

УДК: 615.322 : 615.453.6

Л.М. Малоштан, А.О.Башура, Н.П. Половко

*Національний фармацевтичний університет***ДОСЛІДЖЕННЯ ХРОНІЧНОЇ ТОКСИЧНОСТІ
НАСТОЙКИ ЛИСТЯ КАШТАНУ КІНСЬКОГО**

Досліджені показники хронічної токсичності настойки листя каштану кінського. Встановлено, що тривале застосування настойки в дозі 3 і 20 мл/кг не чинить значимого впливу на картину крові. Досліджувана настойка в дозі 3 мл/кг не впливає на серцево-судинну систему, прийом настойки в дозі 20 мл/кг приводить до збільшення частоти і сили серцевих скорочень, а також збільшення маси серця після експерименту, що може свідчити про її кардіотонічний ефект. Визначено, що настойка листя каштану кінського в дозі 3 мл/кг стимулює активність мітосомальних ферментів печінки; в цій дозі не виявляє токсичного впливу на функціональний стан нирок, а в дозі 20 мл/кг викликає збільшення рівня сечовини, що свідчить про її гіпоазотемічну дію.

Ключові слова: настойка листя каштану кінського; доклінічні дослідження; хронічна токсичність; вивчення

ВСТУП

Одним із основних етапів впровадження лікарських засобів є визначення їх токсикологічних властивостей [1, 8]. Проведення досліджень показників хронічної токсичності поряд з іншими показниками, які характеризують токсикологічні властивості лікарських засобів, є обов'язковою вимогою Державного фармакологічного центру МОЗ України при доклінічному вивченні нових лікарських засобів [1].

Метою даного дослідження було визначення показників хронічної токсичності настойки листя каштану кінського (НЛКК).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження препарату передбачає його вживання протягом 10–14 днів, тому усі показники хронічної токсичності вивчали в динаміці протягом 30 днів [2]. Доклінічні дослідження НЛКК проводили на базі кафедри біології, фізіології та анатомії людини НФаУ. Протягом експерименту тварин тримали в однакових умовах віварію на повноцінному раціоні [2, 4] і проводили спостереження за їх станом і поведінкою. Досліди проводили на білих безпородних щурах обох статей. Настойку вводили перорально в двох дозах: 3 мл/кг і 20 мл/кг протягом 30 днів. Контролем служили інтактні тварини обох статей, що отримували воду.

Дослідження проведені з дотриманням правил гуманного поводження з тваринами згідно з правилами Європейської конвенції по захисту тварин. Отримані дані обробляли методом варі-

аційної статистики на рівні значущості $p < 0,05$ (враховували середнє арифметичне та його стандартну похибку). Статистичні висновки при порівнянні рядів експериментальних даних отримували на основі однофакторного дисперсійного аналізу або дисперсійного аналізу для даних з повторними вимірюваннями критерієм Ньюмена-Кейлса [3,5].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження, проведені на щурах, показали, що впродовж експерименту у поведінці піддослідних тварин у порівнянні з контролем відхилення не спостерігалися. У щурів збереглися чіткі реакції на больовий подразник і координація рухів. Протягом дослідного періоду тварини були активними, добре приймали їжу, загибель протягом експерименту не спостерігалася. У самиць і самців, які отримували НЛКК в дозах 3 мл/кг і 20 мл/кг, збільшувалася маса тіла, так само як і у контрольних тварин. Динаміка маси тіла є одним з показників токсичності лікарських засобів, тому нормальна прибавка маси тварин у дослідній групі свідчить про відсутність токсичного ефекту препарату на зростання організму.

При вивченні системи крові впродовж дослідного періоду у самців і самиць, які приймали настойку в дозі 3 мл/кг, статистично значимих відмінностей у кількості еритроцитів, у лейкоцитарній формулі порівняно з контролем не спостерігалася. До кінця експерименту достовірно збільшувався гемоглобін у самців і спостерігалася тенденція до збільшення гемоглобіну у самиць. У цій групі тварин у самців і самиць спостерігалася тенденція до зниження кількос-

ті лейкоцитів у порівнянні з контролем, проте ці коливання не були достовірними. У дослідній групі тварин, які отримували НЛКК у дозі 20 мл/кг, у самців і самиць спостерігалася тенденція до підвищення гемоглобіну, проте достовірної різниці порівняно з контролем не було. Останні показники, що характеризують стан білої і червоної крові, були в нормі.

Аналіз показників системи зсідання крові (табл. 1) вказує на наявність значимих відмінностей в часі зсідання крові в дослідній групі тварин, які отримували настійку каштану кінського в дозі 20 мл/кг порівняно з контролем, і нормальний показник вмісту фібриногену в сироватці крові. Зменшення зсідання крові в цій групі можна пояснити специфічною реакцією організму у відповідь на введення препарату або впливом фітопрепарату на в'язкісно-реологічні властивості крові. Дані експерименту, представлені в табл. 2, свідчать про те, що в групах тварин, які отримували настійку в дозі 3 мл/кг, статистично значимих відхилень порівняно з контрольною групою в коагуляційних показниках не спостерігалася.

Скорочення тривалості медикаментозного сну вказує на індукцію, а збільшення — на інгібування мітросомальних монооксигеназ [6]. Така проба у поєднанні з коефіцієнтом маси печінки свідчить про стан детоксикуючої функції

органу [7]. Результати досліджень представлені в табл. 2.

Введення настійки листя каштану кінського в дозі 3 мл/кг приводило до скорочення гексеналового сну в порівнянні з контрольною групою, що свідчить про індукцію мітросомальних ферментів. У дозі 20 мл/кг НЛКК у самців дещо продовжувала медикаментозний сон, проте він був у межах фізіологічних значень [6].

Результати досліджень функціонального стану серцево-судинної системи щурів показали, що НЛКК в дозі 3 мл/кг у самців і самиць не викликала достовірної зміни показників ЕКГ порівняно з контролем (табл. 3). Дещо була збільшена частота серцевих скорочень у дослідній групі, проте вона знаходилася у фізіологічних межах [9]. У дослідній групі щурів, які отримували НЛКК в дозі 20 мл/кг, спостерігалася збільшення частоти і сили серцевих скорочень у порівнянні з контролем, що може свідчити про кардіотонічний ефект настійки (табл. 3).

Результати дослідження можливого токсичного впливу НЛКК на функціональний стан нирок свідчать, що у дослідних групах щурів, які отримували настійку в дозі 3 мл/кг, відсутні патологічні відхилення в діяльності нирок. У групі самиць, які отримували препарат у дозі 20 мл/кг, зафіксовано достовірне відхилення до кінця експерименту рівня сечовини в крові, а у сам-

Таблиця 1

ВПЛИВ НАСТОЙКИ ЛИСТЯ КАШТАНА КІНСЬКОГО НА СТАН ЗСІДАННЯ КРОВІ

Показники	Термін дослідження, тижні			
	вихідні дані	1 тиждень	2 тижні	1 місяць
Контроль				
<u>Самиці n=6</u>				
Час зсідання крові, с	85,4± 4,3	92,3±0,9	105,3±8,3	103,7± 4,5
Фібриноген, г/л	8,5±1,3	–	–	11,2±1,5
<u>Самці n=6</u>				
Час зсідання крові, с	90,7± 6,8	113,4±14,9	128,3± 7,8* (p<0,1)	138,7± 13,6* (p<0,05)
Фібриноген, г/л	10,4± 2,4	–	–	11,0±4,03
Настійка листя каштану кінського, 3 мл/кг				
<u>Самиці n=6</u>				
Час зсідання крові, с	89,3± 3,5	97,4±2,6	108,1±4,2	113,4± 12,5
Фібриноген, г/л	8,7±1,9	–	–	9,8±2,4
<u>Самці n=6</u>				
Час зсідання крові, с	87,6± 5,3	101,33±9,3	114,2±9,2	120,1± 11,4
Фібриноген, г/л	9,7±3,8	–	–	10,8±2,4
Настійка листя каштану кінського, 20 мл/кг				
<u>Самиці n=6</u>				
Час зсідання крові, с	85,9± 7,6	113,4±14,9	128,3± 7,8* (p<0,1)	138,7± 13,6* (p<0,05)
Фібриноген, г/л	10,7±2,04	–	–	11,0±4,03
<u>Самці n=6</u>				
Час зсідання крові, с	88,6± 4,9	109,9±11,2	127,5± 6,5*	137,7± 10,2*
Фібриноген, г/л	10,1±3,5	–	–	10,7±2,6

Примітка: * — відхилення достовірне по відношенню до контролю.

Таблиця 2

ВПЛИВ НАСТОЙКИ ЛИСТЯ КАШТАНУ КІНСЬКОГО НА СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

Показники	Термін дослідження, тижні			
	вихідні дані	1 тиждень	2 тижні	1 місяць
Контроль				
<u>Самиці n=6</u> Медикаментозний сон, хв	63,5± 3,1	73,7± 4,7	84,1± 2,4	104,0± 8,1
<u>Самці n=6</u> Медикаментозний сон, хв	64,8±4,7	69,0±7,5	74,7±3,4	83,9±6,0
Настойка листя каштану кінського, 3 мл/кг				
<u>Самиці n=6</u> Медикаментозний сон, хв	73,7± 2,8	73,7± 4,7	54,8± 8,8* (p<0,01)	644,0± 7,2* (p<0,01)
<u>Самці n=6</u> Медикаментозний сон, хв	70,2±11,6	87,6± 2,1* (p<0,05)	65,0±4,5	74,9±4,3
Настойка листя каштану кінського, 20 мл/кг				
<u>Самиці n=6</u> Медикаментозний сон, хв	68,9± 9,5	77,6± 2,6	88,5± 8,1	94,3± 9,4
<u>Самці n=6</u> Медикаментозний сон, хв	65,0±3,4	73,9±7,2	93,7±10,5	102,1±12,8

Примітка: * — відхилення достовірне по відношенню до контролю.

Таблиця 3

ВПЛИВ НАСТОЙКИ НА СТАН СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМИ У ЩУРІВ

Показники	Термін дослідження	
	Вихідні дані	1 місяць
Самці		
Контроль, n=6		
Частота серцевих скорочень, уд/хв	430±16	440±9,5
Тривалість інтервалу R-R, с	0,130±0,01	0,131±0,08
Тривалість електричної систоли Q-T, с	0,080±0,04	0,109±0,05
Систолічний показник	0,47±0,06	0,48±0,05
Настойка ЛКК 3 мл/кг, n=6		
Частота серцевих скорочень, уд/хв	425±19	476±10*
Тривалість інтервалу R-R, с	0,140±0,02	0,128±0,01
Тривалість електричної систоли Q-T, с	0,124±0,06	0,093±0,03
Систолічний показник	0,52±0,09	0,51±0,08
Настойка ЛКК 20 мл/кг, n=6		
Частота серцевих скорочень, уд/хв	431±12	518±14*
Тривалість інтервалу R-R, с	0,150±0,02	0,138±0,005
Тривалість електричної систоли Q-T, с	0,110±0,03	0,077±0,04
Систолічний показник	0,52±0,06	0,49±0,07
Самиці		
Контроль, n=6		
Частота серцевих скорочень, уд/хв	418±13	410±17
Тривалість інтервалу R-R, с	0,131±0,004	0,130±0,0002
Тривалість електричної систоли Q-T, с	0,090±0,01	0,100±0,03
Систолічний показник	0,46±0,03	0,50±0,05
Настойка ЛКК 3 мл/кг, n=6		
Частота серцевих скорочень, уд/хв	426±15	461±17*
Тривалість інтервалу R-R, с	0,148±0,01	0,134±0,005
Тривалість електричної систоли Q-T, с	0,110±0,02	0,106±0,03
Систолічний показник	0,50±0,05	0,51±0,07
Настойка ЛКК 20 мл/кг, n=6		
Частота серцевих скорочень, уд/хв	430±18	518±14*
Тривалість інтервалу R-R, с	0,151±0,01	0,121±0,008
Тривалість електричної систоли Q-T, с	0,091±0,05	0,060±0,07
Систолічний показник	0,41±0,02	0,49±0,07

Примітка: * — відхилення достовірне по відношенню до контролю.

ців через 14 і 30 днів спостерігалось зменшення рівня сечовини в сечі порівняно з контролем, що вказує на гіпоазотемічні властивості НЛКК у великих дозах. Таким чином, можна зробити висновок, що настойка листя каштану кінського в ефективній і умовно-терапевтичній дозах не чинить токсичної дії на роботу нирок.

Після закінчення роботи тварин виводили з експерименту і визначали коефіцієнти маси внутрішніх органів. У дослідній групі тварин, які отримували НЛКК в дозі 3 мл/кг, не спостерігалось статистично значимих відмінностей в коефіцієнтах маси внутрішніх органів як у дослідних, так і в контрольній групах.

Як показали дані досліджень, у групі тварин, які отримували настойку листя каштану кінського в дозі 20 мл/кг, спостерігалось достовірне зниження вагового коефіцієнта шлунка у самиць, у той час як у самців жодних морфологічних змін виявлено не було.

При вивченні впливу НЛКК на органи і системи організму при тривалому вживанні в дозах 3 та 20 мл/кг було досліджено клінічний склад крові і встановлено, що при прийомі настойки значимих відмінностей в показниках червоної і білої крові порівняно з контролем не спостерігається.

Таким чином, визначено, що НЛКК в дозі 3 мл/кг стимулює активність мітосомальних ферментів печінки. Встановлено, що настойка в дозі 3 мл/кг не впливає на серцево-судинну систему, а в групі тварин, які отримували дозу 20 мл/кг, спостерігалось збільшення частоти і сили серцевих скорочень, а також збільшення маси серця після експерименту, що може свідчити про кардіотонічний ефект настойки. Настойка каштану кінського не чинить токсичного впливу на функціональний стан нирок в дозі 3 мл/кг, а в дозі 20 мл/кг спостерігається збільшення рівня сечовини, що свідчить про гіпоазотемічну дію настойки листя каштану кінського.

ВИСНОВКИ

1. Досліджені показники хронічної токсичності настойки листя каштану кінського.
2. Встановлено, що тривале застосування настойки листя каштану кінського в дозі 3 і 20 мл/кг не чинить значимого впливу на картину крові. НЛКК в дозі 3 мл/кг не впливає на серцево-судинну систему, прийом настойки в дозі 20 мл/кг приводить до збільшення частоти і сили серцевих скорочень, а також збільшення маси серця після експерименту, що може свідчити про її кардіотонічний ефект.

3. Визначено, що настойка листя каштану кінського в дозі 3 мл/кг стимулює активність мітосомальних ферментів печінки; в цій дозі не виявляє токсичного впливу на функціональний стан нирок, а в дозі 20 мл/кг викликає збільшення рівня сечовини, що свідчить про її гіпоазотемічну дію.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. У кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів [метод. рекомендації] / В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, О.В. Максимов, І.М. Трахтенберг // За ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — С. 74–97.
2. Лабораторные животные в эксперименте / [И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария и др.] // — К.: Вища шк., 1983. — С. 243–277.
3. Лапач С.Н. Статистические методы в медицинско-биологических исследованиях с использованием Excel. / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич — К.: Здоров'я, 2001. — 320 с.
4. Надлежащая производственная практика лекарственных средств / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. — К.: МОРИОН, 1999. — С. 508-545.
5. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов. В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Ремедиум, 2000. — С. 349–354.
6. Посібник до лабораторних і семінарських занять з біологічної хімії : [навч. метод. посібник для вузів] / Л.М. Вороніна, В.Ф. Десенко, В.М. Кравченко, Т. С. Сахарова / Під ред. В.Ф. Десенко. — Х.: Основа, 1996. — 432 с.
7. Яковлева Л.В. Изыскание и изучение новых нестероидных противовоспалительных средств — производных дикарбоновых кислот: Дис. ... докт. фарм. наук. — Куапавна, 1992. — 442 с.
8. Commission of the European Communities: Council Directive of 18 December 1986 on the Lows, regulating the Application of Principles of Good Laboratory Practice and the Verification of Their Applications for Tests on Chemical Substances (87/18/EEC). The Rules Governing Medicinal Products in the European Community. — 1991. — Vol.1. — P. 145–146.

УДК: 615.322 : 615.453.6

Л.Н. Малоштан, А.А.Башура, Н.П. Половко

**ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ
НАСТОЙКИ ЛИСТЬЕВ КАШТАНА КОНСКОГО**

Исследованы показатели хронической токсичности настойки листьев каштана конского. Установлено, что длительное применение настойки в дозе 3 и 20 мл/кг не оказывает значительного влияния на картину крови. Настойка в дозе 3 мл/кг не влияет на сердечно-сосудистую систему, а в дозе 20 мл/кг приводит к увеличению частоты и силы сердечных сокращений, а также увеличению массы сердца после эксперимента, что может свидетельствовать о кардиотоническом эффекте. Определено, что настойка в дозе 3 мл/кг стимулирует активность микросомальных ферментов печени; в этой дозе она не проявляет токсического влияния на функциональное состояние почек, а в дозе 20 мл/кг вызывает увеличение уровня мочевины, что свидетельствует о ее гипоазотемическом действии настойки.

Ключевые слова: настойка листьев каштана конского; доклинические исследования; хроническая токсичность; изучение

UDC: 615.322 : 615.453.6

L.M. Maloshtan, A.A. Bashura, N.P. Polovko

RESEARCH OF CHRONIC TOXICITY OF LEAVES OF CHESTNUT HORSE TINCTURE

Key words: leaves of chestnut horse tincture; pre-clinical study; chronic toxicology; research

Адреса для листування:

Харків, вул. Блюхера, 4, НФаУ, кафедра косметології і ароматології.

Тел. (0572) 67-87-75.

E-mail: cosmetology@ukrfa.ua

Надійшла до редакції: