

*В.Ю. Кузнєцова, В.С. Кисличенко, Ю.С. Колісник***ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГРИЦИКІВ ЗВИЧАЙНИХ****Національний фармацевтичний університет, м. Харків**

Вступ. В процесі скрінінгу біологічно активних речовин при вивченні фармакологічної активності і безпеки потенційних лікарських засобів неминує виникати необхідність оцінки їх класу токсичності. Клас токсичності біологічно активних сполук, поряд з іншими характеристиками, вносить вклад у прийнятті рішення про перспективність розробки потенційного лікарського препарату.

Мета. Вивчення гострої токсичності густого екстракту трави грициків звичайних, який за попереднім скрінінговими дослідженнями проявив високу гепатопротекторну, жовчогінну та кровоспинну активність.

Матеріали і методи. З метою визначення ЛД₅₀ та відтворення клініки гострого отруєння гостру токсичність густого екстракту з трави грициків звичайних (ГЕТГ) вивчали на щурах обох статей за умов одноразового внутрішньошлункового введення. Одразу після внутрішньошлункового введення ГЕТГ за тваринами проводили спостереження за проявами інтоксикації. По закінченні періоду спостережень (14 доба) тварин виводили з експерименту відповідно до норм та правил біоетики: щурів декапітували під легким формаліновим наркозом. Після чого було проведено макроскопічне дослідження внутрішніх органів. Крім того, проводили розтин, під час якого робили макроскопічний огляд внутрішніх органів та розраховували коефіцієнти маси тіла.

Результати. Комплекс проведених досліджень з вивчення гострої токсичності ГЕТГ дозволив встановити відсутність токсичної дії при одноразовому внутрішньошлунковому введенні шурам-самцям та шурам-самкам екстракту в дозі 5000 мг/кг, що свідчить про те що ЛД₅₀ знаходиться за межами 5000 мг/кг.

Висновки. Згідно з токсикологічною класифікацією речовин К.К. Сидорова ГЕТГ при внутрішньошлунковому введенні належить до V класу токсичності – практично нешкідливих речовин.

Ключові слова: густий екстракт, грицики звичайні, гостра токсичність.

Вступ. В процесі скрінінгу біологічно активних речовин при вивченні фармакологічної активності і безпеки потенційних лікарських засобів неминує виникати необхідність оцінки їх класу токсичності. Клас токсичності біологічно активних сполук, поряд з іншими характеристиками, вносить вклад у прийнятті рішення про перспективність розробки потенційного лікарського препарату. Визначення основного токсикологічного параметру (ЛД₅₀) дозволяє оцінити токсичність нових субстанцій у порівнянні з відомими аналогами, які знайшли широке застосування в медичній практиці.

Мета. Вивчення гострої токсичності густого екстракту трави грициків звичайних, який за попереднім скрінінговими дослідженнями проявив високу гепатопротекторну, жовчогінну та кровоспинну активність.

Матеріали і методи. З метою визначення ЛД₅₀ та відтворення клініки гострого отруєння гостру токсичність густого екстракту з трави грициків звичайних (ГЕТГ) вивчали відповідно до методичних рекомендацій ДЕЦ МОЗ України [2, 4] на щурах обох статей за умов одноразового

внутрішньошлункового введення. Значення доз обирали згідно з методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України. Згідно з методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України при виборі доз для внутрішньошлункового введення лімітуючим показником при визначенні гострої токсичності є максимальна доза четвертого класу токсичності (малотоксичні речовини) – 5000 мг/кг.

Зважаючи на вищенаведене для проведення дослідження нами була обрана доза ГЕТГ 5000 мг/кг, яку вводили одноразово внутрішньошлунково щурам самцям та самицях з масою тіла 180-200±20г. З метою диференціювання можливих токсичних властивостей біологічно активних речовин ГЕТГ та визначення їх впливу на організм щурів самців та самиць їх стан порівнювали з групами інтактних щурів обох статей, яким вводили розчинник в дозі 20 мл/кг. Відомо, що досліджуваний об'єкт є густим екстрактом і при приготуванні водного розчину необхідна достатня кількість розчинника. Виходячи з того, що за рекомендаціями максимально введений в шлунок щура обсяг рідини складає 4-5 мл, нами був використаний об'єм 20 мл/кг [1, 2, 4]. Одразу після внутрішньошлункового введення ГЕТГ за тваринами проводили спостереження за проявами інтоксикації. Оцінювали глибину та ритм дихання, наявність судом, рухову активність, офтальмологічні симптоми, серцево-судинні симптоми, саливацію, пілоерекцію, аналгезію, тонус м'язів, екскременти, блювання, діарею та станом шкіри (набряк, еритема). Доступ тварин до води вільний, до їжі – через 4 години [5]. За виживанням та клінічними ознаками спостерігали протягом 14 діб. Спостереження за масою тіла проводили перед початком досліду та у динаміці – на 3, 7 та 14 добу, за добовим споживанням кормів та води – на 7 та 14 добу.

По закінченні періоду спостережень (14 доба) тварин виводили з експерименту відповідно до норм та правил біоетики: щурів декапітували під легким формаліновим наркозом. Після чого було проведено макроскопічне дослідження внутрішніх органів: печінки, серця, легнів, нирок, наднирників, тимусу, яєчків, селезінки, яєчників, підшлункової залози, шлунка, стравоходу, порожньої кишки, прямої кишки. Визначення абсолютної маси внутрішніх органів для подальшого розрахунку масових коефіцієнтів (МК) за формулою:

$$MK_{органу} = \frac{m_{органу}}{M_{тварини}} \times 100\%$$

Весь фактичний матеріал оброблений методами варіаційної статистики (середнє значення та його стандартна похибка) з використанням параметричних (дисперсійний аналіз ANOVA та критерій Данета, рівень значущості $p < 0,05$) та непараметричних методів аналізу (критерій Крускала-Уоліса та Манна-Уїтні, рівень значущості $p < 0,0125$). Для отримання статистичних висновків використовували стандартний пакет програм STATISTICA (версія 6) [2,3].

Результати та їх обговорення. Результати дослідження гострої токсичності ГЕТГ при внутрішньошлунковому шляху введення представлені в таблицях 1 та 2. Після внутрішньошлункового введення ГЕТГ в максимальній дозі 5000 мг/кг ознак інтоксикації у тварин не спостерігали: тварини були охайними, активними, мали звичайний апетит, реагували на звукові і світлові

ФАРМХІМІЯ ТА ФАРМАКОГНОЗІЯ

позразки, процеси сечовиділення і дефекації були в нормі, порушення дихання та судом не спостерігали. Рефлекторна збудливість у всіх тварин була збережена. Споживання води та їжі у всіх дослідних тварин не відрізнялось від тварин групи негативного контролю.

Згідно з методикою вивчення гострої токсичності для оцінки токсичного впливу ГЕТГ на організм тварин проводили дослідження маси тіла тварин, результати якого представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Динаміка маси тіла тварин (г) після одноразового внутрішньошлункового введення ГЕТГ

Групи тварин	Термін спостереження			
	Вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
Самці				
Негативний контроль (розчинник)	207±4	218±5	230±4*	239±5*
Водний розчин ГЕТГ	208±6	220±7	230±7	243±7*
Самиці				
Негативний контроль (розчинник)	176±4	183±4	191±4	199±5*
Водний розчин ГЕТГ	177±4	183±3	188±3	201±4*

*Примітка: дисперсійний аналіз (ANOVA RM) та критерій Данета; * – відхилення вірогідні щодо вихідних значень, $p < 0,05$.*

У групі негативного контролю (НК) відмічали збільшення живої маси у щурів самців на 3, 7 та 15 добу відносно вихідних значень на 6%, 11% та 16% відповідно. У групі тварин, яким вводили водний розчин ГЕТГ маса тіла збільшувалася на 6%, 10% та 17% відповідно. Як видно з наведених даних приріст маси тіла у тварин відбувався рівномірно, відхилення між дослідними групами відсутні. Проведений статистичний аналіз за допомогою критерію Данета, як у групі НК виявив значущі відхилення стосовно вихідних даних на 7 і 15 добу, у групі ГЕТГ – на 15 добу, що вказує на нормалізацію метаболічних процесів. Отримані результати та обробка показників маси тіла у групах самиць не виявила значущих віджилень від групи НК. Приріст живої маси тварин у групі НК відбувався протягом усього періоду дослідження відносно вихідних даних на 4%, 9% та 13%, у групі, яким вводили водний розчин ГЕТГ – на 3%, 7% та 14%. Відхилення між дослідними групами відсутні. Аналогічно групам самців, статистичний аналіз також виявив значущі відхилення стосовно вихідних даних на 15 добу, як у групі НК, так і у групі ГЕТГ.

Після закінчення терміну спостереження (14 дів) тварин декапітували, проводили розтин, під час якого робили макроскопічний огляд внутрішніх

органів та витягали органи й зважували їх з метою подальшого розрахунку коефіцієнтів маси, які надано в таблиці 2. При дослідженні шкірного покриву, слизових оболонок природних отворів, під час розтину і огляду внутрішніх органів тварин, не було виявлено жодних ознак інтоксикації та проявів патологічних процесів. Розрахунок та наступний аналіз за допомогою критерію Мана-Уїтні показників масових коефіцієнтів внутрішніх органів тварин засвідчив, що застосування водного розчину ГЕТГ у дозі 5000 мг/кг не призвело до їх зміни порівняно з тваринами групи НК, як у самців, так і у самиць. Показники знаходяться в межах фізіологічної норми (табл. 2).

Таблиця 2

Масові коефіцієнти внутрішніх органів щурів після одноразового внутрішньошлункового введення густого екстракту трави грициків звичайних

Групи тварин	Масові коефіцієнти внутрішніх органів							
	печінка	нирки	серце	легені	селезінка	наднирки	тимус	яєчки
Самці								
Негативний контроль (розчинник)	3,40± 0,08	0,61± 0,02	0,30± 0,01	0,53± 0,02	0,41± 0,02	0,019± 0,001	0,13± 0,01	1,59± 0,16
ГЕТГ	3,20± 0,07	0,58± 0,01	0,30± 0,01	0,56± 0,03	0,39± 0,01	0,018± 0,001	0,11± 0,01	1,51± 0,07
Самиці								
Негативний контроль (розчинник)	3,75± 0,06	0,59± 0,02	0,33± 0,01	0,66± 0,04	0,44± 0,02	0,026± 0,002	0,15± 0,01	-
ГЕТГ	3,53± 0,08	0,60± 0,02	0,33± 0,02	0,69± 0,02	0,39± 0,03	0,026± 0,02	0,18± 0,02	-

Примітка: метод Крускала-Уоліса та критерій Мана-Уїтні, $p < 0,05$.

Отже, зважаючи на вищенаведені результати дослідження та на рекомендації ДЕЦ МОЗ України [1], встановлення середньолетальної дози ГЕТГ є неможливим, бо внутрішньошлункове введення максимально вводимі щурам дози 5000 мг/кг не викликало смерті або патологічних змін з боку функціонального стану організму щурів.

Висновки. Таким чином, комплекс проведених досліджень з вивчення гострої токсичності ГЕТГ дозволив встановити відсутність токсичної дії при одноразовому внутрішньошлунковому введенні щурам-самцям та щурам-самкам екстракту в дозі 5000 мг/кг, що свідчить про те що ЛД₅₀ знаходиться за межами 5000 мг/кг. Згідно з токсикологічною класифікацією речовин К.К.Сидорова [6] ГЕТГ при внутрішньошлунковому введенні належить до V класу токсичності – практично нешкідливих речовин.

Література

1. Вивчення гострої та хронічної токсичності індолінорену / Т.І. Тюпка, А.Ю. Маркіна, Н.М. Кононенко, С.В. Колісник // Український біофармацевтичний журнал. – 2011. - №4 (15). – С. 20-23.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
3. Зайцев В.М. Прикладная медицинская статистика. – С. Пб.: ФОЛІАНТ, 2003. – 429 с.
4. Наказ МОЗ України від 14.12.2009 р. №944 «Про затвердження до клінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів».
5. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожемякін, О.С.Хромов, М.О. Філоненко. – К.: Авіцена, 2002. – 156 с.
6. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. – М., 1973. – Вып. 13. – С. 47-67.

В.Ю. Кузнєцова, В.С. Кисличенко, Ю.С. Колесник

Изучение острой токсичности густого экстракта травы пастушьей сумки

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Введение. В процессе скрининга биологически активных веществ при изучении фармакологической активности и безопасности потенциальных лекарственных средств неизбежно возникает необходимость оценки их класса токсичности. Класс токсичности биологически активных соединений, наряду с другими характеристиками, вносит вклад в принятии решения о перспективности разработки потенциального лекарственного препарата.

Цель. Изучение острой токсичности густого экстракта травы пастушьей сумки, который по предварительным скрининговым исследованиями проявил высокую гепатопротекторную и желчегонную активность.

Материалы и методы. С целью определения ЛД₅₀ и воспроизведения клиники острого отравления острую токсичность густого экстракта травы пастушьей сумки (ГЭТПС) изучали на крысах обоих полов в условиях однократного внутрижелудочного введения. Сразу после внутрижелудочного введения ГЭТПС за животными проводили наблюдения за проявлениями интоксикации. По окончании периода наблюдений (14 суток) животных выводили из эксперимента в соответствии с нормами и правилами биоэтики: крыс декапитировали под легким формалиновым наркозом. После чего было проведено макроскопическое исследование внутренних органов. Кроме того, проводили вскрытие, во время которого делали макроскопический осмотр внутренних органов и рассчитывали коэффициенты массы тела.

Результаты. Комплекс проведенных исследований по изучению острой токсичности ГЭТПС позволил установить отсутствие токсического действия при однократном внутрижелудочном введении крысам-самцам и крысам-самкам экстракта в дозе 5000 мг/кг, что свидетельствует о том, что ЛД₅₀ находится за пределами 5000 мг/кг.

Выводы. Согласно токсикологической классификации веществ К.К. Сидорова ГЭТПС при внутрижелудочном введении относится к V класса токсичности - практически безвредных веществ.

Ключевые слова: густой экстракт, пастушья сумка обыкновенная, острая токсичность.

V. Kuznietsova, V. Kyslychenko, Yu. Kolisnyk
Studying of acute toxicity of shepherd's purse herb thick extract
National University of Pharmacy, Kharkiv

Introduction. Evaluation of toxicity and safety class is required for screening biological active substances.

The aim. Investigation of acute toxicity of the of Shepherd's purse herb thick extract, which according to preliminary screening studies showed high hepatoprotective, choleretic and hemostatic activity.

Materials and methods. LD50 of Shepherd's purse thick extra was determined in rats of both sexes in a single intragastric administration of thick extract. At the end of the observation period (14 days) the animals were taken out of the experiment in accordance with the rules and regulations of bioethics: the rats were decapitated under light formalin anesthesia. In addition, an autopsy was performed, macroscopic examination of internal organs was conducted and body mass index was calculated.

Results. The Shepherd's purse herb thick extract does not have any toxic effects in single intragastric administration in a dose of 5000 mg/kg, which evidences that LD50 is more than 5000 mg/kg.

Conclusion. It has been established that according to classification by Sidorov's Shepherd's purse herb thick extract refers to toxicity class V (virtually harmless substances).

Key words: thick extract, Shepherd's purse, acute toxicity.

Відомості про авторів:

Кисличенко Вікторія Сергіївна – д. фарм. н., професор, завідувач кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету. Адреса: Харків, вул. Пушкінська, 53, тел.: (057) 706-30-74.

Кузнєцова Вікторія Юрїївна – к. фарм. н., доцент кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету. Адреса: Харків, вул. Пушкінська, 53, тел.: (057) 706-30-74.

Колісник Юлія Сергіївна – аспірант кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету. Адреса: Харків, вул. Пушкінська, 53, тел.: (057) 706-30-74.

УДК:615.32:615.254.1

© КОЛЕКТИВ АВТОРІВ, 2015

¹О.Л. Левашова, ²В.П. Гапоненко, ²В.В. Машталер

ПОЛІФЕНОЛЬНІ СПОЛУКИ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ
HYPERICUM L. – ПЕРСПЕКТИВНЕ ДЖЕРЕЛО
ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

¹Харківський національний медичний університет, м. Харків,

²Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Вступ. Значна кількість видів рослин флори України, які здавна застосовуються в народній медицині, вимагає визначення вмісту в них біологічно активних речовин, вивчення їх природних запасів, ареалу. До таких рослин можна віднести представників роду *Hypericum* L.

Мета. Вивчення якісного складу, кількісного вмісту та фармакологічної активності поліфенольних комплексів (ПФК), отриманих із трави звіробою звичайного (*Hypericum perforatum* L.) і звіробою плямистого (*Hypericum maculatum* Grants.).

Матеріали та методи. Для аналізу використовували субстанції поліфенольних комплексів звіробою звичайного та звіробою плямистого. Вивчення якісного складу та