Бельгова И.Н. и др. Фармакологическое изучение возрастных особенностей в действии лекарственных средств, предлагаемых для клинического изучения в педиатрической практике. Методические рекомендации. - Москва, 1988. - 77с.

6. Петров Р.В. Иммунология, - М: Медицина, 1983. - 368с.

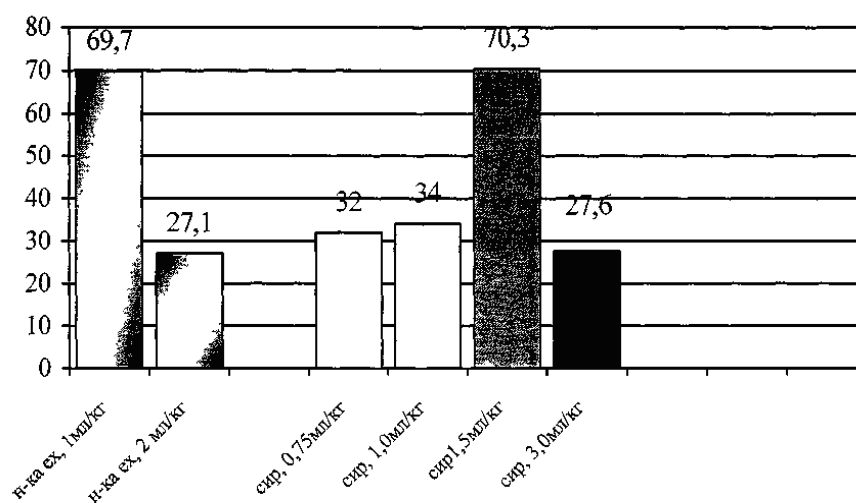
7. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Доклады АН СССР.- 1979. - Т.247. - №6. - С.1513-1516.

8. Чекман І.С. Клінічна фітотерапія. - К.:Видавництво А.С.К., 2003. - С.347-348.

9. Ali E. Protective effects of Echinacea on cyproterone acetate induced liver damage in male rats. // Pak. J. Biol. Sci- 2008. - Vol.1, №11(21) - P.2464-2471.

10. Kitamura K. A Foodpad weigh assay method to evaluate delayed-type hypersensitivity in the mouse // J. Immunol. Methods. - 1980. - V.39.- P.277-283.

11.Tierra M. Echinacea: an effective alternative to antibiotics. // J Herb. Pharmacother. - 2007. - Vol.7, №2. - P.79-89.



Сумарна активність сиропу, %

Fig.