

Рекомендована д. біол. наук, проф. І. М. Кліщем

УДК 615.454.099:615.011/.015.13:616.314.16-008.1-092.8

ВИВЧЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ГЕЛЮ НА ОСНОВІ ЦЕФТРІАКСОНУ ТА НІМЕСУЛІДУ МЕТОДОМ *IN VIVO*

© О. П. Шматенко, В. О. Тарасенко, В. В. Шматенко

Українська військово-медична академія

Резюме: проведено біологічні дослідження методом *in vivo* щодо встановлення специфічної активності та нешкідливості розробленого м'якого лікарського засобу (гелю) з метою вивчення алергізувальної, місцевоподразнювальної дії, гострої токсичності на лабораторних тваринах.

Ключові слова: токсична дія, лабораторна тварина, сенсibiliзація, лікарський засіб, цефтріаксон, німесулід, морфологічні характеристики, гель.

Вступ. З метою визначення подразнювальної, присутності/відсутності сенсibiliзувальної дії гелю авторами була вивчена гостра токсичність для одержання токсикологічної характеристики розробленого лікарського засобу (ЛЗ), а також для з'ясування ступеня їх нешкідливості. Враховуючи те, що гель є засобом для зовнішнього застосування, було вивчено його можливий токсичний вплив при різних шляхах надходження до організму згідно з вимогами [2, 4, 5].

Оскільки до складу розробленого лікарського препарату входять діючі речовини (ДР), які використовують в медицині і дози кожного із компонентів невисокі, дослідження канцерогенної активності препаратів не проводили.

Токсикологічна характеристика м'якого лікарського засобу (МЛЗ) – гелю з цефтріаксоном і німесулідом вивчена в "гострому" дослідженні на теплокровних тваринах – білих щурах, білих мишах, морських свинках, кролях породи „шиншила” згідно з відповідними методиками [2, 3, 4, 5].

Методи дослідження. Матеріалами досліджень є гель, що містить німесулід та цефтріаксон.

Експериментальні дослідження щодо проведення токсикологічних досліджень – визначення ступеня небезпеки МЛЗ при різних шляхах впливу на організм (перорально, епікутано, вплив на шкірні покриви та слизові оболонки очей) проведено відповідно до вимог нормативних документів та рекомендацій [2, 3, 4, 5].

При спостереженні за проявом токсичної дії гелю при вивченні токсикологічних характеристик звертали увагу на зовнішній вигляд тварин, їх стан та поведінку, період розвитку прояву інтоксикації, динаміку маси тіла, масові коефіцієнти внутрішніх органів, вживання ними корму та води. Спостереження за тваринами проводили кожний день протягом 14 діб. Критерієм

ефективності були час прояву і ступінь виразності симптомів інтоксикації, присутність/відсутність летальності.

Визначення небезпечності гелю при введенні в організм пероральним шляхом проводили на лабораторних тваринах – білих щурах та мишах (самцях та самицях). Для досліджень відібрано здорових тварин: щурі масою 150–180 г та миші по 20–25 г. Кількість тварин у досліджуваних групах склала: щурів – 8, мишей – 10. Гель в нативному вигляді вводили тваринам у шлунково-кишковий тракт за допомогою залізного зонда.

Визначення ступеня небезпеки гелю при одноразовому нанесенні на шкірні покриви проводили на щурах (масою 200–220 г) та кролях (масою 2,0–2,5 кг). Гель в нативному вигляді (2500 мг/кг) наносили на оброблені, вистрижені від шерсті ділянки шкіри тварин розміром 2 x 2 см (щурі), 4 x 6 см (кролі). Кількість тварин в досліджуваних групах становила: щурів – 8, кролів – 3.

Результати й обговорення. У ході досліджень білі щури та миші внутрішньошлунково отримували гель в нативному виді в дозі 3000 мг/кг та 5000 мг/кг (гель – 100 % розчин).

Дані щодо виживання тварин наведено в таблиці 1.

Встановлено, що гель при одноразовому надходженні до шлунка лабораторних тварин за показником «середньосмертельна доза» (LD_{50}) належить до малонебезпечних сполук.

Дослідження із визначення токсичності гелю при одноразовому нанесенні на шкірні покриви тварин показало, що нанесення гелю в дозі 2500,0 мг/кг (експозиція 4 год) у нативному стані не призводило до візуальних змін у поведінці тварин, споживанні ними їжі та води, ознак подразнення шкірних покривів не відмічено. Таким чином, LD_{50} гелю при нанесенні на шкіру встановлено на рівні > 2500,0 мг/кг.

Таблиця 1. Показники токсичної дії гелю при одноразовому надходженні до шлунка піддослідних тварин

Вид тварин	Доза, мг/кг	Кількість тварин у групі		Летальність, %
		до введення	після введення	
Щури / самці	1000,0	6	6	0
	3000,0	6	6	0
	5000,0	6	6	0
Щури / самиці	1000,0	6	6	0
	3000,0	6	6	0
	5000,0	6	6	0
Миші / самці	1000,0	10	10	0
	3000,0	10	10	0
	5000,0	10	10	0

Вплив гелю при багаторазовому нанесенні на шкіру білих щурів оцінювали за поведінкою тварин, зміною маси тіла, картиною периферійної крові.

Тривале, протягом 14 діб, нанесення крему (гелю) на шкірні покриви білих щурів у дозі 1/10 ЛД₅₀ (250 мг/кг) не викликало будь-яких проявів інтоксикації у піддослідних тварин і не при-

зводило до летальності. Симптоми подразнення шкірних покривів були відсутні. Шкіра тварин мала звичайний вигляд, не спостерігали гіперемії, подразнень, набряку, виразок тощо. Дослідні тварини за зовнішнім виглядом, поведінкою та реакцією орієнтації у просторі не відрізнялись від контрольних (табл. 2).

Таблиця 2. Стан нервової системи білих щурів після 14-добового нанесення гелю

Тварини	Реакція орієнтації (кількість квадратів)	Нирковий рефлекс (зазирання, у хв)
Контроль	7,19 ± 1,35	1,45 ± 0,20
Дослід	6,72 ± 2,15	1,28 ± 0,22

Примітка. Кількість вимірів n = 5; P = 95 %.

При вивченні морфологічного стану периферійної крові встановлено такі показники: підвищення кількості лейкоцитів на 11,7 %; еозинофілів – на 18,7 %, зниження кількості моно-

цитів на на 19,5 %. Виявлено тенденцію до зниження рівня гемоглобіну – на 5,85 % для гелю. Виявлені зміни невірні, що свідчить про несуттєвий вплив на систему крові (табл. 3).

Таблиця 3. Показники морфологічного стану крові після 14-добового нанесення гелю на шкіру піддослідних тварин – білих щурів

Показники	Контроль	Дослід
Гемоглобін, ммоль/л	12,6 ± 0,33	11,3 ± 0,30
Еритроцити, 10 ¹² /л	9,5 ± 0,57	9,7 ± 0,16
Лейкоцити 10 ⁹ /л	29,2 ± 2,14	30,9 ± 2,70
Сегментоядерні нейтрофіли	18,1 ± 1,53	17,9 ± 0,82
Лімфоцити	72,1 ± 2,75	71,2 ± 3,20
Моноцити	7,61 ± 1,34	6,7 ± 0,90
Еозинофіли	3,3 ± 0,61	3,8 ± 0,40

Примітка. Кількість вимірів n = 5; P = 95 %.

Після закінчення експерименту (при багаторазовому нанесенні гелю на шкіру) на 14-ту добу було встановлено незначне – на 8,9 % зниження приросту маси тіла піддослідних тварин порівняно з контрольною групою (табл. 4).

Аналіз отриманих в кінці експерименту даних щодо абсолютної маси внутрішніх органів тварин та відносного коефіцієнта маси внутрішніх органів свідчить, що гель не викликає вірогідних змін даних показників (табл. 5, 6).

Дослідження подразнювальних властивостей гелю з цефтріаксоном і німесулідом при одно-

разовому нанесенні на шкіру проводили на двох видах тварин: білих щурах (вагою 200–220 г) та кролях (вагою 2,0–2,5 кг).

У результаті дослідження одноразове нанесення на шкіру білих щурів та кролів гелю у нативному вигляді не викликало проявів будь-яких симптомів подразнення; не було виявлено подразнювальної дії гелю і при багаторазовому нанесенні.

Експеримент із визначення подразнювальної дії МЛЗ на слизову оболонку очей проводили на кролях (крім альбіносів), яким одноразово у кон'юнктивальний мішок лівого ока вносили

Таблиця 4. Динаміка зміни маси тіла при 14-добовому нанесенні гелю на шкіру піддослідних тварин – білих щурів

Доза, мг/кг	Початкова маса тіла тварин (середні показники), г	Період досліджень		% щодо початкової маси
		7 доба	14 доба	
Контроль	240,2 ± 2,58	265,3 ± 2,70	281,3 ± 5,91	117,1
Дослід	240,9 ± 3,88	250,7 ± 5,90	261,3 ± 6,80	108,0

Примітка. Кількість вимірів n = 5; P = 95 %.

Таблиця 5. Абсолютна маса внутрішніх органів (г/кг) білих щурів після 14-добового нанесення гелю на шкіру піддослідних тварин

Назва органа	Абсолютна маса (середні показники), г/кг	
	контроль	дослід
Печінка	11,55 ± 0,42	10,73 ± 0,52
Легені	1,50 ± 0,08	1,35 ± 0,08
Селезінка	1,38 ± 0,12	1,21 ± 0,07
Серце	0,98 ± 0,05	0,79 ± 0,03
Мозок	1,70 ± 0,14	1,49 ± 0,09
Гонади	3,15 ± 0,11	2,92 ± 0,18
Наднирники	0,043 ± 0,003	0,039 ± 0,002
Нирки	1,93 ± 0,08	1,89 ± 0,05
Тимус	0,43 ± 0,03	0,41 ± 0,06

Примітка. Кількість вимірів n = 5; P = 95 %.

Таблиця 6. Відносні коефіцієнти маси внутрішніх органів (в г/кг) білих щурів після 14-добового нанесення гелю на шкіру піддослідних тварин

Назва органа	Відносні коефіцієнти маси внутрішніх органів	
	контроль	дослід
Печінка	40,63 ± 1,40	41,22 ± 1,04
Легені	5,58 ± 0,12	5,50 ± 0,39
Селезінка	4,87 ± 0,42	4,47 ± 0,29
Серце	3,37 ± 0,19	3,08 ± 0,10
Мозок	6,05 ± 0,53	5,86 ± 0,45
Гонади	11,09 ± 0,32	11,33 ± 0,61
Наднирники	0,15 ± 0,01	0,13 ± 0,01
Нирки	6,95 ± 0,37	7,25 ± 0,18
Тимус	1,48 ± 0,21	1,35 ± 0,12

Примітка. Кількість вимірів n = 5; P = 95 %.

50,0 мг гелю в нативному вигляді. За станом слизової оболонки ока спостерігали через 15 хв, 1, 3, 6 і 24 год та щоденно протягом 14 діб. Праве око слугувало контролем.

При введенні в кон'юнктивальний мішок очей кроликів 50,0 мг гелю в нативному вигляді не відмічали будь-яких симптомів подразнення слизових оболонок очей тварин протягом всього періоду спостереження. Дані результати підтверджують відсутність подразнювальних властивостей гелю при контакті із слизовими оболонками очей.

Визначення наявності сенсibiliзувальної дії проводили на 16 морських свинках (8 – контрольні тварини, 8 – піддослідні) масою 300-350 г, яким внутрішньошкірно в зовнішню повер-

хню вуха туберкуліновим шприцем одноразово вводили 200 мкг гелю (у фізіологічному розчині), контролем слугував фізіологічний розчин в кількості 200 мкл [1].

Проведені класичним методом дослідження щодо встановлення сенсibiliзувальної дії гелю показали, що у всіх тварин реакція шкіри була негативною. Щоб підтвердити отримані результати проведено алергодіагностичні дослідження (табл. 7).

Встановлено, що гель з цефтріаксоном і німесулідом у дослідах на морських свинках не проявляє резорбтивно-токсичної дії та подразнювальної дії на слизові оболонки очей, шкірні покриви, сенсibiliзувальні властивості відсутні.

Таблиця 7. Результати алергодіагностики у морських свинок

№ за/п	Реакція шкіри на дію, бали		РСЛД, %		РДТК, %	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
1	0	0	3,0	0,8	7,0	7,0
2	0	0	0	0	7,0	7,0
3	0	0	0	0	3,0	7,0
4	0	0	2,5	1,8	0	4,0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	7,0	7,0
7	0	0	2,0	2,6	7,0	7,0
8	0	0	0	0	7,0	3,0
M+m	0	0	0,94± 0,39	0,65±0,34	4,75 ±0,92	5,25 ±0,92

Примітка. Кількість вимірів n = 5; P = 95 %.

Таким чином, результати проведених нами токсикологічних досліджень дозволяють констатувати, що розроблений ЛЗ не містять токсичних речовин, заборонених до використання у фармацевтичній промисловості та може бути використаний для лікування запальних захворювань пародонта.

Висновки. Таким чином, проведені біо-

логічні дослідження щодо встановлення специфічної активності та нешкідливості розробленого МЛЗ – гелю з цефтріаксоном та нимесулідом для лікування запально-дистрофічних захворювань пародонта, що підтверджено результатами вивчення алергізувальної, місцево-подразнювальної дії, гострої токсичності на лабораторних тваринах.

Література

1. Алексеева О. Г. Аллергия к промышленным химическим соединениям / О. Г. Алексеева, Л. А. Дуева. – М. : Медицина, 1978. – 272 с.
2. Доклінічне дослідження лікарських засобів. : медичні рекомендації / Ред. чл. кор. АМН України О. В. Стефанов. – Київ, 2001. – 528 с.
3. Иванов Ю. И. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрочастицах по программам / Ю. И. Иванов, О. Н. Погорелюк. – М. : Медицина, 1990. – 217 с.

4. Сидоров К. К. Введение веществ в желудок, в трахею, под кожу, в вену и другие пути введения ядов лабораторным животным / К. К. Сидоров // Методы определения токсичности и опасности химических веществ. – М, 1976. – С. 87.
5. Токсикометрия химических веществ загрязняющих окружающую среду / под ред. А. А. Каспарова и И. В. Санюцкого. – М. : Центр международных проектов ГКНТ, 1986 – 426 с.

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ЦЕФТРИАКСОНА И НИМЕСУЛИДА МЕТОДОМ IN VIVO

А. П. Шматенко, В. А. Тарасенко, В. В. Шматенко

Украинская военно-медицинская академия

Резюме: проведены биологические исследования методом in vivo с целью установления специфической активности и опасности разработанного мягкого лекарственного средства (геля) с целью изучения алергизирующего, местнораздражающего действия, острой токсичности на лабораторных животных.

Ключевые слова: токсическое действие, лабораторное животное, сенсбилизация, лекарственное средство, цефтриаксон, нимесулид, морфологические характеристики, гель.

**STUDYING OF TOXIC ACTIVITY OF THE GEL ON THE BASIS OF CEFTRIAZONE AND NIMESULIDE
BY THE METHOD OF IN VIVO**

O. P. Shmatenko, V. O. Tarasenko, V. V. Shmatenko

Ukrainian Military Medical Academy

Summary: biological studies were undertaken by the method of in vivo with the purpose of establishment of specific activity and danger of the worked out soft medicinal means (gel) with the purpose of study of allergic, local irritating action, sharp toxicness on laboratory animals.

Key words: toxic action, laboratories animal, sensitization, medicinal facility, ceftriakson, nimesulid, morfological description, gel.