

Metodă de apreciere a activității antiinflamatoare a substanțelor biologice active, care constă în aceea că se obține exudat peritoneal cu conținut de macrofage peritoneale prin injectarea intraperitoneală unui animal de laborator a soluției de lectină din *Phytolacta americana*, peste 72 ore cavitatea abdominală se spală cu o soluție caldă sterilă de tampon fosfat salin cu pH-ul 7,2...7,4 și se colectează celulele exudatului peritoneal, care se centrifughează la 450...500 rot./min, timp de 7...10 min, sedimentul obținut se suspendă într-un mediu pentru culturi celulare ce conține suplimentar 5...10% ser fetal bovin, 8 μg/ml gentamicină și 2,5 μg/ml fluconazol, se aduce concentrația macrofagelor până la $(5,0...10,0) \times 10^5$ macrofage/ml, apoi cultura celulară de macrofage se transferă pe o placă cu godeuri cu concentrația finală de $(5,0... 10,0) \times 10^4$ macrofage/per godeu și se incubează în incubatorul cu CO₂ la 37°C, timp de 2...4 ore, după care celulele non-aderente se înlătură prin spălări repetate cu soluție de tampon fosfat salin cu pH-ul 7,2...7,4, apoi în fiecare godeu al probelor de cercetat se adaugă câte 90 μl de mediu pentru culturi celulare ce conține suplimentar 5...10% ser fetal bovin, 8 μg/ml gentamicină, 2,5 μg/ml fluconazol, 10...15 μg/ml lipopolizaharidă, 4,0...16,0 μmol/ml metavanadat de amoniu și diluțiile compușilor cercetați, probele de control și de referință se montează la fel, având în loc de diluții ale compușilor cercetați o cantitate echivalentă de un diluant și, respectiv, un compus de referință, probele se amestecă și se incubează în incubatorul cu CO₂ la 37°C, timp de 24...48 ore, după care se transferă în godeurile plăcii fotometrice câte 75 μl de supernatant, 20 μl de soluție 2,5...5,0 mmol/l de HgCl₂, 75 μl soluție 45...65 mmol/l de clorură de vanadiu în 1 M HCl și câte 75 μl reactivul Griess, se amestecă, se lasă la întuneric la 25°C, timp de 30 min, după care se masoară absorbanta la lungimile de undă de 540 nm și 630 nm, apoi se determină activitatea de inhibiție a producerii de oxid nitric, conform formulei:

Activitatea de inhibiție a producerii de oxid nitric, în % = $[(\text{Abs. } 540 \text{ k} - \text{Abs. } 630 \text{ k}) - (\text{Abs. } 540 \text{ pr} - \text{Abs. } 630 \text{ pr})] / [(\text{Abs. } 540 \text{ k} - \text{Abs. } 630 \text{ k})] \times 100$, unde:

Abs. 540 pr și Abs. 630 pr – absorbanta probelor de cercetat la 540 și, respectiv, 630 nm,

Abs. 540 k și Abs. 630 k – absorbanta probelor de control la 540 și, respectiv, 630 nm,

totodată activitatea antiinflamatoare a substanțelor biologice active este apreciată în raport cu proba de referință și cu cât este mai mare activitatea de inhibiție a producerii oxidului nitric, cu atât activitatea antiinflamatoare a substanțelor biologice active este mai mare.