УДК 615.451.16:582.883.24

І. Л. ДЯЧОК, О. Р. ПІНЯЖКО, д-р мед. наук, проф.,
О. Л. ІВАНКІВ, канд. мед. наук, доцент
Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

ДОСЛІДЖЕННЯ ХРОНІЧНОЇ ТОКСИЧНОСТІ КОМПЛЕКСНОГО ФІТОПОЛІЕКСТРАКТУ СЕДАТИВНОЇ ДІЇ

Ключові слова: фітополіекстракт, лікарська рослинна сировина, токсичність, пероральне введення, щури

I. L.Dyachok, O. R.Pinyazhko, O. L. Ivankiv
Danylo Halytsky Lviv National Medical University

CHRONIC TOXICITY TESTING COMPLEX PHYTOPOLIEXTRACTION OF SEDATIVE ACTION

Key words: phytopoliextraction, medical plants, acute toxicity, single oral administration, rats

На сьогодні чітко відслідковується тенденція до зростання рівня психопатологічних розладів, зокрема психогенних невротичних уражень. Такий стан потенціюють різноманітні соціально-психологічні та біологічні фактори, а саме: соціально-економічні проблеми, глобальний інформаційний бум, екологічні проблеми, погіршення якості життя. Всі ці явища сприяють виникненню депресивних станів, які супроводжуються такою симптоматикою, як підвищена втомлюваність, зниження працездатності, дратівливість, тривога, втрата інтересів, розлад сну. Незважаючи на те, що більшість зазначених симптомів не має чітко вираженої нозологічної картини, дослідження та створення лікарських засобів для профілактики та лікування цієї симптоматики є актуальним завданням фармакології.

Найоптимальнішим вирішенням цієї проблематики є седативні засоби рослинного походження. Зацікавленість у таких препаратах зі сторони лікарів та пацієнтів зумовлена тим, що практично виключає можливість передозування. Для лікування таких патологій сьогодні застосовують препарати на основі лікарської рослинної сировини в комплексі зі синтетичними субстанціями, іноді вітамінами [1, 2, 3]. Відомі препарати лише на основі рослинної сировини є багатокомпонентними та громіздкими під час виготовлення та стандартизації. Фармакоекономіка таких препаратів потребує вдосконалення. Дослідження та розроблення простіших за складом, одночасно не менш ефективних седативних засобів із дозволеної до застосування вітчизняної лікарської рослинної сировини є важливим завданням.

Одним із можливих складів є комплексний фітополіекстракт, до складу якого входять дозволені до медичного застосування лікарські рослини (корені і кореневища валеріани, плоди глоду, трава звіробою, листя м’яти перцевої, шишки хмелю, плоди калини). Рідкий поліекстракт містить до 35% спирту етилового. Отже, доцільним є проведення комплексу фармакологічних досліджень, серед яких важливе значення має визначення хронічної токсичності.

Завдання нашої роботи полягає у визначенні деяких параметрів хронічної токсичності комплексного фітополіекстракту в експерименті на щурах за перорального введення.

Матеріали та методи дослідження

Об’єктом дослідження є стандартизований комплексний фітополіекстракт, до складу якого входять дозволені до медичного застосування лікарські рослини (корені та кореневища валеріани, плоди глоду, трава звіробою, листя м’яти перцевої,

© Колектив авторів, 2017

шишки хмелю, плоди калини) у рівних співвідношеннях [4]. За власними даними фармакологічних досліджень фітополіекстракт має седативну дію та належить до нетоксичних речовин (V клас токсичності).

Дослідження здійснювали з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, яких використовують в експериментах та в інших наукових цілях, від 18 березня 1986 р., Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, яких використовують для наукових цілей, наказу Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 р. № 944 «Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» та Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Тварин, залучених до експерименту, утримували в стандартних умовах віварію за температури повітря 22–24 ºС та відносної вологості повітря 50–70% із вільним доступом до корму та води. Групи тварин формували за методом рандомізації. Період карантину та акліматизації тривав 7 діб. План експерименту схвалений Комітетом із біоетики Львівського Національного медичного університету імені Данила Галицького, усі процедури, пов'язані з гуманним поводженням із тваринами, дотримано.

Дослідження з вивчення хронічної токсичності комплексного фітополіекстракту виконували на нелінійних статевозрілих щурах вихідною масою 135–160 г. Хронічну токсичність оцінювали за щоденного перорального введення в дозах 1,0 мл/кг (ефективна доза) і 5,0 мл/кг (1/2 від максимально випробуваної в дослідах із вивчення гострої токсичності) упродовж двох місяців. Враховуючи наявність у препараті спирту етилового, контролем слугували щури, які отримували 5 мл/кг спирту етилового 35%-го. Одержані результати порівнювали з показниками інтактних тварин (інтактний контроль). У кожній експериментальній групі було по 10 тварин (5 самців і 5 самок).

Для визначення параметрів хронічної токсичності використовували фізіологічні показники життєдіяльності та біохімічні показники. Фізіологічні методи дослідження включали спостереження за поведінковими реакціями, загальним станом, споживанням їжі та води, реєстрацією динаміки ваги тварин, функціонального стану центральної нервової системи. Оцінювання впливу фітополіекстракту на стан ЦНС щурів здійснювали методом «відкритого поля» [5]. Достовірність одержаних результатів оцінювали за критерієм Стьюдента [6] при рівні значущості 95% ($p \leq 0{,}05$).

Результати дослідження та обговорення

У результаті виконаних досліджень встановлено, що тривале введення фітополіекстракту не змінює поведінкових реакцій щурів. За введення фітополіекстракту під час експериментів у тварин дослідних груп спостерігали природну зворотню реакцію. Стан шкірних покривів, слизових оболонок, споживання їжі та води у дослідних тварин та тварин контрольної груп не відрізнялися від інтактних тварин. У самок усіх груп патологічних виділень і видимих відхилень слизової піхви не спостерігали.

До кінця експерименту тварини всіх експериментальних груп мали достовірну прибавку ваги (табл. 1). Однак, у самців щурів, які отримували фітополіекстракт, прибавка ваги через 2 місяці становила 25% (доза 1 мл /кг) і 37% (доза 5 мл/кг). При цьому інтактні самці прибавили у вазі на 21,6%, а ті, що одержували спирт, – на 10,0%. У самок контрольної групи і самок, які отримували фітополіекстракт в дозі 1 мл/кг, збільшення ваги в середньому становило 13–14%, тоді як за введеня фітополіекстракту в дозі 5 мл/кг прибавка ваги становила значно більше – до 31%.

Таблиця 1

Зміна ваги тіла щурів за хронічного впливу фітополіекстракту

Групи тварин	Період спостереження	Маса щурів, г	
		Самці	Самки
Інтактний контроль	Вихідні дані	153,13 ± 2,98	147,50 ± 6,12
	2 тижні	158,75 ± 2,45	158,13 ± 6,05
	1 місяць	185,60 ± 4,86[1]	173,13 ± 7,50[1]
	2 місяці	186,25 ± 5,81[1]	168,75 ± 8,60
Контроль (спирт етиловий 35%-й)	Вихідні дані	143,75 ± 1,83	151,25 ± 4,79
	2 тижні	136,25 ± 4,09[2]	126,88 ± 4,53[1, 2]
	1 місяць	162,50 ± 3,54[1, 2]	160,00 ± 8,07
	2 місяці	158,75 ± 4,41[1, 2]	171,88 ± 7,90[1]
Фітополіекстракт, доза 1 мл/кг	Вихідні дані	155,00 ± 5,09	139,40 ± 4,27
	2 тижні	146,25 ± 4,41[2]	137,50 ± 4,23[2]
	1 місяць	181,90 ± 5,50[1, 3]	157,50 ± 5,59[1]
	2 місяці	198,10 ± 5,08[1, 3]	157,50 ± 6,61[1]
Фітополіекстракт, доза 5 мл/кг	Вихідні дані	157,50 ± 3,27	147,50 ± 5,09
	2 тижні	150,00 ± 4,72[3]	145,60 ± 4,95[3]
	1 місяць	188,10 ± 4,72[3]	171,30 ± 7,66[1]
	2 місяці	216,30 ± 5,24[1, 2, 3]	193,10± 3,65[1, 2, 3]

Примітка: [1] – відмінності достовірні щодо вихідних даних; [2] – відмінності достовірні щодо інтактного контролю; [3] – відмінності достовірні щодо контролю на спирт.

Вивчення функціонального стану центральної нервової системи щурів здійснювали з використанням методики «відкритого поля». Одержані результати свідчать про різні тенденції зміни показників у ході експерименту у самців і самок щурів усіх груп.

Так, у інтактних тварин самців із групи спиртового контролю протягом терміну спостереження горизонтальна і вертикальна рухова активність знижувалася щодо вихідного фону. Однак, через 2 місяці у самців, які отримували спирт, зменшення горизонтальної та вертикальної рухової активності було достовірно нижче показників інтактних тварин. Вплив фітополіекстракту в дозі 1 мл/кг через 2 тижні призводить до значного збільшення числа стійок у самців (відмінності достовірні щодо як вихідних даних, так і показників контрольних тварин). У разі введення препарату самцям щурів у дозі 5 мл/кг достовірні зміни показників щодо інтактного контролю відсутні (табл. 2).

Таблиця 2

Показники функціонального стану ЦНС самців щурів, які отримували фітополіекстракт

Показники	Інтактний контроль	Контроль (спирт етиловий 35%-й)	Фітополіекстракт, 1 мл/кг	Фітополіекстракт, 5 мл/кг
Вихідні дані				
Кількість: пересічених квадратів	28,63 ± 2,43	25,75 ±1,00	22,63 ± 1,38	23,13 ± 2,24
стійок	5,00 ± 1,18	4,88 ± 0,92	3,63 ± 0,80	4,25 ± 1,24
умивань	0,88 ± 0,30	1,13 ± 0,40	1,13 ± 0,40	2,13 ± 0,52
дефекацій	1,25 ± 0,65	1,38 ± 0,46	0,88 ± 0,35	1,25 ± 0,16
Два тижні				
Кількість: пересічених квадратів	20,88 ± 1,91[1]	27,13 ± 2,79	27,25 ± 2,23	16,13 ± 2,49[1, 3]
стійок	2,38 ± 0,75	4,88 ± 1,43	10,38±1,00[1, 2, 3]	5,50 ± 1,12[2]
умивань	0,25 ± 0,16	0,38 ± 0,18	0,38 ± 0,18	0,50 ± 0,27
дефекацій	1,75 ± 0,73	2,25 ± 1,29	0,00 ± 0,00[2]	1,50 ± 1,00
1 місяць				
Кількість: пересічених квадратів	11,63 ± 2,97[1]	12,88 ± 2,92[1]	20,50 ± 2,78[1]	18,25 ± 3,34[1]
стійок	1,00 ± 0,46[1]	1,25 ± 0,56[1]	3,25 ± 0,75	3,88 ± 1,34
умивань	0,87 ± 0,52	0,75 ± 0,25	1,00 ± 0,33	0,88 ± 0,23
дефекацій	1,25 ± 0,53	0,50 ± 0,27	0,88 ± 0,23	1,88 ± 1,04
2 місяці				
Кількість: пересічених квадратів	17,25 ± 0,68[1]	7,38 ± 1,57[1]	17,13 ± 2,01[1, 3]	11,13 ± 2,88[1, 3]
стійок	2,13 ± 0,58[1]	0,13 ± 0,13[1,2]	2,13 ± 0,61[3]	1,63 ± 0,98
умивань	1,00 ± 0,38	0,75 ± 0,41	1,13 ± 0,44	0,63 ± 0,32
дефекацій	0,63 ± 0,37	1,25 ± 0,49	0,88 ± 0,52	0,75 ± 0,41

Примітка: [1] – відмінності достовірні щодо вихідних даних; [2] – відмінності достовірні щодо інтактного контролю; [3] – відмінності достовірні щодо контролю на спирт.

На відміну від самців, у самок щурів із групи спиртового контролю не спостерігали пригнічувального впливу спирту на ЦНС. Навпаки, через два тижні впливу в цій групі спостерігали достовірне (щодо вихідного й інтактного контролю) збільшення числа пересічених квадратів і стійок. У дослідних групах самок упродовж усього терміну спостереження простежували тенденцію до збільшення рухової активності (відмінності достовірні щодо інтактного контролю через 1 і 2 місяці) (табл. 3).

Таблиця 3

Показники функціонального стану ЦНС самок щурів, які отримували фітополіекстракт

Показники	Інтактний контроль	Контроль (спирт етиловий 35%-й)	Фітополі-екстракт, 1 мл/кг	Фітополі-екстракт, 5 мл/кг
Вихідні дані				
Кількість: пересічених квадратів	28,88 ± 3,45	25,50 ± 1,94	24,88 ± 2,57	23,88 ± 2,08
стійок	5,35 ± 1,44	4,88 ± 1,34	3,63 ± 1,00	3,63 ± 1,36
умивань	1,00 ± 0,33	1,50 ± 0,63	1,49 ± 0,27	2,38 ± 0,80
дефекацій	1,00 ± 0,50	1,13 ± 0,44	1,25 ± 0,31	1,63 ± 0,37
Два тижня				
Кількість: пересічених квадратів	19,13 ± 5,80	44,13 ± 3,52[1, 2]	29,63 ± 3,81[3]	34,00 ± 4,46
стійок	3,75 ± 1,70	12,13 ± 1,73[1, 2]	7,50 ± 1,32[3]	8,00 ± 1,60
умивань	1,00 ± 0,76	0,50 ± 0,19	2,75 ± 0,70[1, 3]	1,63 ± 0,80
дефекацій	2,38 ± 0,75	0,13 ± 0,13[1]	1,38 ± 0,65[3]	2,50 ± 0,89[3]
1 місяць				
Кількість: пересічених квадратів	12,00 ± 1,97[1]	23,50 ± 5,89	27,50 ± 3,91[2]	34,38 ± 4,59
стійок	0,75 ± 0,41[1]	2,75 ± 1,53	5,25 ± 1,00[2]	8,75 ± 1,95[2, 3]
умивань	0,50 ± 0,27	1,00 ± 0,53	3,13 ± 0,52[1, 2, 3]	1,75 ± 0,49[2]
дефекацій	2,63 ± 1,10	0,50 ± 0,27	3,75 ± 1,03[1, 3]	1,75 ± 0,98
2 місяця				
Кількість: пересічених квадратів	15,57 ± 1,82[1]	19,13 ± 6,25	22,38 ± 4,29	22,00 ± 1,67[2]
стійок	0,87 ± 0,70[1]	2,63 ± 0,41	5,75 ± 1,49[2]	7,88 ± 1,34[2, 3]
умивань	1,43 ± 0,63	1,13 ± 0,48	1,75 ± 0,41	1,25 ± 0,31
дефекацій	1,14 ± 0,59	0,88 ± 0,35	1,88 ± 0,61	1,00 ± 0,50

Примітка: [1] – відмінності достовірні щодо вихідних даних; [2] – відмінності достовірні щодо інтактного контролю; [3] – відмінності достовірні щодо контролю на спирт.

Згідно з даними експериментальних досліджень (табл. 3, табл. 4) фітополіекстракт у субтоксичній дозі не змінює функціонального стану ЦНС самців щурів, в ефективній – підвищує їхню дослідницьку активність. Певну збудливу дію на самок зумовлено, найімовірніше, вмістом етилового спирту [10, 11].

Доцільним є продовження токсикологічних досліджень з метою вивчення місцевоподразнювальної, гонадотоксичної та ембріотоксичної дії.

Висновки

1. У процесі експериментальних досліджень протягом двох місяців ознак хронічної токсичності не встановлено.

2. Двомісячне введення комплексного фітополіекстракту в ефективній і субтоксичній дозі (1 мл/кг та 5 мл/кг відповідно) не спричинює токсичного впливу на загальний стан, поведінку та приріст ваги тварин.

3. Комплексний фітополіекстракт у субтоксичній дозі не змінює функціонального стану ЦНС самців щурів, а в ефективній – підвищує їхню активність, яку досліджували.

4. Комплексний фітополіекстракт виявляє певну збудливу дію на самок, зумовлену вмістом спирту етилового.

Список використаної літератури

1. *Яковенко В. К., Вишневський І. А.* Науково-теоретичне обґрунтування складу рослинного препарату та його дослідження // Клін. фармація. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 50–55.

2. *Савельєва О. В., Владимирова І. М.* Аналіз номенклатури седативних та снодійних препаратів в Україні. // Фармац. часопис. – 2015. – № 3. – С. 40–43.

3. *Коваленко В. Н., Викторов А. П.* Компендиум – лекарственные препараты. – К.: Морион, 2016. – 2270 с.

4. *Дячок І. Л., Піняжко О. Р.* Розроблення методу кількісного визначення органічних кислот в комплексному фітополіекстракті // Акт. питання фармац. мед. науки та практики. – 2016. – № 2. – С. 52–57.

5. *Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Пер. с англ. – М.: Высшая школа, 1991. – С. 119–122.

6. Доклинические исследования лекарственных средств. Метод. рекомендации. Гос. фармакологический центр МЗ Украины. – К., 2002. – 566 с.

7. *Коваленко В. М., Стефанов О. В., Максимов Ю. М., Трахтенберг І. М.* Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод. рекомендації. – К.: ВД «Авіцена», 2001. – С. 74–91.

8. *Трахтенберг И. М., Сова Р. Е., Шефтель В. О. и др.* Проблема нормы в токсикологии. (Современные представления и методические подходы, основные параметры и константы). – М.: Медицина, 1991. – 204 с.

9. *Салыкина А. А., Мухамбетова Л. Х.* Медико-биологические аспекты неблагоприятного действия на организм этилового спирта // Гигиена и санитария. – 1989. – № 3. – С. 55–59.

10. *Aryal P., Dvir H., Choe S. et al.* A discret alcohol pocket involved in GIRK channel activation // Nat. Neurosci. – 2009. – N 12. – P. 988–995.

11. Drug allergy: diagnosis and management Clinical guideline [CG183] Published date: September 2014.

12. *Porebski G., Gschwend-Zawodniak A. W. J.* Pichler In vitro diagnosis of T cellmediated drug allergy // Clinical & Experimental Allergy. – 2011. – V. 49, N 4. – P. 461–470.

Надійшла до редакції 20 листопада 2017 року.

И. Л. Дячок, О. Р. Пиняжко, О. Л. Иванкив

Львовський национальный медицинский университет имени Данила Галицького

ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ФИТОПОЛИЭКСТРАКТА СЕДАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ

Ключевые слова: фитополиэкстракт, лекарственное растительное сырье, хроническая токсичность, пероральное введение, крысы

А Н Н О Т А Ц И Я

Учитывая тенденцию к возростанию уровня психопатологиских растройств, обусловленных социально-экономическими проблемами, глобальным информационным бумом, экологическими проблемами, ухудшением качества жизни, целесобразны разработка и внедрение в медицинскую практику седативных средств на основе комплексных фитополиэкстрактов, полученных из отечественного растительного сырья, разрешенного к медицинскому применению.

Цель исследования – определение некоторых параметров хронической токсичности фитополиэкстракта седативного действия в эксперименте на лабораторных крысах при пероральном введении.

Изучали стандартизированный комплексный фитополиэкстракт, в состав которого входят разрешенные к медицинскому применению лекарственные растения (корни с корневища валерианы, плоды боярышника, листья мелиссы, трава зверобоя, листья мяты перечной, шишки хмеля, плоды калины). Установлено, что фитополиэкстракт относится к нетоксичным веществам – $ЛД_{50}$ препарата при однократном внутрижелудочном введении мышам составляет > 5,0 мл/кг, крысам – > 10,0 мл/кг.

Двухмесячное введения комплексного фитополиэкстракта в эффективвной и субтоксической дозе (1 мл/кг та 5 мл/кг соответственно) не оказывает токсического воздействия на общее состояние, поведение и прирост массы животных. Комплексный фитополиэкстракт в субтоксической дозе не изменяет функциональное состояние ЦНС самцов крыс, а в эффективной – повышает исследовательскую активность. В то же время оказывает определенное возбуждающее действие на самок, обусловленное содержанием этилового спирт, а в субтоксической дозе оказывает гипогликемический эффект, в значительной степени обусловленный присутствием этилового спирта.

Целеосообразным является продолжение исследований с целью изучения местнораздражающего действия, гонадотоксичности, эмбриотоксичности.

I. L. Dyachok, O. R. Pinyazhko, O. L. Ivankiv
Danylo Halytsky Lviv National Medical University

DETERMINATION OF CRONIC TOXICITY OF PHYTOPOLIEXTRACTION COMPLEX WITH SEDATIVE ACTION

Key words: phytopoliextraction, medical plants, acute toxicity, single oral administration, rats.

A B S T R A C T

Development and introduction in medical practice sedative meals on the base of complex phytopoliextracts from the domestic medical plants permitted for medical application is highly actual because of incrised incidence of abnormal psychology disorders determined by socioeconomical problems, global informative boom, ecological problems, worsening of life quality.

The aim of a study – determination of the sedative phytopoliextraction complex chronic toxicity parameters in experiments after oral administration to laboratory rats.

Standardized phytopoliextraction complex which is composed of extracts of medical plants (*Valeriana officinalis* L., *Crataégus*, *Melissa officinalis* L., *Hypericum*, *Mentha piperita* L., *Húmulus lúpulus*, *Viburnum*).

It was determined that phytopoliextraction complex is non-toxic compound – LD_{50} drug after a single oral administration to mice is > 5.0 ml/kg, to rats > 10.0 ml/kg. A two-month administration of a phytopolietextraction complex in an effective and sub-toxic dose (1 ml/kg and 5 ml/kg, respectively) does not exert a toxic effect on the general state of the behavior and the increase in the weight of the animals. Phytopolietextraction complex in the subtotoxic dose does not change the functional state of the CNS in male rats, but in the effective state it increases the research activity. At the same time, it exerts a certain stimulating effect on females, due to the content of ethyl alcohol, and in a sub-toxic dose has a hypoglycemic effect largely due to the presence of ethyl alcohol.

Thus, futher experiments have to be provided to learn other chronic toxicity parametres like local localirritating action, embrio- and gonadotoxicity.

Електронна адреса для листування з авторами: dyachokvasil@gmail.com