

Гемостатична активність та гостра токсичність нових лікарських рослинних зборів

Л.І.Шульга, Т.С.Безценна, О.Ф.Пімінов

Національний фармацевтичний університет, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації,
кафедра загальної фармації та безпеки ліків
Харків, Україна

Досліджено гемостатичну активність трьох нових лікарських рослинних зборів для застосування в терапевтичній стоматології за допомогою методу Альтгаузена. Визначено, що всі об'єкти, які вивчаються, виявляють кровоспинну дію. Досліджено гостру токсичність розроблених фітозасобів шляхом одноразового внутрішньошлункового введення їх максимальної дози. Встановлено, що всі досліджувані засоби можна віднести до практично нетоксичних речовин.

Ключові слова: гемостатична активність, гостра токсичність, лікарські рослинні збори, стоматологія.

ВСТУП

На сьогодні не втрачають своєї актуальності питання ефективного лікування запальних захворювань пародонту та слизової оболонки порожнини рота. Першорядним у схемах терапії запальних стоматологічних хвороб залишається акцент щодо застосування пацієнтами лікарських засобів, що комплексно впливають на всі ланки патогенезу, тобто володіють різноспрямованою активністю, серед якої слід виділити і гемостатичну [12].

Широкий спектр фармакологічної дії притаманний лікарським засобам рослинного походження, оскільки у їх складі містяться гармонійно поєднані в природних сполученнях біологічно активні речовини. Відносна безпечність фітопрепаратів поряд з ефективністю та м'яким впливом підкреслює можливість їх довготривалого застосування в терапевтичній стоматології при ряді патологічних станів. Означене справджує доцільність створення нових рослинних лікарських засобів, у тому числі зборів

стоматологічного призначення з кровоспинними властивостями. На основі проведених раніше мікробіологічних, фармакологічних та технологічних досліджень обґрунтовано склад лікарських рослинних зборів для лікування гінгівіту, пародонтиту, запалень слизової оболонки ротової порожнини [4, 6, 7].

Проте під час створення нових лікарських засобів, за вимогами Державного фармакологічного центру МОЗ України, однією з необхідних компонент доклінічних досліджень поряд із специфічною дією є вивчення токсикологічних характеристик розроблених препаратів для отримання інформації відносно їх безпечності [9-11].

Метою дослідження було встановлення кровоспинної активності, а також визначення гострої токсичності опрацьованих рослинних композицій.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У межах проведених фармакологічних досліджень визначено гемостатичну дію та вивчено гостру токсичність розроблених рослинних засобів у вигляді зборів.

Об'єкти для вивчення кровоспинної дії — свіжовиготовлені настої зборів №1-3, до складу яких входили наступні рослинні інгредієнти: бузини чорної квітки, солодки корені, кропива листя, подорожника листя, фіалки трава, череди трава (збір №1), календули квітки, липи квітки, м'яти перцевої листя, шавлії листя, звіробою трава, настойка софори японської (збір №2), бузини чорної квітки, солодки корені, м'яти листя, подорожника листя, чабрецю трава (збір №3) та препаратів порівняння — настій кропива листя (ЗАТ Фармацевтична фабрика «Віола», м. Запоріжжя) і відвар дуба кори (ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир), що широко використовуються в терапії запальних стоматологічних захворювань, які супроводжуються

ТАБЛИЦЯ 1

Гемостатична активність вивчаємих об'єктів

Досліджувані засоби	Час зсідання крові, с	Скорочення часу зсідання крові, % від контролю
Контроль (фізіологічний розчин)	206,00±3,67	100
Збір №1	150,00±2,24* / ** / ***	72,82
Збір №2	168,33±3,33*	81,71
Збір №3	158,33±2,11* / ***	76,86
Листя кропиви	165,83±5,83*	80,50
Кора дуба	175,83±5,07*	85,35

Примітки: * – достовірність результатів відносно контрольної групи, $p < 0,001$; ** – достовірність результатів по відношенню до настою препарату порівняння – листя кропиви, $p < 0,05$; *** – достовірність результатів по відношенню до відвару препарату порівняння – кори дуба, $p < 0,01$.

кровоточивістю. Усі водні витяжки для експерименту готували за загальноприйнятою технологією у співвідношенні 1:10.

Для вивчення гемостатичної дії були використані білих безпородні щури-самці масою 200,0-250,0, яких розподілили на шість груп по 6 тварин у кожній. 1 група – інтактний контроль – отримувала внутрішньошлунково фізіологічний розчин. Тваринам 2, 3 та 4 груп вводили внутрішньошлунково водні витяжки рослинних зборів №1, №2 та №3 відповідно. Щури 5 групи отримували настій кропиви листя, а 6 групи – відвар кори дуба аналогічно попереднім групам.

Гемостатичну активність досліджуваних об'єктів визначали за методом Альтгаузена, в основі якого лежить визначення часу появи перших ниток фібрину в краплях крові досліджуваних тварин [5].

На підігріте до 37°C предметне скло наносили краплю крові, взятої із хвостової вени щурів через годину після одноразового введення досліджуваного об'єкта. По краплі крові через кожні 15-20 с проводили голкою і фіксували час появи ниток фібрину.

Вивчення гострої токсичності проводили для водних настоїв досліджуваних зборів №1-3. В експерименті було використано три групи щурів-самців масою 160,0-180,0 (по 3 тварини у кожній), яким внутрішньошлунково вводили настій вивчаємих зборів №1-3 та група інтактних тварин (3 щури-самці).

Для четвертого класу токсичності, до якого відносяться малотоксичні речовини, з урахуванням шляху введення (внутрішньошлунково), встановлено максимальну дозу 5000 мг/кг маси тіла тварин. Оскільки у випадку встановлення безпечності фітозасобів в означеній дозі подальші дослідження можна вважати нераціональними, вивчення гострої токсичності настоїв зборів проводили для дози 5000 мг/кг.

Водні витяжки досліджуваних об'єктів попередньо упарювали до об'єму, який розраховували на підставі значень вмісту сухого залишку для кожного окремого збору.

За станом тварин спостерігали як під час введення об'єктів, так і впродовж двох наступних тижнів. Оцінку ступеня токсичності вивчаємих зборів проводили за летальністю, зміною загального стану щурів, впливом фітозасобів на динаміку їх маси тіла [1-3, 9].

Під час експерименту піддослідні тварини утримувались у стандартних санітарних умовах при природному світловому режимі, на збалансованому харчовому раціоні відповідно до діючих норм.

Усі вивчення проводили, дотримуючись правил «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей».

Отримані результати вивчень підлягали статистичній обробці з використанням критерію Стьюдента, що здійснювалося за допомогою спеціальних комп'ютерних програм [8].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами проведеного дослідження встановлено, що водні витяжки досліджуваних рослинних зборів №1, №2 та №3 виявляють гемостатичну активність (табл. 1).

ТАБЛИЦЯ 2

Дослідження гострої токсичності настоїв вивчаємих рослинних засобів

Групи тварин	Стать	Тварини, що загинули / загальна кількість
Інтактний контроль	Самці	0/3
Збір №1	Самці	0/3
Збір №2	Самці	0/3
Збір №3	Самці	0/3

ТАБЛИЦЯ 3

Вплив настоїв лікарських рослинних зборів для стоматології на динаміку маси тіла тварин

Групи тварин	Маса тіла тварин, г			
	Вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
Інтактний контроль	261,67±10,93	265,00±9,02	275,00±10,00	283,33±9,28
Збір №1	258,33±11,67	262,00±11,53	270,67±11,92	281,67±10,93
Збір №2	265,00±13,23	269,33±14,33	276,33±13,78	288,67±12,44
Збір №3	265,00±5,00	269,33±14,33	275,00±2,89	290,67±4,98

Аналізуючи одержані результати, відмічаємо, що час зсідання крові піддослідних тварин, яким вводили настій збору №1, скорочувався на 56 с порівняно із показниками контрольної групи, на 15 с та 20 с порівняно з часом зсідання крові щурів, які одержували настій кропиви листя і відвар дуба кори відповідно. Доволі вагомим значенням відносно інших груп вивчаємих об'єктів, можливо, обумовлені наявністю у складі даного фітозасобу вітаміну К (кропива листя), дія якого посилюється іншими складовими.

Відзначаємо менш виражені гемостатичні властивості досліджуваних зборів №2 та №3. Наявність кровоспинної дії означених об'єктів може бути виражена за рахунок вмісту дубильних речовин.

Для досліджуваної композиції №2 отримані результати мали достовірну відмінність відносно даних, отриманих від контрольної групи, і були на рівні з показниками груп тварин, яким вводили водні витяжки препаратів порівняння.

Час зсідання крові тварин, яким вводили настій збору №3, зменшувався на 48 с у порівнянні з групою тварин, які отримували фізіологічний розчин, і на 17 с порівняно з тваринами, яким вводили відвар кори дуба.

Інтегральним показником у дослідженні гострої токсичності є виживаність/летальність досліджуваних тварин, що дає змогу визначити середньолетальну дозу (LD_{50}) як основну токсикологічну характеристику лікарського засобу.

Результати вивчення гострої токсичності досліджуваних фітозасобів наведені в табл. 2.

Як показали проведені дослідження, після внутрішньошлункового введення настоїв вивчаємих зборів у дозі 5000 мг/кг загибелі щурів не виявлено. У досліджуваній групі, яка отримувала настій збору №3, спостерігали занепокоєння під час та одразу після введення у шлунок. Протягом наступних 20-30 хв. після отримання тваринами водних витяжок зборів дещо знижувалась їх рухова активність, що,

припустимо, обумовлено об'ємом введеної у шлунок рідини.

На 3, 7 та 14 добу експерименту проводили зважування піддослідних тварин. Результати зважування в різні проміжки часу наведені в табл. 3.

Аналізуючи отримані дані, відмічали, що в порівнянні з інтактною групою розбіжності в динаміці маси тіла щурів, які отримували настої досліджуваних рослинних зборів №1, №2 та №3, не відмічалися. Отже, введення водних витяжок у максимальній дозі 5000 мг/кг не впливало на розглянутий показник при вивченні гострої токсичності.

Упродовж експерименту у тварин усіх груп не відмічали змін у зовнішньому вигляді, стані шкірних покривів та слизових оболонок. Щури мали задовільний апетит, нормально реагували на звукові і світлові подразники, були в нормі процеси сечовиділення і дефекації, судом чи порушення дихання не спостерігали. Будь-яких інших побічних ефектів на фоні введення водних витяжок розроблених фітозасобів не виявили.

Таким чином, за класифікацією Н.С.Hodge, J.H.Stern, досліджені рослинні засоби можуть бути віднесені до практично нетоксичних (V клас токсичності, $5000 < LD_{50} < 15000$ мг/кг).

ВИСНОВКИ

1. Встановлено наявність гемостатичного ефекту у водних витяжках досліджуваних об'єктів рослинних зборів №1-3, серед яких найбільш виражену кровоспинну дію відзначено для збору №1.

2. Вивчення гострої токсичності розроблених фітозасобів для терапевтичної стоматології дозволило віднести їх до практично нетоксичних речовин.

3. Отримані експериментальні дані характеризують лікарські рослинні збори №1-3 як безпечні та перспективні засоби для місцевого застосування при лікуванні запальних процесів ротової порожнини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Е.В.Арзамасцев, Т.А.Гуськова, И.В.Березовская и др. — М., 2000. — С. 18-26.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — С. 74-97.
3. Дослідження гострої токсичності піни медичної з комплексом бактеріофагів / О.А.Єрещенко, Л.С.Стрельников, О.В.Ткачова, М.М.Ткач // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. — 2010. — Вип. XXIII, №4. — С. 23-24.
4. Дослідження зі створення складу фітозбору для стоматології / Т.С.Безценна, Л.І.Шульга, І.О.Журавель, О.Ф.Пімінов // Фармаком. — 2012. — №1-2. — С. 78-82.
5. Лук'янова Л.В. Фармакологічна активність сухого екстракту з пагонів ожини сизої / Л.В.Лук'янова, В.А.Волковой, Н.В.Деркач // Клінічна фармація. — 2008. — Т.12, №3. — С. 40-44.
6. Наукове обґрунтування складу протиалергійного збору / Л.І.Шульга, І.О.Журавель, О.Ф.Пімінов [та ін.] // Український медичний альманах. — 2011. — Том 14, №6. — С. 229-231.
7. Пімінов О.Ф. Дослідження протизапальної активності рослинного збору «Дента-Фіт» / О.Ф.Пімінов, Л.І.Шульга, Т.С.Безценна // Клінічна фармація. — 2011. — Т.15, №4. — С. 47-49.
8. Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В.Б.Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркология. — 2007. — Вып. 3-4, Т.7. — С. 2090-2120.
9. Шахватова Н.М. Визначення гострої токсичності лікарської форми «Латирон» / Н.М.Шахватова, В.А.Волковой, Л.В.Лук'янова // Вісник фармації. — 2011. — №1 (65). — С. 66-68.
10. Gideon T. Paul Toxicological evaluation of fucoidan from *Cladosiphon okamuranus* / T.Paul Gideon, R.Rengasamy // Journal of Medicinal Food. — 2008. — Vol. 11. — №4. — P. 638-642.
11. Mukinda J.T. Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents / J.T.Mukinda, J.A.Syce // Ethnopharmacology. — 2007. — Vol. 112. — №1. — P. 138-144.
12. Site specific delivery system for treatment of periodontitis // A.Ahuja, S.Rahman, J.Ali, R.K.Khar // Indian J. of Pharm. Sci. — 2003. — Vol. 65 (2). — P. 106-112.

Л.І.Шульга, Т.С.Безценная, А.Ф.Пімінов.
Гемостатическая активность и острая токсичность новых лекарственных растительных сборов. Харьков, Украина.

Ключевые слова: гемостатическая активность, острая токсичность, лекарственные растительные сборы, стоматология.

Проведено изучение гемостатической активности трех новых лекарственных растительных сборов для применения в терапевтической стоматологии, используя метод Альтгаузена. Установлено, что все исследуемые объекты обладают кровоостанавливающей активностью. Проведено изучение острой токсичности разработанных фитосредств путем однократного внутриведения их максимальной дозы. Выявлено, что исследуемые средства можно классифицировать как практически нетоксичные вещества.

L.I.Shulga, T.S.Beztzena, A.F.Piminov.
The hemostatic activity and acute toxicity of a new medicinal herbal mixtures. Kharkiv, Ukraine.

Key words: hemostatic activity, acute toxicity, medicinal herbal mixtures, dentistry.

The haemostatic activity of three new medicinal herbal mixtures for using in therapeutic dentistry was investigated by the Althausen's method. It was determined that all investigated objects have hemostatic effect. The acute toxicity of developed phytomedicines was investigated by a single-use intragastric introduction of their maximum dose. All investigated phyto-compositions has been proven to belong to the practically non-toxic substances.

Надійшла до редакції 25.08.2012 р.