

УДК 615.015.35:615.322:613.73:638.16:615.214.24

О. С. ШПИЧАК, Л. В. ЯКОВЛЄВА, О. М. ШАПОВАЛ

Національний фармацевтичний університет

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ НОВОГО СЕДАТИВНОГО АПІФІТОПРЕПАРАТУ «АПІСЕД»

Проведено дослідження з вивчення безпечності нового апіфітопрепарату капсул «Апісед» шляхом визначення LD_{50} в процесі вивчення гострої токсичності. Встановлено, що після одноразового внутрішньошлункового введення щуром обох статей капсул «Апісед» в дозі 5000 мг/кг ознак інтоксикації та загибелі тварин не зареєстровано, що не дозволяє встановити середньолетальну дозу LD_{50} та свідчить про те, що її значення знаходиться далеко за межами дози 5000 мг/кг. Згідно з токсикологічною класифікацією капсули «Апісед» при внутрішньошлунковому введенні належать до V класу токсичності – практично нешкідливих речовин. Встановлено в умовах застосування нового апіфітопрепарату капсул «Апісед» в дозі 5000 мг/кг, яка майже у 100 разів перевищує терапевтичну (60 мг/кг), що вони мають високий профіль безпечності і широкі можливості застосування в медичній практиці і є перспективними для впровадження в медичну, в тому числі й спортивну, практику та виробництво.

Ключові слова: безпечність, рослинні лікарські засоби, спортивна медицина, продукти бджільництва, капсули «Апісед», гостра токсичність, седативна дія.

ВСТУП

Сучасні темпи життя потребують від людини значного фізичного, емоційного та психологічного напруження, що негативно відображається на стані центральної нервової системи (ЦНС) та може призвести до розладу її діяльності [5, 18, 19]. Такі розлади потребують профілактики та фармакокорекції за допомогою заспокійливих та седативних лікарських засобів, в числі яких вагомим місцем займають апіфітопрепарати [2, 10, 14, 20, 21, 23].

Перевага препаратів природного та рослинного походження над синтетичними полягає у відсутності або мінімізації в їх фармакодинаміці небажаних побічних ефектів, що тим самим відкриває можливості до їх широкого використання в медичній практиці [1, 15, 17, 22]. Однак слід відзначити, що на фармацевтичному ринку України номенклатура природних та рослинних лікарських засобів із заспокійливими й седативними властивостями в компласентних лікарських формах є недостатньою або обмеженою, що стимулює пошук, розробку та впровадження у виробництво нових лікарських засобів даної групи у відповідних лікарських формах.

З метою розширення номенклатури вітчизняних заспокійливих та седативних препаратів природного та рослинного походження на кафедрі аптечної технології ліків ім. Д.П. Сала Національного фармацевтичного університету (НФаУ) було обґрунтовано раціональний склад та розроблено технологію нового комбінованого апіфітопрепарату у формі капсул під умовною назвою «Апісед», на основі стандартизованої субстанції меду натурального порошкоподібного (*Honey is natural powdery*) та лікарської рослинної сировини: трави меліси лікарської (*Herbae Melissa officinalis L.*), шишок хмелю звичайного (*Flos Humuli Lupuli L.*) та суцвіть лаванди вузьколистий (*Flores Lavandulae angustifolia Mill.*). Попередніми дослідженнями було встановлено седативну, слабку снодійну та анксиолітичну дію капсул «Апісед» [12]. Але для остаточної оцінки широти фармакологічної дії нового розробленого препарату необхідні дані щодо безпечності капсул «Апісед», оскільки, чим більша ефективність та нешкідливість препарату, тим ширшими є його можливості застосування в медичній практиці.

Зважаючи на вищевикладене, метою даної роботи є вивчення безпечності капсул «Апісед» шляхом визначення показника LD_{50} в процесі вивчення гострої токсичності, що дасть змогу оцінити широту його терапевтичної дії та спів-

відношення «шкідливість/нешкідливість» в умовах застосування лікарського засобу в дозах, що у декілька десятків та сотень разів перевищують терапевтичну [4].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Визначення гострої токсичності капсул «Апісед» проводили на базі Центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ під керівництвом д.ф.н., проф. Яковлевої Л.В. З метою визначення середньолетальної дози LD_{50} та відтворення клініки гострого отруєння, гостру токсичність капсул «Апісед» вивчали відповідно до вказівок методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України [4] на щурах обох статей за умов одноразового внутрішньошлункового введення. Шлях введення було обрано згідно із запропонованою лікарською формою – капсули. Згідно з методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України [4] при виборі доз для внутрішньошлункового введення лімітуючим показником у ході визначення LD_{50} є максимальна доза четвертого класу токсичності (малотоксичні речовини) – 5000 мг/кг. Якщо за цих умов при введенні тваринам зазначеної дози не відбувається їх загибель, введення більшої дози є не доцільним.

Отже, для проведення досліджень нами була обрана доза капсул «Апісед» – 5000 мг/кг, яку вводили одноразово внутрішньошлунково щурам самцям та самкам з масою тіла 180-200±20 г. Експериментальних тварин було рандомізовано на групи, які представлені в табл. 1.

Таблиця 1

РАНДОМІЗАЦІЯ ЩУРІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ ПО ВИВЧЕННЮ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ КАПСУЛ «АПСЕД»

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Кількість щурів	
		самці	самки
Інтактний контроль (ІК)	–	6	6
Капсули «Апісед»	5000,0	6	6

Після введення препарату за тваринами спостерігали протягом 14 днів та оцінювали їх загальний стан, летальність, динаміку маси тіла, а по закінченні досліджу після виведення тварин з експерименту, евтаназією під ефірним наркозом проводили макроскопічний огляд внутрішніх органів та визначали їх масу, що в свою чергу дало змогу розрахувати інтегральний показник – масовий коефіцієнт внутрішніх органів [4, 13].

Під час експерименту тварини знаходилися у віварії при природному світловому режимі «день-ніч» за температурних умов 18-24 °С та відносній вологості 50-60 %. Щурів утримували у пластикових клітках на збалансованому харчовому

раціоні відповідно до діючих норм. Дослідження проводились відповідно до Національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) [3, 4, 7, 16].

Отримані експериментальні дані статистично обробляли методом варіаційної статистики за допомогою стандартного пакету статистичної програми «Statistica 6.0» [11]. При застосуванні метода математичної статистики був прийнятий рівень значущості $p < 0,05$. Для отримання достовірно статистичних висновків при порівнянні статистичних вибірок відносних перемінних, після того, як однофакторний дисперсійний аналіз (або дисперсійний аналіз для експериментів з даними, які повторюються «ANOVA»/«MANOVA») виявив відмінності між експериментальними групами, для оцінки внутрішньогрупової дисперсії використовували дисперсійний аналіз із застосуванням параметричного критерію Ньюмена-Кейлса [6, 8, 9, 11].

Результати експериментальних досліджень наведені в табл. 2-6.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В процесі аналізу результатів експериментального дослідження по вивченню гострої токсичності капсул «Апісед» встановлено, що після одноразового внутрішньошлункового введення тваринам групи ІК питної води та піддослідної групи капсул «Апісед» в дозі 5000 мг/кг (табл. 2) ознак інтоксикації в день введення та протягом 14 дб поспіль у щурів обох статей не виявлено: тварини залишалися охайними, активними, реагували на звукові та світлові подразники, процеси сечовиділення і дефекації були в нормі, порушення дихання та судом не спостерігалось, рефлекторна збудливість була збережена.

Таблиця 2

ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ КАПСУЛ «АПСЕД» ПРИ ОДНОРАЗОВОМУ, ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОМУ ВВЕДЕННІ БІЛИМ ЩУРАМ ОБОХ СТАТЕЙ

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Спостережуваний ефект, кількість загиблих тварин/ загальна кількість тварин у групі	
		Самці	Самки
ІК	–	0/6	0/6
Капсули «Апісед»	5000,0	0/6	0/6

Таблиця 4

**МАСОВІ КОЕФІЦІЄНТИ
ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ
ЩУРІВ-САМЦІВ ПРИ ОДНОРАЗОВОМУ
ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОМУ ВВЕДЕННІ
ПРИ ВИВЧЕННІ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ
КАПСУЛ «АПІСЕД»**

Споживання води та їжі щурами обох дослідних груп знаходилось в нормі. Загибелі тварин протягом усього періоду спостереження не зареєстровано (табл. 2).

Для оцінки токсичного впливу капсул «Апісед» на організм проводили дослідження динаміки маси тіла дослідних тварин (табл. 3) [4], аналіз результатів якого засвідчує, що у щурів обох статей після одноразового внутрішньошлункового введення капсул «Апісед» та у групах інтактних тварин протягом терміну спостереження відбувається фізіологічне збільшення маси тіла достовірно відносно вихідних даних (табл. 3).

Під час розтину всі тварини мали охайний шерстний покрив та незмінені слизові оболонки природних отворів. В процесі макроскопічного огляду внутрішніх органів та систем організму тварин встановлено, що всі вони не мали відмінностей від фізіологічної норми.

Аналіз наведених в табл. 4 та 5 даних масових коефіцієнтів внутрішніх органів щурів самців і самок після одноразового внутрішньошлункового введення капсул «Апісед» та у групах інтактних тварин, свідчить про відсутність патологічних змін у функціональному стані дослідних тварин у порівнянні з інтактними (табл. 4 і 5).

Отже, вищенаведені результати проведених досліджень з урахуванням методичних рекомендацій ДЕЦ МОЗ України [4] свідчать про те, що встановлення середньолетальної дози ЛД₅₀ капсул «Апісед» є неможливим, оскільки внутрішньошлункове введення максимально введеної щурам дози 5000 мг/кг не викликало загибелі тварин та патологічних змін з боку функціонального стану організму щурів (табл. 2-5).

Умови досліджу		ІК	Капсули «Апісед»
Печінка		3,63±0,010	3,57±0,020
Нирки	права	0,31±0,010	0,31±0,010
	ліва	0,31±0,010	0,31±0,010
Серце		0,36±0,010	0,36±0,010
Легені		0,75±0,010	0,75±0,020
Селезінка		0,37±0,020	0,37±0,020
Наднирники		0,029±0,001	0,030±0,001
Тимус		0,132±0,009	0,112±0,010
Сім'яники	правий	0,54±0,010	0,56±0,010
	лівий	0,55±0,010	0,57±0,010

Таблиця 5

**МАСОВІ КОЕФІЦІЄНТИ ВНУТРІШНІХ
ОРГАНІВ ЩУРІВ-САМОК
ПРИ ОДНОРАЗОВОМУ,
ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОМУ ВВЕДЕННІ
ПРИ ВИВЧЕННІ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ
КАПСУЛ «АПІСЕД»**

Умови досліджу		ІК	Капсули «Апісед»
Печінка		2,96±0,060	2,86±0,140
Нирки	права	0,28±0,010	0,28±0,010
	ліва	0,27±0,010	0,27±0,010
Серце		0,30±0,010	0,30±0,010
Легені		0,69±0,030	0,73±0,050
Селезінка		0,39±0,030	0,39±0,020
Наднирники		0,032±0,002	0,028±0,001
Тимус		0,109±0,009	0,114±0,016

Таблиця 3

**ДИНАМІКА МАСИ ТІЛА ЩУРІВ ОБОХ СТАТЕЙ ПРИ ОДНОРАЗОВОМУ
ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОМУ ВВЕДЕННІ ПРИ ВИВЧЕННІ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ
КАПСУЛ «АПІСЕД»**

Умови досліджу	Вихідні дані	3 доби, г	7 діб, г	14 діб, г
Самці				
ІК	202,5±3,82	205,0±2,89	211,7±1,67	221,7±1,67*
Капсули «Апісед»	205,0±4,47	208,3±3,57	217,5±2,50	227,5±2,50*
Самки				
ІК	200,0±5,33	200,8±4,55	206,7±3,33	217,5±3,10*
Капсули «Апісед»	210,0±4,65	210,8±3,96	215,8±3,52	218,3±3,57**

Примітки: * – відхилення показника достовірно щодо вихідних даних, p≤0,05; ** – відхилення показника прямує до вірогідного щодо вихідних даних, P>0,05.

Таким чином, проведеними дослідженнями з вивчення гострої токсичності нового лікарського апіфітопрепарату капсул «Апісед» встановлена відсутність його токсичної дії при одноразовому внутрішньошлунковому введенні щурам-самцям та щурам-самкам в дозі 5000 мг/кг, що переконливо свідчить про те, що середньолетальна доза ЛД₅₀ знаходиться за межами введеної тваринам дози – 5000 мг/кг. Це дає змогу дійти обґрунтованого висновку про те, що згідно з токсикологічною класифікацією речовин К.К. Сидорова [4] капсули «Апісед» при внутрішньошлунковому введенні належать до V класу токсичності – практично нешкідливих речовин (табл. 6).

Таблиця 6

**ПАРАМЕТРИ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ
КАПСУЛ «АПІСЕД» ПРИ ОДНОРАЗОВОМУ
ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОМУ
ВВЕДЕННІ ЩУРАМ ОБОХ СТАТЕЙ**

Препарат	ЛД ₅₀ , мг/кг	Клас токсичності
Капсули «Апісед»	> 5000	V практично нешкідливі речовини (ЛД ₅₀ > 5000 мг/кг)

ВИСНОВКИ

1. Проведено дослідження по вивченню гострої токсичності та експериментально обґрунтовано безпечність нового седативного апіфітопрепарату «Апісед» седативної дії у формі капсул.
2. Встановлено, що після одноразового внутрішньошлункового введення тваринам групи інтактного контролю та піддослідної групи капсул «Апісед» в дозі 5000 мг/кг, ознак інтоксикації та загибелі тварин протягом періоду спостереження не зареєстровано, що не дає можливості встановити середньолетальну дозу ЛД₅₀ для досліджуваного препарату.
3. Згідно з токсикологічною класифікацією речовин К.К. Сидорова капсули «Апісед» (ЛД₅₀ > 5000 мг/кг) при внутрішньошлунковому введенні належать до V класу токсичності – практично нешкідливих речовин.
4. Встановлено в умовах застосування нового апіфітопрепарату капсул «Апісед» в дозі 5000 мг/кг, що майже у сто разів перевищують терапевтичну (60 мг/кг), що вони мають високий профіль безпечності і широкі можливості застосування в медичній практиці, в тому числі й в спортивній медицині, а також є перспективними для впровадження у виробництво.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Волошин О. І. Ліки рослинного походження: сучасні тенденції у вітчизняній та світовій клінічній медицині і фармації / О.І. Волошин, О.В. Пішок, Л.О. Волошина // Фітотерапія. – 2003. – № 3. – С. 3-7.
2. Воробьева О. В. Применение комбинированных растительных препаратов при тревожных расстройствах / О. В. Воробьева, Е. С. Акарачкова // Фарматека. – 2007. – № 7 (142). – С. 47–50.
3. Западнюк И. П. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, С. А. Захария. – К.: Вища школа, 1983. – 552 с.
4. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рек.] / В. М. Коваленко, О. В. Стефанов, Ю. М. Максимов, І. М. Трахтенберг / за ред.: член-кор. АМН України О. В. Стефанова // – К.: Авіцена, 2001. – С. 74–97.
5. Костюченко С.И. Эпидемиология психического здоровья в Украине / С.И. Костюченко // Нейронews. – 2008. – №2. – С. 9-13.
6. Лапач С. Н. Статистические методы в микро-биологических исследованиях с использованием Excel. / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабиц. – 2-е изд., перераб. и доп. – К.: МОРИОН, 2001. – 408 с.
7. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова]. – К.: Авіцена, 2002. – 156 с.
8. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов.: [Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ]. / Под ред. чл.-корр. РАМН, проф. Р.У. Хабриева – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – С. 763-826.
9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2006 – 312 с.
10. Фролов В. М. Продукты пчеловодства при синдроме хронической усталости / В. М. Фролов, Н. А. Пересадин // Пчеловодство. – 2006. – № 8. – С. 57-58.
11. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных: учебник. – 3-е изд. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.

12. Шпичак О. С. Експериментальне обґрунтування використання капсул «Апісед» як седативного лікарського засобу в період відновлення працездатності спортсменів / О. С. Шпичак, Л. В. Яковлева, О. М. Шаповал // Український біофармацевтичний журнал. – 2012. – № 5-6 (22-23). – С. 78-83.
13. Эвтаназия экспериментальных животных: [метод. реком. по выведению животных из эксперимента]. – М.: Медицина, 1985. – 13 с.
14. CNS acetylcholine receptor activity in European medicinal plants traditionally used to improve failing memory / G. Wake, J. Court, A. Pickering, R. Lewis [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 2000. – Vol. 64, № 2. – P. 105-114.
15. Braun L., Herbs and natural supplements: An Evidence-based Guide / L. Braun, M. Cohen // 2nd Edition. Marrickville NSW: Elsevier, 2007. – 567 p.
16. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of European. – Strasbourg, 1986. – № 123. – 51 p.
17. Hanson B.A. Understanding medicinal plants their chemistry and therapeutic action. – New York, London, Oxford: The Haworth Press. – 2005. – 307 p.
18. Klein D. Therapeutic alliance in depression treatment: controlling for prior change and patient characteristics / D. Klein, J. Schwartz, N. Santiago // J. Consult. Clin. Psychol. – 2003. – Vol. 71(6). – P. 997-1006.
19. Konareva I. N. Influence of sedative vegetable preparations on emotional sphere of the person / I. N. Konareva // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – Vol. 22 (61), – № 2. – P. 67-71.
20. Kurkin V. A. Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural analysis, and biological activity / V. A. Kurkin // Chemistry of Natural Compounds. – 2003. – Vol. 39, № 2. – P. 123-153.
21. Pharmacological studies on the sedative-hypnotic effect of Semen Ziziphi spinosae (Suanzaoren) and Radix et Rhizoma Salviae miltiorrhizae (Danshen) extracts and the synergistic effect of their combinations / X. Sh. Fang, J. F. Hao, H. Y. Zhou [et al.] // Phytomedicine. – 2010. – Vol. 17. – P. 75-80.
22. Philips G. Standardization Techniques for Herbal Medicines. Enough techniques (too) many different plants. A joint symposium of the sections for Medicinal and Aromatic Plants, and Laboratories and Medicines Control Services / G. Philips // Int. Pharmacy Journ. – 2002. – Vol. 16, № 2. – P. 18-19.
23. Spinella M. The importance of pharmacological synergy in psychoactive herbal medicines / M. Spinella // Altern. Med. Rev. – 2002. – № 7(2). – P. 130-137.

УДК 615.015.35:615.322:613.73:638.16:615.214.24

О. С. Шпичак, Л. В. Яковлева, О. Н. Шаповал

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ**НОВОГО СЕДАТИВНОГО АПИФИТОПРЕПАРАТА «АПИСЕД»**

Проведено исследование по изучению безопасности нового апифитопрепарата капсул «Аписед» путем определения LD_{50} в процессе изучения острой токсичности. Установлено, что после однократного внутривентриального введения крысам обоих полов капсул «Аписед» в дозе 5000 мг/кг признаков интоксикации и гибели крыс не зарегистрировано, что не позволяет установить среднелетальную дозу LD_{50} и свидетельствует о том, что ее значение лежит далеко за пределами 5000 мг/кг. Согласно токсикологической классификации капсулы «Аписед» при внутривентриальном введении принадлежат к V классу токсичности – практически нетоксичным веществам. В условиях применения нового апифитопрепарата капсул «Аписед» в дозе 5000 мг/кг, которая почти в 100 раз превышает терапевтическую (60 мг/кг), установлено, что они имеют высокий профиль безопасности и широкие возможности применения в медицинской практике и являются перспективными для внедрения в медицинскую, в том числе и спортивную практику и производство.

Ключевые слова: безопасность, растительные лекарственные средства, спортивная медицина, продукты пчеловодства, капсулы «Аписед», острая токсичность, седативное действие.

UDK 615.015.35:615.322:613.73:638.16:615.214.24

O. S. Shpychak, L. V. Iyakovleva, O. N. Shapoval

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF A SAFETY OF**A NEW SEDATIVE APIFITODRUG «APISED»**

Studied the safety of a new apiphytodrug capsules «Apised» by determining the LD_{50} in the study of acute toxicity. Found that after a single intrastomach administration to rats of both sexes capsules «Apised» in a dose of 5000 mg/kg, signs of intoxication and death of rats not have been reported. It is not possible to establish the LD_{50} dose, and shows that its value is far beyond the 5000 mg/kg. According to the toxicological classification capsules «Apised» with intrastomach administration are V toxicity class-practically non-toxic substances. Set new standards in the use apiphytodrug dose of 5000 mg/kg, which is almost 100 times the therapeutic (60 mg/kg), the capsules «Apised» have a high safety profile and wide range of use in medicine and are promising for the implementation of the medical and sports practice and production.

Key words: safety, herbal medicines, sports medicine, bee products, capsules «Apised», the acute toxicity, the sedative effect.

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53
Кафедра аптечної технології ліків
ім. Д.П. Сала НФаУ
Тел. (0572) 67-91-84, (050) 400-75-82.
E-mail: shpichak_oleg@ukr.net

Надійшла до редакції:
01.04.2013