

ВПЛИВ СТАНДАРТИЗОВАНОЇ РОСЛИННОЇ КОМПОЗИЦІЇ BNO 2103 НА ПРОЛІФЕРАТИВНЕ ЗАПАЛЕННЯ У ЩУРІВ

©В. В. Черних

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

РЕЗЮМЕ. Відомо, що рослини є першоджерелами багатьох біоактивних субстанцій. Стандартизація технології виготовлення рослинних засобів та її відтворюваність – це невід’ємні критерії успішного створення високоякісних фітопрепаратів. З розвитком технологій та доказової медицини фітотерапія отримує ще більше підстав для розширення меж застосування. Саме тому наукову цікавість викликає дослідження рослинних комбінацій, що відповідають сучасним уявленням та вимогам якості, безпечності та ефективності на предмет можливості розширення показань для їх застосування. Комбінований рослинний засіб BNO 2103, що є активним інгредієнтом рослинного препарату Канефрон® Н, пропонується для використання в терапії хронічної хвороби нирок.

Мета – вивчити антипроліферативний потенціал засобу BNO 2103 на моделі «ватної» гранульоми у щурів.

Матеріал і методи. Експериментальні дослідження виконано на 30 самцях білих безпородних щурів, які були поділені на 3 групи. В якості експериментальної патології використовували модель «ватної» гранульоми у щурів. Для корекції патології застосовували BNO 2103 у дозі 33,0 мг/кг. Як препарат порівняння було обрано диклофенак натрію у дозі 8,0 мг/кг. Усі досліджувані зразки вводили внутрішньошлунково щодня протягом 7 днів у вигляді суспензій. Після завершення дослідження вилучали утворену гранульому та розраховували антипроліферативну активність дослідних об’єктів.

Результати. Антипроліферативна активність BNO 2103 на моделі «ватної» гранульоми у щурів склала 10,13 %, активність диклофенаку натрію – 15,30 %. Показники антипроліферативної активності у тварин на тлі застосування BNO 2103 не мали вірогідного характеру розбіжностей стосовно експериментальної групи тварин, лікованих диклофенаком натрію.

Висновки. Антипроліферативна активність BNO 2103 є помірно вираженою та дещо поступається активності референс-препарату диклофенаку натрію. Отримані результати свідчать про достатній рівень активності BNO 2103, що може бути корисним при лікуванні захворювань нирок, перебіг яких, зазвичай, супроводжується запальною складовою.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: BNO 2103; рослинний засіб; модель «ватної» гранульоми; антипроліферативна активність; доклінічне дослідження.

Вступ. Відомо, що рослини є першоджерелами багатьох біоактивних субстанцій, що зумовлено їхніми базовими функціями життєзабезпечення та еволюційними мутаціями. Саме результат подібних процесів дозволяє використовувати синтезовані речовини для лікування відповідних патологій в організмі людини відтворювати проти-запальну, регенераційну, антиоксидантну, органопротекторну дію та безліч інших фармакологічних ефектів. Таким чином, процес виготовлення фітопрепаратів із первинної рослинної сировини повинен бути орієнтований насамперед на збереження всього спектра біоактивних речовин, тому стандартизація технології виготовлення рослинних засобів та її відтворюваність – це невід’ємні критерії успішного створення високоякісних фітопрепаратів. Уже тривалий час фітотерапія залишається дуже важливою частиною фармакотерапії загалом, а з розвитком технологій та доказової медицини отримує ще більше підстав для розширення меж застосування. Саме тому наукову цікавість викликає дослідження рослинних комбінацій, що відповідають сучасним уявленням та вимогам якості, безпечності та ефективності на предмет можливості розширення показань для їх застосування. Об’єктом нашого дослідження стала стандартизована рос-

линна композиція BNO 2103, що є активним інгредієнтом рослинного засобу Канефрон® Н і являє собою суміш пульверизованих трави золототисячника, листя розмарину та кореня любистку.

Метою дослідження є вивчення антипроліферативного потенціалу засобу BNO 2103 на моделі «ватної» гранульоми у щурів.

Вивчення антипроліферативної активності (АПА) цього засобу є невід’ємною складовою визначення нефропротекторних властивостей засобу та можливості його застосування в терапії хронічної хвороби нирок (ХХН), адже формує більш детальне уявлення про механізми його протизапальної дії.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальне дослідження відтворювалось на 30 самцях білих безпородних щурів вагою 150–200 г, які були отримані в віварії Центральної науково-дослідної лабораторії Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету. Тварини отримували стандартну дієту з необмеженим доступом до води та утримувались в стандартних лабораторних умовах [1, 2]. Всі дослідження були проведені відповідно до Директиви Ради ЄС 2010/63/ЄС з дотримання законів, правил та адміністративних положень

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення держав – членів ЄС щодо захисту тварин, які використовуються з науковою метою [3]. Експериментальні протоколи були затверджені Біоетичною комісією НФаУ (№ 2 від 4 листопада 2019 р.).

Досліджуваний засіб BNO 2103 представляє собою пульверизовану суміш трави золототисячника, листя розмарину та кореня любистку у вигляді дрібнодисперсного аморфного гігроскопічного коричневого порошку з характерним запахом лікарських рослин. BNO 2103 злегка розчинний у воді, тому його вводили тваринам у вигляді водного розчину, що був приготований з розчинником (карбоксиметилцелюлоза 0,5 % + Твін-80 0,1 %), без попереднього подрібнення в ступці. Відповідну суспензію виготовляли з порошку та розчинника і змішували за допомогою вортексу V-1 Plus (Biosan, Латвія) безпосередньо перед введенням засобу лабораторним тваринам.

АПА засобу BNO 2103 досліджували на моделі «ватної» гранулеми у щурів [4]. Усіх тварин випадковим чином поділили на 3 експериментальні групи: група 1 – контрольна патологія (КП, n=10); група 2 – тварини, які отримували BNO 2103 у дозі 33,0 мг/кг (n=10); група 3 – тварини, які отримували диклофенак натрію у дозі 8,0 мг/кг [4] (n=10). У тварин, що перебували під легким ефірним наркозом, на спині епілювали ділянку шкіри та в асептичних умовах робили поздовжній розріз шкіри і підшкірної клітковини довжиною 1,5 см, де розташовували стерильну ватну кульку масою 20 мг. Засоби вводили щодня впродовж 7 днів. На 8 добу тварин виводили з експерименту, виділяли утворену гранульому, висушували до постійної маси при температурі 60 °С. Масу утвореної грануляційно-фіброзної тканини визначали за різницею між масою висушеної гранульоми та імплантованої ватної кульки. Результати виражали в мг і % пригнічення утворення сполучної тканини в

порівнянні з контролем.

Всі результати були оброблені методами дескриптивної статистики і представлені у вигляді середнього ± стандартна помилка середнього (SEM). Міжгрупові відмінності були проаналізовані за допомогою one-way ANOVA та post – hoc тесту Тьюкі при рівні вірогідності $p < 0,05$ [5]. Для цього були використані комп'ютерні програми IBM SPSS Statistics v. 22 (IBM Corp., США) та MS Excel 2016 (Microsoft Corp., США).

Результати й обговорення. Дане запалення характеризується переважанням процесів проліферації, тобто розмноження клітинних і тканинних елементів, і менш вираженими альтеративними та ексудативними змінами. Основними ознаками продуктивного запалення є утворення інфільтрату, який складається з макрофагів, лімфоцитів, плазматичних клітин тощо. Проліферація є завершальною ланкою запального процесу і супроводжується розвитком молоді сполучної тканини – грануляційної, що характеризується особливою архітектонікою судин, з утворенням капілярних петель навколо осередка запалення. Гранулематозне запалення характеризується утворенням гранульоми – вогнищевої проліферації здатних до фагоцитозу клітин.

Результати вивчення АПА досліджуваного засобу BNO 2103 на моделі «ватної» гранульоми наведені в таблиці 1. Було виявлено, що BNO 2103 має помірну АПА, що підтверджувалось достовірними показниками пригнічення утворення грануляційної тканини у порівнянні зі щурами групи КП.

Так, АПА BNO 2103 на цій моделі склала 10,13 %, активність диклофенаку натрію – 15,30 %. Показники АПА у тварин на тлі застосування BNO 2103 не мали вірогідного характеру розбіжностей стосовно експериментальної групи тварин, лікованих диклофенаком натрію.

Таблиця 1. Антипроліферативна активність BNO 2103 на моделі «ватної» гранулеми у щурів

Дослідна група, (n = 10)	Доза, мг/кг	Кількість грануляційної тканини, мг	Активність, %
Контрольна патологія	–	52,30±2,39	–
BNO 2103	33,0	47,00±0,80*	10,13±1,51
Диклофенак натрію	8,0	44,30±1,55*	15,30±2,96

Примітка. Дані представлені у вигляді середнього ± стандартна помилка середнього (n – кількість тварин у групі); * $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Рослинний засіб Канефрон Н®, до складу якого входять трава золототисячника, коріння любистку та листя розмарину, широко використовується в терапії циститу, простатиту, сечокам'яної хвороби [6–8], в деяких країнах офіційно зареєстрований для лікування гломерулонефриту, інтерстиціального нефриту, пієлонефриту. Протизапальні властивості препарату були продемон-

стровані в низці експериментальних та клінічних досліджень: на моделі автоімунного гломерулонефриту [9], в лікуванні пацієнтів з інфекційно-запальними захворюваннями сечовивідних шляхів [6] та подагричною нефропатією [10]. В експерименті з моделювання ниркової недостатності у щурів BNO 2103 виявив значний нефропротекторний та гіпоазотемічний ефекти, знижуючи ле-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення тварин, сприяючи збереженню гісто-структури нирок, покращуючи екскреторну функцію нирок і нормалізуючи азотний та протеїновий метаболізм [11].

Антипроліферативна дія спрямована на пригнічення надлишкової проліферації різних клітин. Можна припустити, що механізм АПА досліджуваного засобу реалізується завдяки пригніченню проліферації фібробластів та основного фактора росту фібробластів. Це, найімовірніше, зумовлено наявністю в рослинних компонентах засобу таких біологічно активних речовин, які містяться в листі розмарину, траві золототисячника та корені любистку. Розмарин містить такі діючі речовини, як флавоноїди, фенольні кислоти, принаймні 3 % яких представлені розмариноюю, хлорогеновою і кофейною кислотами. Науково доведено, що розмарин має антиоксидантну, протизапальну, антинефротоксичну, антигепатотоксичну, протимікробну та протипухлинну дію [12].

Як було показано в дослідженні R. Lima та ін., лікування *Verbena litoralis*, екстракт якої так само містить хлорогенову, ферулову, кофейнову, р-кумарову кислоти, пригнічує утворення гранулематозної тканини [13]. В іншому дослідженні з використанням моделі «ватної» гранульоми у

мишей розмаринова кислота в дозі 100 мг/кг інгібувала утворення гранулематозної тканини [14], що збігається з результатами нашого дослідження.

Отже, в умовах моделювання проліферативного запалення BNO 2103 чинить помірний антипроліферативний вплив, що важливо при лікуванні запально-деструктивних захворювань такого паренхіматозного органа як нирки.

Висновки. 1. Антипроліферативна активність BNO 2103 є помірно вираженою та дещо поступається активності референс-препарату диклофенаку натрію.

2. Достатній рівень протизапальної активності BNO 2103 може бути корисним при лікуванні захворювань нирок, перебіг яких зазвичай супроводжується запальною складовою, оскільки сприятиме пригніченню розвитку в них процесів фіброзу та склерозу.

Перспективи подальших досліджень. Отримані експериментальні результати, як і раніше отримані дані, є підґрунтям для подальшого планування клінічного етапу вивчення стандартизованого рослинного лікарського засобу BNO 2103 з метою подальшого включення до терапевтичних схем лікування пацієнтів з ХХН.

ЛІТЕРАТУРА

1. Guide to the care and use of experimental animals. – 2nd edn. Vol. 1. // Canadian council on animal care. – Ottawa, Ontario, 1993. – P. 12–22. – Available at: https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Experimental_Animals_Vol1.pdf.
2. Faith R. E. The laboratory rat. – 3rd edn. Chapter 10 - Housing and environment / R. E. Faith, K. P. Allen, J. R. Hessler ; in: Suckow M. A., Hankenson F. G., Wilson R. P., Foley P. L., ed. – London, UK : Academic Press, 2020. – P. 349–417. – Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814338-4.00010-6>.
3. DIRECTIVE 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes [Електронний ресурс] / Parliament, European & Council, European. – P. 33–79. Available at: <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/2019-06-26>.
4. Доклинические исследования лекарственных средств : метод. рек. / под ред. А. В. Стефанова. – К. : Авиценна, 2002. – С. 334–351.
5. Islam M. A. Foundations of Biostatistics / M. A. Islam, A. Al-Shiha. – Singapore: Springer, 2018. – P. 39–46, 346–368. Available at: https://doi.org/10.1007/978-981-10-8627-4 ; 451642_1_En_BookFrontmatter_1..23 (springer.com).
6. Treatment of urinary tract infections with Canephron® in Germany: a retrospective database analysis / M. Höller, H. Steindl, D. Abramov-Sommariva [et al.] // Antimicrob. – 2021. – Vol. 10 (6). – P. 685.
7. Vitkovskyy V. F. Efficacy of an herbal preparation based on lovage, rosemary, and centaury on patients after extracorporeal shockwave lithotripsy / V. F. Vitkovskyy // Clin. Phytosci. – 2021. – Vol. 7. – P. 10.
8. Опыт лечения больных с мочекаменной болезнью в урологической клинике Александровской больницы / С. Н. Калинина, О. О. Бурлака, Д. Г. Кореньков [и др.] // Урологические ведомости. – 2019. – Т. 9, № 3. – С. 1–28.
9. Efficiency of Canephron N in complex treatment of experimental heymann glomerulonephritis / K. V. Sivak, E. E. Lesiovskaia, K. I. Stosman, T. N. Savateeva-Lubimova // Clin. Phytosci. – 2016. – Vol. 2. – P. 5.
10. Smiyan S. I. Effectiveness of Canephron® N in the complex management of subclinical gouty nephropathy / S. I. Smiyan, M. V. Franchuk, R. R. Komorovsky // Int. J. Med. Biomed. Res. – 2016. – Vol. 2 (1). – P. 5–8.
11. Shebeko S. Nephroprotective Effect of the Herbal Composition BNO 2103 in Rats with Renal Failure / S. K. Shebeko, V. V. Chernykh, K. O. Zupanets // Sci. Pharm. – 2020. – Vol. 88. – P. 47.
12. An in-depth review on the medicinal flora Rosmarinus officinalis (Lamiaceae) / A. Begum, S. Sandhya, Ali S. Shaffath [et al.] // Acta Sci. Polon. Technol. Aliment. – 2013. – Vol. 12 (1). – P. 61–73.
13. Anti-inflammatory activity and identification of the Verbena litoralis Kunth crude extract constituents Braz / R. Lima, J. C. Brondani, R. C. Dornelles [et al.] // J. Pharm. Sci. – 2020. – Vol. 56. – P. e17419.
14. Boonyarikpunchai W. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of rosmarinic acid isolated from Thunbergia laurifolia Lindl / W. Boonyarikpunchai, S. Sukrong, P. Towiwat // Pharmacol. Biochem. Behav. – 2014. – Vol. 124. – P. 67–73.

REFERENCES

1. Canadian council on animal care. (1993). *Guide to the care and use of experimental animals*. 2nd edn. Ottawa, Ontario. Retrieved from: https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Experimental_Animals_Vol1.pdf.
2. Faith, R.E., Allen, K.P., Hessler, J.R., Suckow, M.A., Hankenson, F.G., Wilson, R.P., & Foley, P.L. (2020). The laboratory rat. 3rd edn. Chapter 10 – *Housing and environment*. London, UK : Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-814338-4.00010-6.
3. EUR-Lex. (2010). Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Europa.eu. Retrieved from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32010L0063>.
4. Stefanov, A.V. (Ed.). (2001). *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv [Preclinical studies of drugs]*. Kyiv: Avitsena. Retrieved from: <https://ua1lib.org/book/3139988/12a2a7> [in Ukrainian].
5. Islam, M.A., & Al-Shiha, A. (2018). *Foundations of Biostatistics*. Springer Singapore. DOI: 10.1007/978-981-10-8627-4.
6. Höller, M., Steindl, H., Abramov-Sommariva, D., Wagenlehner, F., Naber, K.G., & Kostev, K. (2021). Treatment of urinary tract infections with Canephron® in Germany: a retrospective database analysis. *Antibiotics*, 10 (6), 685. DOI: 10.3390/antibiotics10060685.
7. Vitkovskyy, V.F. (2021). Efficacy of an herbal preparation based on lovage, rosemary, and centaury on patients after extracorporeal shockwave lithotripsy. *Clin. Phytosci.*, 7 (1), 10. DOI: 10.1186/s40816-021-00247-7.
8. Kalinina, S.N., Burlaka, O.O., Korenkov, D.G., Nikol'skij, A.V., Lebedev, D.G., Krivenko, A.E., ..., & Karapuzov, E.G. (2019). Opyt lecheniya bolnykh s mochekamenoj bolezyu v urologicheskoy klinike Aleksandrovskoj bolnitsy. [Experience of treating patients with urolithiasis in the urological clinic of the Aleksandrovskaya hospital]. *Urologicheskie vedomosti – Urological Reports*, 9 (3), 21-28. DOI: 10.17816/uroved9321-28 [in Russian].
9. Sivak, K.V., Lesiovskaya, E.E., Stosman, K.I., & Savateeva-Lubimova, T.N. (2016). Efficiency of Canephron N in complex treatment of experimental heyman glomerulonephritis. *Clin. Phytosci.*, 2 (1), 5. DOI: 10.1186/s40816-016-0021-8.
10. Smiyan, S.I., Franchuk, M.V., & Komorovsky, R.R. (2016). Effectiveness of Canephron® N in the complex management of subclinical gouty nephropathy. *Int. J. Med. Med. Res.*, 2 (1), 5-8. DOI: 10.11603/ijmmr.2413-6077. 2015.2.6371.
11. Shebeko, S.K., Chernykh, V.V., & Zupanets, K.O. (2020). Nephroprotective effect of the herbal composition BNO 2103 in rats with renal failure. *Sci. Pharm.*, 88 (4), 47. DOI: 10.3390/scipharm88040047.
12. Begum, A., Sandhya, S., Shaffath Ali, S., Vinod, K.R., Reddy, S., & Banji, D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta Sci. Polon. Technol. Aliment.*, 12 (1), 61-73.
13. Lima, R., Brondani, J.C., Dornelles, R.C., Lhamas, C.L., Faccin, H., Silva, C.V., ..., & Manfron, M.P. (2020). Anti-inflammatory activity and identification of the *Verbena litoralis* Kunth crude extract constituents. *Braz. J. Pharm. Sci.*, 56, e17419. DOI: 10.1590/s2175-97902019000417419.
14. Boonyarikpunchai, W., Sukrong, S., & Towiwat, P. (2014). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of rosmarinic acid isolated from *Thunbergia laurifolia* Lindl. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 124, 67-73. DOI: 10.1016/j.pbb.2014.05.004.

INFLUENCE OF HERBAL COMPOSITION BNO 2103 ON PROLIFERATIVE INFLAMMATION IN RATS

©V. V. Chernykh

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

SUMMARY. It is known that plants are the primary sources of many bioactive substances. Standardization of herbal medicine technology and its reproducibility are integral criteria for successful creation of high-quality phytopreparations. With the development of technology and evidence-based medicine, herbal medicine is gaining even more reason to expand the application scale. That is why the research of plant combinations that meet modern ideas and requirements of quality, safety and efficiency for the possibility of expanding the indications for their use is of scientific interest. Combined herbal remedy BNO 2103 which is an active substance of the herbal remedy Canephron® N is proposed for use in the treatment of chronic kidney disease.

The aim – to study the antiproliferative potential of the BNO 2103 on the model of a cotton pellet granuloma in rats.

Material and Methods. Experimental studies were performed on 30 of outbred albino male rats that were divided into 3 groups. A cotton pellet granuloma model was used as an experimental pathology. For pathology correction, BNO 2103 was used at a dose of 33.0 mg/kg. Sodium diclofenac at a dose of 8.0 mg/kg was chosen as a reference drug. All investigated samples were administered intragastrically daily for 7 days in the form of suspensions. After completing the study, the formed granuloma was removed and the antiproliferative activity of the experimental objects was calculated.

Results. Antiproliferative activity of BNO 2103 on the cotton pellet granuloma model in rats amounted to 10.13 %, activity of sodium diclofenac – 15.30 %. Indicators of antiproliferative activity in case of treatment with BNO 2103 were not significant comparing to the group of sodium diclofenac.

Conclusions. Antiproliferative activity of BNO 2103 is moderately pronounced and is slightly inferior to the activity of the reference drug diclofenac sodium. The obtained results indicate a sufficient level of BNO 2103 activity, which may be useful in the treatment of kidney diseases that are usually associated with an inflammation.

KEY WORDS: BNO 2103; herbal remedy; cotton pellet granuloma model; antiproliferative activity; preclinical study.

Отримано 04.02.2022

Електронна адреса для листування: vladyslava.chernykh@ukr.net