

більшість очних ЛЗ (90 % від загальної кількості очних ЛП у ЛФ різноманітних крапель) упакована у полімерні контейнери.

Висновки. Дослідження підтвердило лідируючу позицію минулих років для традиційного пакування у 5 мл та тенденцію з поширення асортименту очних ЛП у полімерних контейнерах завдяки ряду переваг цього матеріалу. Принципових змін щодо об'єму та нових матеріалів пакування за результатами дослідження не встановлено.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИЗНАЧЕННЯ УЛЬЦЕРОГЕННОЇ, МІСЦЕВОПОДРАЗНЮВАЛЬНОЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ДІЇ КАПСУЛ З ФЕНХЕЛЮ ЗВИЧАЙНОГО ПЛОДІВ ЕКСТРАКТОМ СУХИМ

Филипюк О. М., Рибак В. А., Вишневська Л. І.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Вступ. Велике значення має фармакологічне та хімічне вивчення рослин і біологічно активних сполук, що отримуються з них для розробки та створення засобів рослинного походження, що застосовуються при функціональних розладах травного тракту. Біологічно активні речовини рослинного походження на відміну від синтетичних сполук легше обеззаражуються і виводяться з організму, що забезпечує їх меншу токсичність. Як правило, вони не володіють канцерогенною, мутагенною і ембріотоксичною діями. Природні сполуки володіють менш виразною сенсibiliзуючою дією на організм і тому можуть використовуватися тривало.

Більшість лікарських препаратів, що застосовуються перорально, сприяють негативному впливу на слизову оболонку шлунково-кишкового тракту. Можуть спостерігатися такі побічні ефекти, як шлунково-кишкові розлади – подразнення слизової оболонки, нудота, відчуття здуття живота, втрата апетиту, запор або пронос, порушення травлення. Деякі лікарські засоби можуть стимулювати виділення соляної кислоти, затримувати, вироблення слизу або гальмувати процеси природного оновлення слизової оболонки шлунка, що створює передумови до утворення виразок.

Метою дослідження було вивчення гострої токсичності LD₅₀, ульцерогенної та місцевоподразнювальної дії твердих желатинових капсул з фенхелю звичайного плодів екстрактом сухим при внутрішньошлунковому введенні мишам та внутрішньоочеревинному введенні щурам.

Матеріали та методи.

Дослідження можливої ульцерогенної та місцевоподразнювальної дії капсул з екстрактом фенхелю на слизову оболонку шлунка та 12-ти палої кишки проведено на 60 білих нелінійних щурах, обох статей, масою 150-180 г за методом J. Marazzi-Uberti [1].

Через чотири години після внутрішньошлункового введення капсул з екстрактом фенхелю в дозах – 5, 15, 25 мг / кг і ацетилсаліцилової кислоти в дозах – 25, 50 і 100 мг / кг проводили евтаназію тварин під ефірним наркозом методом

миттєвої декапітації. Далі оглядали тварин і проводили патоморфологічні дослідження ШКТ [1].

Вивчення гострої токсичності капсул з екстрактом фенхелю проводили за методикою Б. М. Штабського [2]. Гостру токсичність LD₅₀ при внутрішньошлунковому введенні визначали на 50 білих нелінійних мишах обох статей, масою 18-24 г, які були розподілені на 5 груп по 10 у кожній. Мишам 1-ї групи внутрішньошлунково вводили дистильовану воду (контроль). Тваринам 2 групи вводили капсули з екстрактом фенхелю в дозі 500 мг / кг, тваринам 3 групи – 5000 мг / кг, тваринам 4 групи – 10000 мг / кг і тваринам 5 групи – 15000 мг / кг, що відповідали різним класам токсичності речовин [2].

Результати дослідження та їх обговорення. Ступінь ушкодження ШКТ оцінювали в балах: 0-балів – відсутність ушкодження, 1 бал – від 1 до 3 невеликих виразок, 2 бали – більше 3 невеликих виразок, 3 бали – виразка значних розмірів і декілька невеликих виразок, 4 бали – декілька великих виразок, 5 балів – проривна виразка. Крім того, симптоми, що передують утворенню деструкції в шлунку та вказують на певні трофічні порушення слизової (набряк, гіперемія, ін'єкція судин, крововиливи), оцінювали у 0,5 бали. У кожній серії визначали % тварин з ушкодженнями слизової шлунка і кишечника.

Індекс виразки розраховували за формулою [3]:

$$IV = \frac{\text{ступінь} \dots \text{виразки} \dots \bullet \dots \% \dots \text{тварин} \dots \text{з} \dots \text{виразками}}{100}$$

Дослідження впливу капсул з екстрактом фенхелю і ацетилсаліцилової кислоти на шлунок і кишечник тварин, в умовах, викликаних етанолом виразок шлунка були проведені на 50 білих щурах масою 170-190 г. Виразки слизової оболонки шлунка викликали внутрішньошлунковим введенням 5 мл / кг абсолютного спирту тваринам, що голодували протягом 24 год [3].

Протягом 14 діб внутрішньошлунково щурам вводили капсули з екстрактом фенхелю в дозах – 15 і 25 мг / кг, триразово і ацетилсаліцилову кислоту – в дозах 50 і 100 мг / кг, внутрішньошлунково, одноразово. Макроскопічне дослідження шлунка і кишечника проводили через 14 діб [4].

Доза капсул з екстрактом фенхелю визначена емпірично з урахуванням їх складу та за даними літератури.

Доза капсул з екстрактом фенхелю розрахована з використанням коефіцієнту видової стійкості Ю. Р. Риболовлева [4].

Вивчення місцевоподразнювальної дії екстракту з плодів фенхелю проведено на 10 кролях масою 2,8-3,0 кг. Розчин водної суспензії вмісту капсул, стабілізований твіном-80 вводили по 1-2 крап. в кон'юнктивальний мішок ока тварин протягом 5 діб. За тваринами спостерігали протягом 6 год після закапування [4].

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою пакету статистичних програм Excel 2010 та Statistica 6.0. Нормальність розподілу даних (відповідність закону Гаусса) визначена та доведена за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Порівняння між групами проведено за t-критерієм Стьюдента з

поправкою Бонферроні. Відмінності показників вважали статистично значущими при $p < 0,05$ [5].

Під час проведення макроскопічного дослідження шлунка і 12-ти палої кишки у щурів встановлено, що введення капсули з екстрактом фенхелю в дозах 5 мг/кг, 15 мг/кг і 25 мг/кг не викликало пошкодження слизової оболонки ШКТ та симптомів, що передують утворенню деструкції – ін'єкції судин, згладжуванню складок, набряку слизової та кишечника.

Капсули з екстрактом фенхелю в дозі 25 мг / кг проявили незначну ульцерогенну дію – викликали ступінь пошкодження слизової оболонки шлунка $(0,20 \pm 0,20)$ тільки у 10 % тварин (індекс виразки – 0,02), що у 21,3 рази менше, ніж застосування ацетилсаліцилової кислоти в дозі 100 мг/кг (ступінь пошкодження слизової оболонки шлунка – $4,25 \pm 0,08$ у 100 % тварин, а індекс виразки – 4,25) (табл. 1).

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою пакету статистичних програм Excel 2010 та Statistica 6.0. Нормальність розподілу даних (відповідність закону Гаусса) визначена та доведена за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Порівняння між групами проведено за t-критерієм Стьюдента з поправкою Бонферроні. Відмінності показників вважали статистично значущими при $p < 0,05$ [5].

Таблиця 1

Вплив капсул з екстрактом фенхелю, ацетилсаліцилової кислоти на слизову оболонку ШКТ щурів ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), (n=10)

№ з/п	Групи тварин	Доза, мг/кг	% тварин з пошкодженнями	Ступінь пошкодження	Індекс виразки
1.	Ацетилсаліцилова кислота	25	60	$2,55 \pm 0,70$	$1,53 \pm 0,42$
2.		50	100	$3,45 \pm 0,19$	$3,45 \pm 0,19$ ^
3.		100	100	$4,25 \pm 0,08$ ^	$4,25 \pm 0,08$ ^
4.	Капсули з екстрактом фенхелю	5	0	0,00	0,00
5.		15	0	0,00	0,00
6.		25	10	$0,20 \pm 0,20$ *	$0,02 \pm 0,02$ *

Примітки:

n – кількість тварин у групі,

\bar{x} – середня арифметична,

$S_{\bar{x}}$ – статистична похибка середньої арифметичної,

* – статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) між групами тварин, які отримували ацетилсаліцилову кислоту у всіх зазначених дозах, за t-критерієм Стьюдента з поправкою Бонферроні,

^ – статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) між групами тварин, які отримували ацетилсаліцилову кислоту в дозі 25 мг/кг, за t-критерієм Стьюдента з поправкою Бонферроні.

Застосування ацетилсаліцилової кислоти в дозі 25 мг / кг свідчило про 60 % пошкодження слизової оболонки ШКТ, а в дозах 50 і 100 мг / кг – 100 %. У

капсул з екстрактом фенхелю було визначено незначний пошкоджувальний вплив (10 %), лише в дозі 25 мг / кг.

Введення щурам ацетилсаліцилової кислоти в дозах 50 і 150 мг / кг викликало злушення клітин епітелію, геморагічне запалення слизової оболонки шлунка і 12-ти палої кишки. Пошкодження слизової оболонки шлунка ($3,50 \pm 0,17$) спостерігалось у 50 % тварин (індекс виразки – 3,5) після введення ацетилсаліцилової кислоти в дозі 50 мг / кг. У дозі 150 мг / кг ацетилсаліцилова кислота проявила ульцерогенну дію – ступінь пошкодження слизової оболонки шлунка склав $4,40 \pm 0,27$ у 100 % щурів, а індекс виразки – 4,4.

Отримані результати досліджень показали, що капсули з екстрактом фенхелю на моделі етанолових виразок у щурів сприяв зменшенню ступеня пошкодження слизової оболонки шлунка в дозі 45 мг / кг у 2,2 рази та в дозі 75 мг / кг у 1,7 рази відповідно, у порівнянні з контролем; в 2,1 рази та в 2,0 рази відповідно, у порівнянні з дією ацетилсаліцилової кислоти в дозах 50 і 100 мг / кг (табл. 2).

Таблиця 2

Вивчення ульцерогенної дії капсул з екстрактом фенхелю, ацетилсаліцилової кислоти на моделі етанолових виразок у щурів ($\bar{x} \square S_{\bar{x}}$), (n=10)

№ з/п	Групи тварин	Доза, мг/кг	Ступінь пошкодження	Індекс виразки
1.	Контрольна патологія	-	$3,80 \pm 0,21$	$3,80 \pm 0,21$
2.	Ацетилсаліцилова	50	$3,50 \pm 0,17$	$3,50 \pm 0,17$
3.	Кислота	100	$4,40 \pm 0,27$	$4,40 \pm 0,27$
4.	Капсули з екстрактом	45	$1,70 \pm 0,15$ *	$1,70 \pm 0,15$ *
5.	фенхелю	75	$2,20 \pm 0,11$ *	$2,20 \pm 0,11$ *

Примітки:

n – кількість тварин у групі,

\bar{x} – середня арифметична,

$S_{\bar{x}}$ – статистична похибка середньої арифметичної,

* – статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) порівняно з контрольною патологією за t-критерієм Ст'юдента з поправкою Бонферроні.

Ацетилсаліцилова кислота потенціювала ульцерогенну дію етанолу. На моделі етанолових виразок у щурів значний пошкоджувальний вплив ацетилсаліцилової кислоти на слизову оболонку шлунка ($4,40 \pm 0,27$) спостерігався після введення тваринам в дозі 100 мг / кг, що в 1,2 рази вищий, ніж у групі тварин контрольної патології, де ступінь пошкодження слизової оболонки шлунка склала $3,80 \pm 0,21$.

Результати досліджень свідчать, що тривале застосування капсул з екстрактом фенхелю в ЕД₅₀ – 15 мг / кг не проявило ульцерогенної дії на слизову оболонку ШКТ тварин, а на моделі етанолових виразок у щурів капсули з екстрактом фенхелю проявили незначний пошкоджувальний вплив на слизову оболонку ШКТ – в дозі 45 мг / кг у 2,1 рази, а в дозі 75 мг/кг у 2,0 рази менший, ніж при застосуванні ацетилсаліцилової кислоти у дозах 50 мг/кг і 100 мг/кг.

Таким чином, на моделі етанолових виразок у щурів, капсули з екстрактом фенхелю виявили більш виразну противиразкову дію.

Дослідження місцевоподразнюючої дії капсул з екстрактом фенхелю показало, що через 6 год після закапування ока кролів 2,5 % водною суспензією капсульної маси, діаметр зіниці ока не змінився. Капсули з екстрактом фенхелю у тварин не викликали набряк повіки і помутніння рогівки ока, сльозотечі, токсикодермії та кон'юнктивитів. Лише у двох тварини з десяти дослідних, спостерігалася помірна гіперемія кон'юнктиви ока, яка пройшла на 4-у годину експерименту. Не було визначено змін з боку слизової кон'юнктиви очей і діаметру зіниці через добу після закапування. Таким чином, капсули з екстрактом фенхелю не викликали патоморфологічних змін слизової кон'юнктиви ока тварин.

Крім високої фармакологічної активності, однією з найважливіших вимог до лікарських препаратів є їх безпека.

Гостру токсичність LD_{50} при внутрішньоочеревинному введенні визначали на 50 білих нелінійних щурах, обох статей, масою 180-200 г, які були розподілені на 5 груп по 10 у кожній. В один і той же час щурам 1-ї групи (контрольна) внутрішньоочеревинно вводили воду з твіном-80. Тваринам 2 групи вводили капсули з екстрактом фенхелю в дозі 10 мг / кг, тваринам 3 групи – 100 мг / кг, тваринам 4 групи – 1000 мг / кг і тваринам 5 групи – 3000 мг / кг, що відповідали різним класам токсичності речовин [6].

Капсули з екстрактом фенхелю вводили при високих дозах за 2-3 прийоми з інтервалом 30-60 хв. За тваринами спостерігали протягом 14 діб.

Експериментальні тварини протягом усього дослідження знаходились на звичайному харчовому режимі віварію, отримували їжу та мали вільний доступ до води.

Протягом 14 діб спостерігали за масою тіла, загальним станом і поведінкою піддослідних тварин, включаючи зовнішній вигляд, особливості поведінки, інтенсивність та характер руху, стан шерсті.

Тварини утримувались у віварії Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету, яка сертифікована ДП «ДЕЦ МОЗ України» як база для досліджень з експериментальної фармакології згідно зі стандартами санітарних норм та на необхідному харчовому раціоні [6, 7].

Протокол дослідження узгоджується з біоетичними нормами та відповідає «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001), а також не суперечить положенню «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986, зі змінами 1998 р.) та Законом України № 3447-IV від 21.02.2006 р. зі змінами «Про захист тварин від жорсткого поводження», «Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» [7].

Результати вивчення гострої токсичності при внутрішньошлунковому та внутрішньоочеревинному введенні капсул з екстрактом фенхелю наведені в табл. 3, 4.

Таблиця 3

Визначення LD₅₀ капсул з екстрактом фенхелю при внутрішньошлунковому введенні мишам (n=10)

Групи тварин	Випробувана доза, мг/кг	Загиблі тварини
Контроль	-	0/10
Капсули з екстрактом фенхелю	500	0/10
Капсули з екстрактом фенхелю	5000	0/10
Капсули з екстрактом фенхелю	10000	0/10
Капсули з екстрактом фенхелю	15000	0/10

Таблиця 4

Визначення LD₅₀ капсул з екстрактом фенхелю при внутрішньоочеревинному введенні щурам (n=10)

Групи тварин	Випробувана доза, мг/кг	Загиблі тварини
Контроль	-	0/10
Капсули з екстрактом фенхелю	10	0/10
Капсули з екстрактом фенхелю	100	0/10
Капсули з екстрактом фенхелю	1000	0/10
Капсули з екстрактом фенхелю	3000	0/10

Результати вивчення гострої токсичності при внутрішньошлунковому та внутрішньоочеревинному введенні капсул з екстрактом фенхелю (табл. 3, 4) показали, що виразної інтоксикації та загибелі експериментальних тварин в жодній групі не встановлено. Загальний стан тварин експериментальних груп не відрізнявся від сану тварин в контрольній групі. Про це свідчить збереження координації рухів, тонусу скелетних м'язів, частоти дихальних рухів і ритму серцевих скорочень, реакції на больові, тактильні та звукові подразники.

Отже, капсули з екстрактом фенхелю не проявили ульцерогенної дії в дозах 5 і 15 мг / кг. Незначна ульцерогенна дія капсул з екстрактом фенхелю на слизову оболонку шлунка щурів виявлена лише в дозі 75 мг / кг. На моделі етанолових виразок шлунка капсули з екстрактом фенхелю не потенціювали ульцерогенну дію етилового спирту. У результаті досліджень капсули з

екстрактом фенхелю не виявляли місцевопоздразнювальної дії на слизову кон'юнктиву ока кролів.

Висновки. При вивченні гострої токсичності капсул з екстрактом фенхелю при внутрішньошлунковому введенні мишам (в дозах – 500, 5000, 10000 і 15000 мг / кг) та внутрішньоочеревинному введенні щурам (в дозах – 10, 100, 1000, 3000 і 5000 мг / кг) встановлено, що загибелі експериментальних тварин не відбувалося. Капсули з екстрактом фенхелю відносяться до V класу токсичності речовин – практично нетоксичні речовини, за класифікацією токсичності сполук К. К. Сидорова.

Література

1. Marrasi-Uberti E., Turba C. The experimental gastric ulcer from histamin in gunea-pigs. *Pept. II. Methodology for biologically controlling the antiulcer activity of drugs. Med. Exptl.* 1961. Vol. № 1. P. 9-14.
2. К методике определения среднесмертельных доз и концентраций химических веществ / Б. М. Штабский, М. И. Гжегоцкий, В. Н. Кудрина, А. К. Маненко, В. И. Федоренко. *Гигиена и санитария.* 1980. № 9. С. 49-51.
3. Емельянов А.С. Изучение возможного ulcerогенного и местнораздражающего действи теобензамина / А. С. Емельянов, Б. М. Голдовский // *Патологія.* 2010. Т. 7, № 1. С. 47-49.
4. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности. *Журнал АН СССР.* 1979. Т. 247, № 6. С. 1513-1516.
5. Атраментова Л. А. Статистические методы в биологии [Текст] / Л. А. Атраментова, О. М. Утевская. Горловка : [б. и.]. 2008. 247 с.
6. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В. М. Коваленко, О. В. Стефанов, Ю. М. Максимов, І. М. Трахтенберг // Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. член-кор. АМН України О. В. Стефанова. Київ: Авіцена, 2001. С.74-97.
7. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах [Текст] // *Ендокринологія.* 2003. Т. 8, № 1. С. 142-145.

МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ FT-IR ХІМІЧНОЇ ВІЗУАЛІЗАЦІЇ ПРИ ДОСЛІДЖЕННІ ТКАНИН ТВАРИН

Maryna Khalavka^{1,2,}, Adrianna Kryska¹, Karolina Kosowska³,
Tomasz Wróbel³, Anna Sroka – Bartnicka¹*

¹ Незалежна лабораторія спектроскопії та хімічної візуалізації, Факультет біомедичних наук, Люблінський медичний університет, м. Люблін, Польща

² Кафедра заводської технології ліків, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

³ Національний центр синхротронного випромінювання SOLARIS, Ягеллонський університет, м. Краків, Польща

Вступ. Цукровий діабет – це група метаболічних розладів, що характеризуються високим рівнем глікемії. Етіологія захворювання неоднорідна