

Рекомендована д.ф.н., професором І.Л.Диким

УДК 638.16:638.138.1:547.461.4

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТАБЛЕТОК “АПІТАР” ТА ЇХ МІКРОБІОЛОГІЧНА ЧИСТОТА

О.І.Тихонов, А.Ю.Тимченко, С.А.Гращенко

Національний фармацевтичний університет

Наведені результати фармакологічних досліджень свідчать, що найбільш активною є доза препарату 150 мг/кг, антигіпоксична активність у цій дозі становить 33%. Результати вивчення гострої токсичності дозволяють віднести таблетки “Апітар” до IV класу токсичності. Випробування мікробіологічної чистоти доводять, що таблетки за рівнем мікробної контамінації відповідають вимогам державної фармакопеї України (ДФУ).

Найбільш універсальним патологічним станом, що виникає при максимальних фізичних навантаженнях, є гіпоксія.

З біохімічної точки зору гіпоксія — це порушення окиснення субстратів у тканинах організму внаслідок утруднення або блоку транспорту електронів у дихальному ланцюзі [9]. Тому дія антигіпоксиків повинна реалізовуватися на клітинному рівні і бути направленою на дихальний ланцюг. Щоб попередити ранні порушення дихального ланцюга можливе використання засобів, які підсилюють незалежні від НАДН-оксидазного шляху компенсаторні метаболічні потоки, наприклад, сукцинатоксидазний шлях. Сукцинат, що вводиться ззовні (сукцинат натрію, кислота бурштинова), при курсовому застосуванні надає помірну антигіпоксичну дію. Відсутність вираженої захисної дії може бути пов'язана з низькою проникністю сукцинату через біологічні мембрани [12]. Біодоступність сукцинату можна збільшити при його комбінованому введенні з деякими метаболітами або адаптогенами, які сприяють кращому проникненню в клітину, наприклад, з об'ємом бджолиним (ОБ).

Відомо, що ОБ можна використовувати у невеликих дозах як профілактичний засіб активації фізичної та розумової діяльності при різних формах виснаження організму [10, 11]. Маючи багатий, добре збалансований набір біологічно активних сполук, ОБ є потенційним адаптогеном природного походження, що обумовлює його полівалентну дію на живий організм та широкі можливості для створення препаратів адаптогенної дії на його основі [1, 7].

На кафедрі АТЛ Національного фармацевтичного університету під керівництвом академіка УАН професора О.І.Тихонова був створений препарат, який має у своєму складі адаптоген (обніжжя бджолине), комплекс легкозасвоюваних вуглеводів (мед натуральний порошкоподібний) і антигіпоксик (кислоту бурштинову). Мета даних досліджень підтвердити антигіпоксичну активність, дослідити гостру токсичність та мікробіологічну чистоту препарату.

Експериментальна частина

Об'єктом досліджень є таблетки “Апітар” (сер. 210507) круглої форми з двоопуклою поверхнею, вкриті оболонкою. На поперечному розрізі видні два шари різного кольору.

Дослідження на тваринах проводили в ЦНДЛ Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора Л.В.Яковлевої. Фармакологічну активність даного препарату досліджували на моделі нормобаричної гіперкапічної гіпоксії у мишей масою 17-22 г. Тест ґрунтується на здатності засобів запобігати порушенню клітинного метаболізму та підвищувати резистентність організму тварин до кисневого голодування — гіпоксії, спричиненої недостатністю кисню в герметичній “замкнутій” камері [3]. Було сформовано 5 груп тварин по 8 у кожній. Досліджуваний комбінований засіб вводили відповідним групам тварин профілактично внутрішньошлунково в дозах 100 мг/кг, 150 мг/кг та 200 мг/кг. Препаратом порівняння стала бурштинова кислота (сер. 11207, виробник ТОВ “ЕЛІТ-ФАРМ”, м. Дніпропетровськ, Україна) в дозі 63 мг/кг протягом 4 діб та за 1 год до гіпоксії. Вказана доза перерахована з середньотерапевтичної дози для людини на дозу для тварин за методом Риболовлева Ю.Р. [5]. Тварини позитивного контролю одержували очищену воду в еквівалентному до засобів об'ємі. Тварин поміщали в герметичну камеру об'ємом 0,2 л та реєстрували час життя тварин у хвилинах до першого агонального вдоху. Антигіпоксичну активність (АГА) розраховували за статистично вірогідною різницею у тривалості життя дослідних і контрольних тварин за формулою та виражали в %:

Таблиця 1

Скринінгові дослідження антигіпоксичної дії таблеток “Апітар” на мишах в умовах “замкнутої” камери, n=8 ($\bar{X} \pm Sx$)

Групи	Позитивний контроль	Таблетки “Апітар”			Кислота бурштинова, 63 мг/кг
		100 мг/кг	150 мг/кг	200 мг/кг	
Термін життя тварин, хв	28,13±0,88	32,00±1,83	37,50±1,13*	31,63±1,66**	36,00±0,89*
АГА препаратів, %	—	14	33	12	28

Примітки: * — відхилення вірогідне щодо значень групи позитивного контролю, p<0,05;

** — відхилення вірогідне щодо значень групи препарату порівняння, p<0,05.

Таблиця 2

Динаміка маси (г) щурів при одноразовому внутрішньошлунковому введенні таблеток “Апітар” у дозі 5000 мг/кг, n=6 ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

Групи тварин	Вихідні дані	Через 3 дні, г	Через 7 днів, г	Через 14 днів, г
Негативний контроль	176±3	170±3	172±3	188±3
Таблетки “Апітар”	178±5	173±5	184±5**	198±6*

Примітки: * — відхилення достовірне щодо значень вихідних даних, p<0,05;

** — відхилення достовірне щодо значень групи негативного контролю, p<0,05.

$A(\%) = (T_d \times 100) / T_k - 100$, де: T_d — середнє значення тривалості життя тварин на тлі досліджуваного засобу, хв; T_k — середнє значення тривалості життя тварин у групі позитивного контролю, хв.

Одним з найважливіших етапів дослідження нових лікарських засобів є вивчення їх гострої токсичності, що дозволяє прогнозувати безпечність застосування лікарських засобів у клініці: встановити параметри гострої токсичності таблеток та виявити клінічні прояви за умов передозування. Дослідження гострої токсичності таблеток вивчали при внутрішньошлунковому шляху введення. В експерименті було використано 12 статевозрілих самців щурів масою тіла 160-180 г. Кожна експериментальна група налічувала 6 тварин.

Таблиця 3

Масові коефіцієнти внутрішніх органів щурів при вивченні гострої токсичності при внутрішньошлунковому введенні таблеток “Апітар” у дозі 5000 мг/кг, n=6 ($\bar{X} \pm Sx$)

Показники	Негативний контроль	Таблетки “Апітар”
Печінка	3,54±0,06	4,16±0,06**
Нирки	Права	0,35±0,01
	Ліва	0,36±0,01
Серце	0,32±0,00	0,34±0,01**
Легені	0,65±0,04	0,75±0,07
Селезінка	0,53±0,02	0,45±0,04
Наднирники	0,021±0,000	0,018±0,001**
Тимус	0,152±0,005	0,175±0,011
Сім'яники	Правий	0,73±0,02
	Лівий	0,73±0,03

Примітка. ** — відхилення достовірне щодо значень групи негативного контролю, p<0,05.

Термін спостереження за тваринами при вивченні гострої токсичності згідно з методичними рекомендаціями склав два тижні [3]. Отримані результати аналізували, використовуючи стандартний пакет програм “Statistica 6,0” [4]. Прийнятий рівень значущості p≤0,05.

Випробування на мікробіологічну чистоту проводили на кафедрі мікробіології Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора Дикого І.Л. Згідно з вимогами ДФУ [2] препарат в умовах випробувань антимікробної дії не проявляє.

Результати та їх обговорення

За результатами дослідження фармакологічної активності на моделі “замкнутої” камери (табл. 1) найбільш активною є доза 150 мг/кг, антигіпоксична активність у цій дозі становить 33%. Вона практично прирівнюється до активності БК у дозі 63 мг/кг, АГА якої становить 28%. Таблетки “Апітар” у дозах 100 мг/кг та 200 мг/кг проявили меншу активність — 12% та 14% відповідно. Препарат порівняння перевищує активність таблеток “Апітар” у найбільшій дозі більш ніж у 2,3 рази. Отже, внаслідок скринінгового дослідження антигіпоксичної активності таблеток “Апітар” встановлена найбільш ефективна доза препарату 150 мг/кг, яку використовували в подальших дослідженнях.

Як свідчать експериментальні дані, внутрішньошлункове введення таблеток “Апітар” у дозі 5000 мг/кг не викликає загибелі щурів.

Після внутрішньошлункового застосування таблеток в дозі 5000 мг/кг у щурів ознак інтоксикації не спостерігали: тварини були охайними, активними, мали задовільний апетит, реагували на звукові і світлові подразники, процеси сечовиділення і дефекації були в нормі, порушення дихання та

судом не спостерігали. Рефлекторна збудливість у всіх тварин була збережена. Після закінчення терміну спостереження (14 діб) було проведено розтин та макроскопічний огляд внутрішніх органів тварин, який не виявив візуальних змін з боку внутрішніх органів.

Аналіз динаміки маси тіла (табл. 2) показав, що в обох групах тварини набирали масу щодо вихідних даних в кінці експерименту, і лише достовірний приріст маси був відзначений у групі тварин, які отримували дозу 5000 мг/кг. Приріст маси у групі негативного контролю (НК), яка отримувала розчинник (очищену воду) в еквівалентному об'ємі, недостатній. Така динаміка вказує на відсутність токсичного впливу препарату на трофічні процеси.

Як виявилось (табл. 3), деякі масові коефіцієнти (МК) внутрішніх органів тварин зазнали вірогідних відхилень. Препарат чинить вплив на гіпофіз-адреналову систему — в субтоксичній дозі викликає виснаження надниркових залоз. Масові коефіцієнти печінки та серця вірогідно підвищилися відносно значень групи НК, але не виходять за норми фізіологічного стану тварин [8].

Результати вивчення гострої токсичності дозволяють віднести таблетки “Апітар” при внутрішньо-

шлунковому введенні до IV класу токсичності — до малотоксичних речовин ($LD_{50} > 5000$ мг/кг) [6].

На підставі проведених досліджень встановлено нормування мікробіологічної чистоти препарату. Відповідно до національної частини розділу 5.1.4 ДФУ I вид., таблетки “Апітар” нормують як готові лікарські засоби категорії ЗВ, тому що до складу препарату входить сировина тваринного походження, для якої попередня антимікробна обробка неможлива. Допускається наявність колонієутворюючих одиниць (КУО) життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^4 бактерій, не більше 10^2 грибів, не більше 10^2 ентеробактерій при відсутності бактерій *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г [2].

ВИСНОВКИ

1. Препарат у профілактичному режимі проявляє антигіпоксичну дію у дозі 150 мг/кг, підвищуючи виживаність тварин в умовах глобальної церебральної ішемії на 33%.

2. Препарат відноситься до IV класу токсичності речовин — малотоксичні речовини при внутрішньошлунковому шляху введення ($LD_{50} > 5000$ мг/кг).

3. Встановлено, що досліджуваний препарат відповідає вимогам ДФУ на препарати для внутрішнього застосування категорії ЗВ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Волошин О.І., Піщак О.В., Сенюк Б.П. та ін. // Ліки. — 1998. — №3. — С. 31-38.
2. Державна фармакопея України // Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. реком. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — С. 139-152, 74-97.
4. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — 2001. — 320 с.
5. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Докл. АН СССР. — 1979. — Т. 247, №6. — С. 1513-1516.
6. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. — М., 1973. — Вып. 13. — С. 47-57.
7. Тихонов А.И., Создавичный К., Тихонова С.А. и др. Пыльца цветочная (обножка пчелиная) в фармации и медицине. — Х.: Изд-во НФаУ; Оригинал, 2006. — 308 с.
8. Трахтенберг И.М., Сова Р.В., Шефтель В.О. Проблема нормы в токсикологии. — М.: Медицина, 1991. — 204 с.
9. Bonnet S., Belus A., Huyelin J.M. et al. // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. — 2001. — 281, №1. — P. L 193-201.
10. Waring C., Jamp D.R. Rafter // Beekeeping in Cambodia with *Apis dorsata*, *Bee world*. — 2004. — Vol. 85, №1. — P. 14-18.
11. Yarmykh T.G., Dankevich O.S., Kalinichenko T.V. Technology of a refinement the bee pollen // XL Nauk. konf. pszczelarska. — Pulawy, 2003. — P. 125-126.
12. Zhang I., Sener A., Malaisse W.I. // Arch. Biochem. and Biophys. — 1994. — Vol. 314, №1. — P. 186-192.

УДК 638.16:638.138.1:547.461.4

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТАБЛЕТОК “АПИТАР” И ИХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЧИСТОТА

А.И.Тихонов, А.Ю.Тимченко, С.А.Гращенко

Приведены результаты фармакологических исследований свидетельствуют, что наиболее активной является доза препарата 150 мг/кг, антигипоксическая активность в этой дозе составляет 33%. Результаты изучения острой токсичности позволяют отнести таблетки “Апітар” к IV классу токсичности. Испытания микробиологической чистоты доказывают, что таблетки по уровню микробной контаминации отвечают требованиям государственной фармакопеи Украины.

UDC 638.16:638.138.1:547.461.4

THE RESEARCH OF THE PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF APITAR TABLETS AND THEIR MICROBIOLOGICAL PURITY

A.I.Tikhonov, A.Yu.Timchenko, S.A.Grashchenkova

The results of the pharmacological research testify that the dose of the medicine of 150 mg/kg is the most active, the antihypoxic activity in this dose is 33%. The results of studying the acute toxicity allow to refer “Apitar” tablets to the IV class of toxicity. The microbiological purity tests have proven that the tablets meet the requirements of the Ukrainian State Pharmacopoeia by their level of microbic contamination.