

УДК 615.322:582.751:615.273

*М.О. Остапець,**В.А. Волковой,**Г.П. Фоміна*Національний фармацевтичний
університет, Харків**ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА
ЕФЕКТИВНОЇ ДОЗИ СУХОГО ЕКСТРАКТУ
З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ****Ключові слова:** гемостатична активність, сухий екстракт з трави герані болотної, гостра токсичність, ефективна доза.**Резюме.** Стаття присвячена вивченню гострої токсичності та ефективної дози сухого екстракту з трави герані болотної. З'ясовано, що досліджуваний екстракт не виявляє токсичного впливу на функції життєво важливих органів та систем організму дослідних тварин, тому він відноситься до малотоксичних речовин (IV клас токсичності за класифікацією К.К.Сидорова з урахуванням шляху введення). Встановлено, що ефективна доза сухого екстракту з трави герані болотної на моделі спонтанного згортання крові у мурчаків (свинка звійської) складає 3 мг/кг маси тварини.**Вступ**

Пошук та створення лікарських препаратів рослинного походження - одна з найважливіших задач медицини. Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин та вивчення їх фармакологічних властивостей є головним напрямком сучасної медицини. До складу фітопрепаратів входять біологічно активні речовини, тому вони можуть чинити різнобічний вплив на організм людини. Перевагою фітопрепаратів є відсутність побічних ефектів та звикання. За даними літератури трава і кореневища герані болотної містять комплекс біологічно активних речовин, таких як: дубильні речовини, флавоноїди, хінони, аскорбінова кислота, що мають широкий спектр фармакологічної активності (гемостатична, протизапальна, діуретична та знеболююча дії). ВУнародній медицині герань болотну застосовують при кровотечах: маткових, легеневих, носових та запальних процесах: ревматизмі, подагрі, однак більш вираженою є гемостатична дія [1].

Мета дослідження

Вивчити гостру токсичність та ефективні дози сухого екстракту з трави герані болотної на експериментальних тваринах (мурчаках, щурах, мишах).

Матеріал і методи

При визначенні токсикологічних характеристик досліджуваного комплексу БАР вивчення гострої токсичності є першим етапом, метою якого є одержання інформації щодо безпечності сухого екстракту з трави герані болотної для здоров'я в

умовах короткотривалої дії [8].

Вивчення гострої токсичності досліджуваного екстракту проводили на двох видах лабораторних тварин - білих нелінійних мишах та щурах обох статей за умов внутрішньочеревного та внутрішньошлункового введення. Згідно методичних рекомендацій ДФЦ України, лімітуючим показником при визначенні гострої токсичності є максимальна доза IV класу токсичності (малотоксичні речовини) з урахуванням шляху введення. Для внутрішньошлункового введення ця доза складає 5000 мг/кг маси тварини. Якщо при цьому не спостерігається загибелі тварин, введення більшої дози, як правило, є недоцільним [5].

На першому етапі вивчення гострої токсичності проводили внутрішньочеревне та внутрішньошлункове введення водного розчину досліджуваного екстракту мишам масою 18-23 г. Експериментальні тварини були розподілені на 5 груп: тваринам 1-4-ої груп вводили досліджуваний екстракт в дозах від 500 до 5000 мг/кг. П'ята група - інтактний контроль, яка отримувала дистильовану воду в об'ємі 1 мл.

На другому етапі дослідження токсичності проводили внутрішньошлункове та внутрішньочеревне введення досліджуваного екстракту в його максимальному діапазоні (5000 мг/кг) щурам масою 180-230 г.

Спостереження за загальним станом і поведінкою експериментальних тварин проводили протягом 14 днів. При цьому враховували зовнішній вигляд, особливості поведінки, інтенсивність та характер рухів, стан шерсті та інші показники [9, 10].

Середню ефективну дозу (ED_{50}) сухого екстракту з трави герані болотної визначали за методом спонтанного згортання крові, який базується на визначенні часу утворення перших ниток фібрину [2]. Експеримент проводили на 36 білих нелінійних мурчаках масою 360 ± 15 г, яким за 1 год до проведення досліду внутрішньошлунково вводили водний розчин досліджуваного екстракту в дозах 1; 3; 5; 7; 10 мг/кг. Інтактні тварини отримували дистильовану воду в об'ємі 1 мл. ED_{50} розраховували за методом Штабського Б.М., користуючись рівнянням прямої, яка проходить через дві точки:

$$\frac{Y - Y_1}{Y_2 - Y_1} = \frac{X - X_1}{X_2 - X_1}$$

де X_1, X_2 - значення двох крайніх досліджуваних доз, які призводять до ефекту менше та більше 50% тварин відповідно; Y_1, Y_2 - відповідні відсотки ефекту.

При вирішенні рівняння відносно X , підставляли в формулу значення Y , що дорівнюють 50%, 84% і 16% ефекту, що відповідають ED_{50} , ED_{84} , ED_{16} .

$$X = X_1 + \frac{(Y - Y_1)(X_2 - X_1)}{Y_2 - Y_1}$$

Похибку (m) середньої ефективної дози визначали за Міллером-Тейнтнером:

$$m = \pm \frac{2\sigma}{\sqrt{2N}}$$

Для визначення довірчих меж розраховували $m \cdot t$ (t - критерій Стьюдента). Достовірні межі ED_{50} знаходили при $p=0,05$ для числа ступенів свободи $f = N-1$ [6, 7].

При роботі з тваринами дотримувався Між -

народний кодекс медичної етики (Венеція, 1983), "Європейська конвенція щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями" (Страсбург, 1986), "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Directive 2010/63/EU of European Parliament and Council on the protection of animals used for scientific purposes та закон України "Про захист тварин від жорстокого поводження" №3477-IV від 21.02. 2006 р. [3].

Обговорення результатів дослідження

При вивченні гострої токсичності середньосмертельну дозу сухого екстракту з трави герані болотної при двох типах введенням щурам та мишам встановити не вдалося, оскільки навіть уведення максимальної дози 5000 мг/кг не супроводжувалося загибеллю тварин. Явищ вираженої інтоксикації у тварин у ході експерименту не було встановлено. Загальний стан тварин досліджуваних груп не відрізнявся від стану інтактних тварин: зберігалася координація рухів та тонус скелетних м'язів, реакції на больові, тактильні та звукові подразники були адекватними, частота дихання та ритм серцевих скорочень знаходилися в межах норми. Оскільки LD_{50} досліджуваного препарату не перевищує 5000 мг/кг, його можна віднести до IV класу токсичності - малотоксичні сполуки за класифікацією К.К. Сидорова [4].

При вивченні ефективної дози враховували залежність доза - ефект сухого екстракту з трави герані болотної. Результати дослідження представлені в таблиці.

Таблиця

Залежність доза-ефект сухого екстракту з трави герані болотної на моделі спонтанного згортання крові у мурчаків, ($n=6$)

Доза, мг/кг	Час зсідання крові, с ($\bar{x} \pm S_x$)	% зменшення часу зсідання крові
1	$165,04 \pm 1,05$	23,9
3	$104,23 \pm 1,26$	52
5	$169,38 \pm 0,88$	21,7
7	$167,64 \pm 1,25$	22,8
10	$166,78 \pm 1,08$	23,2
контроль	$217,16 \pm 1,85$	0

$$ED_{50} = 1 + \frac{(50 - 24)(3 - 1)}{52 - 24} = 3 \text{ мг/кг}$$

$$ED_{84} = 1 + \frac{(84 - 24)(3 - 1)}{52 - 24} = 5,28 \text{ мг/кг}$$

$$ED_{16} = 1 + \frac{(16 - 24)(3 - 1)}{52 - 24} = 0,43 \text{ мг/кг.}$$

Тоді $2\sigma = ED_{84} - ED_{16} = 5,28 - 0,43 = 4,85$ мг/кг

Середня похибка середньої ефективної дози за Міллером-Тейтнером дорівнює:

$$m = \pm \frac{2\sigma}{\sqrt{2N}} = \pm \frac{2 \cdot 4,85}{\sqrt{2 \cdot 36}} = \pm 1,14$$

де, N - загальне число тварин у групах. Довірчі межі ED50 при $p=0,05$ $mt=1,14 \cdot 0,8=0,9$. Таким чином, у результаті проведених розрахунків встановлено, що ефективна доза сухого екстракту з трави герані болотної дорівнює 3 мг/кг маси тварини. Нижня довірна межа - 1,86 мг/кг, верхня - 4,14 мг/кг.

Отже, у результаті проведених досліджень встановлено, що ефективна доза сухого екстракту з трави герані болотної складає 3 мг/кг.

Висновки

1. При визначенні гострої токсичності сухого екстракту з трави герані болотної визначити величину ЛД50 не вдалося, що свідчить про низьку токсичність досліджуваного засобу.

2. При дослідженні ЛД50 сухого екстракту з трави герані болотної максимальна доза не перевищує 5000 мг/кг, тому його можна віднести до IV класу токсичності - малотоксичні сполуки за класифікацією К.К.Сидорова.

3. Експериментально на моделі спонтанного згортання крові у мурчаків встановлена ефективна доза сухого екстракту з трави герані болотної - 3 мг/кг маси тварини.

Перспективи подальших досліджень

Вивчення впливу комплексу БАР герані болотної на коагуляційний гемостаз та процес фібринолізу.

Література. 1.Гродзінський А.М. Лікарські рослини: енциклопедичний довідник. - К. : вид-во "Українська енциклопедія", 1992. - С. 100-101. 2.Долгов В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В.В. Долгов, П.В. Свиринов - М., Тверь: ООО Изд-во "Триада", 2005. - 227 с. 3.Резніков О.Г. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: метод. рекомендації / О.Г. Резніков, А.І. Соловйов [та ін.] // Вісн. фармакол. та фармації. - 2006. - № 7. - С. 47-61. 4.Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при

парентеральных способах введения //Токсикология новых промышленных, химических веществ. - М.: Медицина, 1979. Вып. 13. С. 47-51. 5.Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. О.В. Стефанова. - К., 2001. - 528с. 6.Штабский Б.М., Гжегодский М.И., Гжегодский М.Р. и др. К методике определения средние смертельных доз и концентраций химических веществ // Гигиена и санитария. - 1980. - №10. - С.49-51. 7.Юнкеров В.И., Григорьев С.Т. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. - СПб. : ВМедА, 2005. - 292 с. 8.Giri D. K. Pathology of acute oral toxicity of sodium fluoride in Wistar rats / D.K. Giri, R.C. Ghosh, M.Mondal // Indian J. of Veterinary Pathology. - 2014. - V. 38 (1). - P. 33-38. 9.Morales G. Acute oral toxicity and anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extract from *Lampaya medicinalis* Phil in rats / G.Morales, A. Peredes, A.Olivares [et al] // Biological Research. - 2014. - V. 47 (6). 10.Tomohiro Ito. Toxicological assessment of enzyme-treated asparagus extract in rat acute and subchronic oral toxicity studies and genotoxicity tests / Ito Tomohiro, Ono Tomoko // Regulatory Toxicology and Pharmacology. - 2014. - V.68 (2). - P. 240-249.

ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОЙ ДОЗЫ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ТРАВЫ ГЕРАНИ БОЛОТНОЙ

М.А.Остапец, В.А. Волковой, Г.П. Фомина

Резюме. Статья посвящена изучению острой токсичности и эффективной дозы сухого экстракта из травы герані болотної. Установлено, что исследуемый экстракт не проявляет токсического действия на функции жизненно-важных органов и систем организма экспериментальных животных, поэтому он относится к малотоксичным веществам (IV класс токсичности по классификации К.К.Сидорова с учетом пути введения). Установлено, что эффективная доза сухого экстракта травы герані болотної на модели спонтанного свертывания крови у морских свинок составляет 3 мг/кг массы животного.

Ключевые слова: гемостатическая активность, сухой экстракт из травы герані болотної, острая токсичность, эффективная доза.

STUDYING ACUTE TOXICITY AND EFFECTIVE DOSE OF DRY EXTRACT FROM HERBS OF GERANIUM PALUSTRE

M.O. Ostapets, V.A. Volkovoy, G.P. Fomina

Abstract. The article is devoted to study of acute toxicity and effective dose of dry extract from herbs of *Geranium Palustre*. It has been found that the studied extract shows no toxic effects on the function of vital organs and systems of experimental animals, as it relates to low-toxic substances (IV class of toxicity classification K.K.Sydorova considering the route of administration). It has been established that the effective dose of dry extract from herbs of *Geranium Palustre* on the model of spontaneous blood clotting in guinea pigs is 3 mg / kg of animal weight animal.

Key words: hemostatic activity, dry extract from herbs of *Geranium Palustre*, acute toxicity, effective dose.

Kharkiv National Medical University

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №1 (51). - P.113-115.

Надійшла до редакції 01.02.2015

Рецензент – проф. І.І. Заморський

© М.О.Остапець, В.А.Волковой, Г.П.Фоміна, 2015