

УДК [615.015.35: 615.276: 615.322]:57.084.1

<https://doi.org/10.24959/ubphj.18.194>Ю. М. НАБОКА¹, Н. П. ЗУБИЦЬКА², І. А. ЗУПАНЕЦЬ¹, С. К. ШЕБЕКО¹, І. А. ОТРИШКО¹¹Національний фармацевтичний університет²ТОВ «Зелена планета Земної»

ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ПРЕПАРАТУ «АРТРИТАН»

Актуальність. Одним із завдань сучасної наукової і практичної медичної спільноти є забезпечення інтеграції сучасної фітотерапії до системи охорони здоров'я. Тому на сьогоднішній день актуальною проблемою у медичній та фармацевтичній галузі є виробництво якісних препаратів рослинного походження для задоволення потреб населення нашої країни.

Мета роботи. Експериментальне вивчення токсикологічних властивостей препарату «Артритан» за умов моделювання гострої токсичності для обґрунтування безпеки застосування у клінічній практиці.

Матеріали та методи. Дослідження проводили за методом В. Б. Прозоровського при внутрішньошлунковому введенні у щурів у діапазоні доз 1,0-5,0 мл/кг. Впродовж всього дослідження (14 діб) проводили спостереження за виживанням дослідних тварин, проявами інтоксикації та динамікою розвитку окремих симптомів.

Результати та їх обговорення. За умов одноразового внутрішньошлункового застосування у щурів препарат «Артритан» в інтервалі доз 1,0-5,0 мл/кг не чинив токсичного впливу на загальний стан і поведінку тварин та не викликав їх загибелі. Це дозволило вважати, що при даному шляху введення показник ЛД₅₀ дослідного препарату перевищує 5,0 мл/кг. Отримані значення ЛД₅₀ дозволяють віднести його при дослідженому шляху введення за загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини.

Висновки. За токсикологічними характеристиками препарат «Артритан» є засобом практично нетоксичним для організму людини, що окреслює перспективи для його подальшого вивчення з метою застосування у клінічній практиці.

Ключові слова: «Артритан»; гостра токсичність; щури; безпека застосування

Yu. Naboka, N. Zubitska, I. Zupanets, S. Shebeko, I. Otrishko

Study of the drug "Arthritan" acute toxicity

Topicality. To ensure the modern herbal medicine integration into the healthcare system is one of the tasks for modern scientific and practical medical community. Therefore, today the actual problem in medical and pharmaceutical industry is production of high-quality plant origin products in order to meet the needs of our country population.

Aim. Experimental study of drug "Arthritan" toxicological properties in the context of acute toxicity modeling to justify the safety use in clinical practice.

Materials and methods. The study was performed according to the method of V. B. Prozorovsky with intragastric administration in rats with the dose range of 1.0-5.0 ml/kg. Throughout the study (14 days), observations were made in survival of experimental animals, manifestations of intoxication, and the dynamics of the individual symptoms development.

Results and discussion. Under the conditions of single intragastric administration in rats, the drug "Arthritan" in the dose range of 1.0-5.0 ml/kg did not have a toxic effect on the general condition and animals behavior; did not cause their death. This allowed us to assume that with this route of administration, the LD50 of the investigational drug exceeds 5.0 ml/kg. The obtained LD50 values allow it to be attributed to the studied route of administration according to the generally accepted classification of K.K. Sidorov to the V toxicity class – practically non-toxic substances.

Conclusions. According to the toxicological characteristics «Arthritan» drug is practically non-toxic to the human body, which determines the prospects for its further study with the aim of application in clinical practice.

Key words: "Arthritan"; acute toxicity; rats; safety of use

Ю. М. Набока, Н. П. Зубицкая, И. А. Зупанец, С. К. Шебеко, И. А. Отришко

Исследование острой токсичности препарата «Артритан»

Актуальность. Одной из задач современного научного и практического медицинского сообщества является обеспечение интеграции современной фитотерапии в систему здравоохранения. Поэтому на сегодняшний день актуальной проблемой в медицинской и фармацевтической отрасли является производство качественных препаратов растительного происхождения для удовлетворения потребностей населения нашей страны.

Цель работы. Экспериментальное изучение токсикологических свойств препарата «Артритан» в условиях моделирования острой токсичности для обоснования безопасности применения в клинической практике.

Материалы и методы. Исследование проводили по методу В. Б. Прозоровского при внутрижелудочном введении у крыс в диапазоне доз 1,0-5,0 мл/кг. В течение всего исследования (14 дней) проводили наблюдение за выживанием подопытных животных, проявлениями интоксикации и динамикой развития отдельных симптомов.

Результаты и их обсуждение. В условиях однократного внутрижелудочного применения у крыс препарат «Артритан» в интервале доз 1,0-5,0 мл/кг не оказывал токсического воздействия на общее состояние и поведение животных и не вызывал их гибели. Это позволило считать, что при данном пути введения показатель ЛД₅₀ исследуемого препарата превышает 5,0 мл/кг. Полученные значения ЛД₅₀ позволяют отнести его при исследованном пути введения по общепринятой классификации К. К. Сидорова к V классу токсичности – практически нетоксичные вещества.

Выводы. По токсикологическим характеристикам препарат «Артритан» является средством практически нетоксичным для организма человека, что определяет перспективы для его дальнейшего изучения с целью применения в клинической практике.

Ключевые слова: «Артритан»; острая токсичность; крысы; безопасность применения

ВСТУП

Одним із завдань сучасної наукової і практичної медичної спільноти є забезпечення інтеграції сучасної фітотерапії до системи охорони здоров'я. На думку спеціалістів ВООЗ близько 75 % усіх хворих доцільно лікувати препаратами рослинного походження [1, 2]. Існуюча тенденція у сучасній медицині пов'язана з ростом попиту на засоби рослинного походження [3].

Тому на сьогоднішній день актуальною проблемою у медичній та фармацевтичній галузі є виробництво якісних препаратів рослинного походження для задоволення потреб населення нашої країни. Спеціалістами ТОВ «Зелена планета Земної» розроблено препарат «Артритан» – розчин для внутрішнього застосування, що містить екстракти лікарської рослинної сировини: кори верби, квітів ехінацеї, листя берези, квітів бузини та потенційно володіє протизапальною, аналгетичною, хондропротекторною дією і є засобом, перспективним при ревматичних захворюваннях.

З метою впровадження у клінічну практику не викликає сумнівів необхідність доклінічного вивчення даних засобів, початковим етапом якого є експериментальне дослідження токсикологічних властивостей. Даний комплекс досліджень є необхідним не тільки для виявлення характеру їх можливої токсичної дії, а й для визначення рівня умовно ефективних доз для подальших експериментальних досліджень специфічної активності.

Виходячи з вищевикладеного, метою роботи стало проведення доклінічного дослідження токсикологічних властивостей препарату «Артритан» (гострої токсичності) для обґрунтування безпеки застосування у клінічній практиці.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження гострої токсичності препарату «Артритан» проведені на 30 білих безпородних щурах обох статей вагою 150-180 г та віком 3-4 місяці. Піддослідні 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 стандартними санітарними нормами на необхідному харчовому раціоні [4]. Усі дослідження проводились відповідно до Директиви Ради ЄС 86/609 ЄЕС від 24 листопада 1986 р. про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети [5].

Дослідження гострої токсичності препарату «Артритан» проводили за методом В. Б. Прозоровського [6, 7] при внутрішньошлунковому (в/ш) введенні у щурів, оскільки даний метод дозволяє найбільш точно вивчити характер гострого отруєння лабораторних тварин під впливом дослідного засобу та його LD_{50} при застосуванні у широкому діапазоні доз [8]. Гостру ток-

сичність визначали при використанні діапазону доз 1,0-5,0 мл/кг (за загальним обсягом препарату), що відповідає рекомендованому інтервалу доз з урахуванням загальноприйнятих класів токсичності лікарських засобів, а також виду лікарської форми та концентрації діючих речовин. Клас токсичності дослідних засобів визначали згідно з загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова [9].

Вивчення гострої токсичності дослідного препарату проводили на 30 білих нелінійних щурах обох статей, яких розподіляли на 5 дослідних груп по 6 тварин наступним чином: 1 група – тварини, які отримували препарат «Артритан» в/ш в дозі 1,0 мл/кг; 2 група – тварини, які отримували препарат «Артритан» в/ш в дозі 2,0 мл/кг; 3 група – тварини, які отримували препарат «Артритан» в/ш в дозі 3,0 мл/кг; 4 група – тварини, які отримували препарат «Артритан» в/ш в дозі 4,0 мл/кг; 5 група – тварини, які отримували препарат «Артритан» в/ш в дозі 5,0 мл/кг.

Впродовж усього дослідження (14 діб) проводили спостереження за виживанням дослідних тварин, споживанням їжі та води, а також за загальними проявами інтоксикації (у разі їх виникнення): за загальним станом, змінами положення тіла, станом шкіри, кольором слизових оболонок, температурою тіла та окремими симптомами (міоз, сльозоточивість, діарея, зміни кольору сечі та фекалій, сонливість, судоми тощо).

Для розрахунку середньої летальної дози (LD_{50}) через 14 днів визначали відсоток летальності в кожній групі і за допомогою таблиць, а також розрахунків відповідно до методу пробіт-аналізу кривих летальностей за В. Б. Прозоровським визначали значення LD_{50} [6, 7].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакету програм «STATISTICA 10.0», використовуючи t-критерій Стьюдента та кутове перетворення Фішера (при аналізі показників летальності) для порівняння незалежних вибірок при рівні вірогідності $p < 0,05$ [10].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Експериментальні дослідження з визначення гострої токсичності препарату «Артритан» при внутрішньошлунковому введенні проводились на щурах за методом В. Б. Прозоровського в діапазоні доз 1,0-5,0 мл/кг. Спостереження за тваринами проводилось впродовж двох тижнів після одноразового введення тестових зразків.

У ході дослідження гострої токсичності «Артритану» при внутрішньошлунковому введенні у щурів було зафіксовано наступну картину інтоксикації: при введенні препарату у дозах 1,0-3,0 мл/кг видимих ознак токсичного впливу даного засобу на функціональний стан тварин зареєстровано не було. Щури спокійно переносили введення дослідного препарату, при цьому їх зовнішній вигляд, загальний стан та поведінка залишались без змін. Подальші спостереження

Таблиця 1

**ПОКАЗНИКИ ЛЕТАЛЬНОСТІ ЩУРІВ ПРИ ВИВЧЕННІ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ «АРТРИТАНУ»
ПРИ ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОМУ ВВЕДЕННІ (n=30)**

Група, №	Доза «Артритану», мл/кг	Кількість щурів у групі	Кількість загиблих щурів				
			1 доба	4 доба	7 доба	10 доба	14 доба
1	1,0	6	0	0	0	0	0
2	2,0	6	0	0	0	0	0
3	3,0	6	0	0	0	0	0
4	4,0	6	0	0	0	0	0
5	5,0	6	0	0	0	0	0

впродовж дня не виявили в їх загальному стані та поведінці відхилень від норми.

При введенні «Артритану» у дозах 4,0 та 5,0 мл/кг у перші години спостережень у щурів відзначалась деяка слабкість, млявість, зниження рухової активності, знижений апетит. Деякі щури знаходились у малорухомому стані, реакція на зовнішні подразники знижена, дихання прискорене. Впродовж наступних 3-5 годин загальний стан та поведінка тварин наближались до фізіологічної норми, а всі прояви інтоксикації зникали. Наступного дня тварини вільно переміщались по клітці, приймали воду та їжу, при цьому їх загальний функціональний стан повністю відповідав фізіологічній нормі.

Слід відмітити, що впродовж дослідження не було зареєстровано жодного випадку летальності тварин у експериментальних групах (табл. 1).

Впродовж дослідження усіх тест-зразків також проводилось спостереження за динамікою маси тіла щурів. Було визначено збільшення маси тіла в середньому на 8,0 % за інтервал часу 14 діб, але це не носило вірогідного характеру у порівнянні з вихідними даними. Таким чином, негативного впливу на приріст маси тіла тварин на даному етапі досліджень не було виявлено.

При вивченні токсикологічних характеристик препарату «Артритан» після евтаназії щурів на 14 день експерименту було проведено патоморфологічне дослідження органів черевної порожнини та головного мозку. В ході макроскопічного вивчення внутрішніх органів усі тварини були ретельно обстежені на предмет на-

явності видимих патофізіологічних ознак. При аналізі суттєвих відхилень від норми не спостерігалось. Видимі слизові оболонки блискучі, рожеві, рівні, без відхилень від норми, лімфатичні вузли не збільшені, розташування органів звичайне, спайок не спостерігалось. Всі макроскопічно обстежені органи (головний мозок, серце, нирки, печінка, селезінка) мали звичайні розміри, колір та щільність тканин. При розрахунку та аналізі показників масових коефіцієнтів внутрішніх органів тварин вірогідної динаміки змін не спостерігалось – всі показники знаходились у межах фізіологічної норми (табл. 2).

Відсутність летальності у лабораторних тварин при в/ш введенні усіх досліджених засобів, що було виявлено в ході представленого експериментального етапу, не дозволяє розрахувати показники їх середніх летальних доз (LD_{50}) методом пробіт-аналізу. Це примушує вважати, що значення LD_{50} для кожного з досліджених препаратів перевищує максимальну дозу, яку використовували в експерименті, тобто при в/ш введенні у щурів LD_{50} препарату «Артритан» > 5,0 мл/кг. Дане значення LD_{50} дозволяє віднести даний засіб при дослідженню шляху введення за загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про те, що препарат «Артритан» за умов в/ш одноразового введення практично не чинить токсичного впливу на загальний стан, поведінку, вживання їжі та масу тіла тварин; не впливає на абсолютну та відносну масу внутрішніх органів; не викликає ви-

Таблиця 2

**МАСОВІ КОЕФІЦІЄНТИ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ЩУРІВ ПРИ ВИВЧЕННІ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ
ПРЕПАРАТУ «АРТРИТАН» ПРИ ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОМУ ВВЕДЕННІ (n=30)**

Група, №	Доза «Артритану», мл/кг	Масовий коефіцієнт, %				
		головний мозок	серце	нирка (права)	селезінка	печінка
1	1,0	0,98 ± 0,03	0,39 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,41 ± 0,01	3,44 ± 0,09
2	2,0	1,01 ± 0,03	0,43 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,43 ± 0,02	3,46 ± 0,09
3	3,0	0,99 ± 0,03	0,41 ± 0,01	0,32 ± 0,01	0,39 ± 0,01	3,48 ± 0,08
4	4,0	1,03 ± 0,03	0,44 ± 0,02	0,33 ± 0,01	0,40 ± 0,01	3,42 ± 0,09
5	5,0	1,05 ± 0,03	0,42 ± 0,01	0,32 ± 0,01	0,39 ± 0,01	3,43 ± 0,09

димих змін внутрішніх органів щурів; не викликає їх загибелі; відноситься до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини.

ВИСНОВКИ

1. За умов одноразового внутрішньошлункового застосування у щурів тестовий препарат «Артритан» у інтервалі доз 1,0-5,0 мл/кг не чинив токсичного впливу на загальний стан і поведінку тварин та не викликав їх загибелі. Це дозволило вважа-

ти, що при даному шляху введення показник ЛД₅₀ дослідного препарату перевищує 5,0 мл/кг.

2. За токсикологічними характеристиками препарат «Артритан» є засобом практично нетоксичним для організму людини, оскільки отримані значення ЛД₅₀ дозволяють віднести його при дослідженому шляху введення за загальноприйнятною класифікацією К. К. Сидорова до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Сергиенко, О. М. Роль и место фитотерапии в лечении состояний, сопровождающихся продуктивным кашлем / О. М. Сергиенко, А. К. Жиринова // Укр. мед. часопис. – 2013. – № 1. – С. 77–80.
2. Фітотерапія: сучасні тенденції до використання в лікарській практиці та перспективи подальшого розвитку (огляд літератури та результати власних досліджень) / Т. П. Гарник, В. А. Туманов, В. В. Поканевич та ін. // Фітотерапія. Часопис. – 2012. – № 1. – С. 4–11.
3. Kunle, O. F. Standardization of herbal medicines: A review / O. F. Kunle, H. O. Egharevba, P. O. Ahmadu // Int. J. Biodivers. Conserv. – 2012. – Vol. 4 (3). – P. 101–112. <https://doi.org/10.5897/ijbc11.163>
4. Guide for the care and use of laboratory animals. – 8-th ed. – Washington : The National Academies Press, 2011. – 246 p.
5. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose : Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
6. Прозоровский, В. Б. Практическое пособие по ускоренному определению средних эффективных доз и концентрации биологически активных веществ. – СПб, 1992. – 42 с.
7. Прозоровский, В. Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В. Б. Прозоровский // Психофармакол. и биол. наркол. – 2007. – Т. 7, № 3-4. – С. 2090–2120.
8. Доклинические исследования лекарственных средств : метод. рек. / под ред. А. В. Стефанова. – К. : Авиценна, 2002. – 528 с.
9. 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.
10. Трухачева, Н. В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н. В. Трухачева. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 379 с.

REFERENCES

1. Serhyenko, O. M., Zhyrunova, A. K. (2013). *Ukrayinskij medicnij chasopis*, 1, 77–80.
2. Harnyk, T. P., Tumanov, V. A., Pokanevych, V. V., Frolov, V. M., Peresadin, M. O. (2012). *Fitoterapiya. Chasopis*, 1, 4–11.
3. Kunle, O. F., Egharevba, H. O., Ahmadu, P. O. (2012). Standardization of herbal medicines - A review. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 4 (3), 101–112. <https://doi.org/10.5897/ijbc11.163>
4. *Guide for the care and use of laboratory animals*, 8th edition. (2011). Washington : The National Academies Press, 246.
5. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe* (1986). Strasbourg, 52.
6. Prozorovskii, V. B. (1992). *Prakticheskoe posobie po uskorennomu opredeleniu srednikh effektivnykh doz i kontcentracii biologicheskii aktivnykh veshchestv*. St. Petersburg, 42.
7. Prozorovskiy, V. B. (2007). *Psikhofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*, 7 (3-4), 2090–2120.
8. Stefanov, O. (2001). *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv*. Kyiv: «Avitsena», 528.
9. Sidorov, K. K. (1973). O klassifikatsii toksichnosti yadov pri parenteralnykh sposobakh vedeniya. – V kn.: *Toksikologiya novykh promyshlennykh khimicheskikh veshchestv*. Moskva, 13, 47–57.
10. Truhacheva, N. V. (2012). *Matematicheskaja statistika v mediko-biologicheskikh issledovaniiah s primeneniem paketa Statistica*. Moscow: GEOTAR-Media, 379.

Відомості про авторів:

Набока Ю. М., аспірант кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: clinpharm@nuph.edu.ua

Зубицька Н. П., генеральний директор, ТОВ «Зелена планета Земної»

Зупанець І. А., д-р мед. наук, професор, завідувач кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет. E-mail: igorzupanets@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1253-9217>

Шебеко С. К., канд. фарм. наук, доцент кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації,

Національний фармацевтичний університет. E-mail: shebeko.sk@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9350-7588>

Отришко І. А., канд. фарм. наук, доцент кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації,

Національний фармацевтичний університет. E-mail: innaotrishko@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9089-8576>

Information about authors:

Naboka Yu., postgraduate student, of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy.

E-mail: clinpharm@nuph.edu.ua

Zubitska N., General Director, LLC "Zelena Planeta Zemnoi"

Zupanets I., Doctor of Medicine, professor, head of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy. E-mail: igorzupanets@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1253-9217>

Shebeko S., PhD in Pharmacy, associate professor of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy. E-mail: shebeko.sk@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9350-7588>

Otrishko I., PhD in Pharmacy, associate professor of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy. E-mail: innaotrishko@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9089-8576>

Сведения об авторах:

Набока Ю. М., аспирант кафедры клинической фармакологии и клинической фармации,

Национальный фармацевтический университет. E-mail: clinpharm@nuph.edu.ua

Зубицька Н. П., генеральний директор, ООО «Зеленая планета Земной»

Зупанець І. А., д-р мед. наук, професор, завідувач кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет. E-mail: igorzupanets@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1253-9217>

Шебеко С. К., канд. фарм. наук, доцент кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації,

Национальный фармацевтический университет. E-mail: shebeko.sk@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9350-7588>

Отришко І. А., канд. фарм. наук, доцент кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації,

Национальный фармацевтический университет. E-mail: innaotrishko@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9089-8576>

Надійшла до редакції 11.11.2018 р.