

Є. В. Залигіна

Порівняльне вивчення токсичності густого водно-спиртового екстракту з незрілих плодів горіха волоського та препарату Альтан за повторного введення щурам

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія
Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро

Ключові слова: екстракт густий водно-спиртовий з незрілих плодів горіха волоського, субхронічна токсичність, патоморфологічне дослідження

Серед вітчизняних та іноземних науковців сьогодні спостерігається тенденція до вивчення властивостей лікарських рослин та наукового обґрунтування доцільності застосування фітопрепаратів у клінічній медицині. Насамперед, це пов'язано з вмістом у лікарських рослинах комплексу біологічно активних речовин (БАР) [1–2]. Вони сприяють відновленню й нормалізації життєво важливих процесів, забезпечують організм необхідними мінералами й вітамінами, на певному рівні підтримують обмін речовин, при цьому відрізняються доброю переносимістю майже в усіх осіб та успішно застосовуються для профілактики та лікування багатьох захворювань.

Нашу увагу привернув горіх волоський (*Juglans regia* L.). Відомо, що він широко застосовується в народній медицині та гомеопатії, бо в своєму складі має величезну кількість БАР. Проаналізувавши дані літературних джерел, хімічний склад горіха волоського можна класифікувати таким чином: гідролізовані таніни мономери (казуариктин, казуаріїн, казуаринін, 1,2-ди-О-галоїл-4,6-О-(S)-ННDP-β-D-глюкопіраноза, еупростин, гемін D, глансрин А, глансрин В, глансрин С, 2,3-О-(S)-ННDP-D-глюкопіраноза, ізо-стрихнін, педункулагін, 1,2,3,4,6-пента-О-галоїл-β-D-глюкопіраноза, платикаріацин, прекохін, птерокаріїн, ругозин С, ругозин С метил естер, стахіуранін,

стенофіланін, стрихнін, телімаграндин I, телімаграндин II, 1,2,3,6-тетра-О-галоїл-β-D-глюкопіраноза, 1,2,4,6-тетра-О-галоїл-β-D-глюкопіраноза), димери гідролізованих танінів (1-дезгалоїлругозин F, глансрин D, гетерофілін, ругозин F), похідні елагової кислоти (елагова кислота, елагова кислота 4-О-ксилопіранозид), катехіни ((+)-катехін), похідні дикарбоксильованих кислот (глансрегінін А, глансрегінін В), нуклеїнових кислот (аденін, аденозин), амінокислоти (L-триптофан) [3–4]. Доведено, що всі ці речовини, незалежно одна від одної, виявляють антиоксидантний, цукрознижуючий, антипроліферативний, протимікробний, гастропротекторний, протизапальний та багато інших корисних ефектів в організмі людини, а в екстрактах горіха волоського ці речовини потенціюють дію одна одної та комплексно діють на відновлення функцій організму з мінімальними побічними ефектами [2–3, 5–8].

Аналіз існуючої інформації свідчить про те, що за своїм хімічним складом лікарська рослинна сировина горіха волоського може застосовуватися достатньо різнопланово, що відкриває широкі перспективи для створення на основі екстрактів з неї фармацевтичних препаратів [9–11].

Мета дослідження – вивчення профілю безпеки екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського за субхронічного введення порівняно з препаратом «Альтан».

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження став водно-спиртовий (екстрагент спирт етиловий 30 %) густий екстракт з незрілих плодів горіха волоського, який було отримано сумісно з

науковцями НФаУ (під керівництвом проф. В. А. Георгіяни) та стандартизовано за вмістом юглону методом високоефективної рідинної хроматографії.

Дослідження субхронічної токсичності екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського (ЕГВС) було проведено відповідно до методичних рекомендацій з експериментального вивчення субтоксичної дії потенційних лікарських засобів [12].

Для вивчення субхронічної токсичності ЕГВС за умов перорального введення використано 2,5-міс. білих нелінійних щурів обох статей середньої маси ($219,99 \pm 0,52$) г, розподілених на 3 групи по 10 тварин: 1 – контрольна група, яка отримувала еквівалентну кількість води (воду було обрано перш за все тому, що в процесі отримання ЕГВС після етапу сушки у вакуум-сушильній шафі до залишкової вологості спирт етиловий майже повністю випарюється, а по-друге, тому що воду використовували як розчинник для розведення екстракту до необхідної концентрації); 2 – щури, які отримували розчин ЕГВС в умовно-терапевтичній дозі з розрахунку 25 мг/кг (дозу було обрано на підставі попередньо одержаних результатів дослідження гострої токсичності та скринінгу доз з визначенням умовно-терапевтичної дози) [5, 8]; 3 – щури, яким вводили препарат порівняння «Альтан» (1 мг/кг). Тварини, яких використовували для проведення дослідження, знаходились в умовах віварію з дотриманням санітарно-гігієнічних норм на стандартному раціоні [12–13].

Препарати вводили щоденно впродовж 90 днів, тобто впродовж періоду, який не перевищує 10 % від середньої тривалості життя щурів (3 роки) [12].

Реєстрували специфічні (міоз, сльозотеча, салівація, діарея, зміна кольору сечі та фекалій, сонливість, тремор, судоми та ін.) та неспецифічні (зміна загального стану, положення та температури тіла тварин, кольору слизових оболонок) симптоми інтоксикації, спостерігали за фізичним станом тварин (зміни шкіряних покривів, слизових оболонок, очей та шерсті), зміною маси тіла, поведінковими, гематологічними, біохімічними показ-

никами, проводили гістологічне дослідження внутрішніх органів.

Вплив ЕГВС на поведінкові реакції тварин вивчали в тесті «відкрите поле» [14–19].

Досліди проведено на лабораторних тваринах з урахуванням рекомендацій Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р.) [20] та Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2007 р.) [21]. Досліди проводили в першій половині дня, реєстрацію показників проводили у вихідному стані, через 1 і 2 тижні, 1, 2, 3 міс.

Тварин виводили з експерименту в ранковий час шляхом етаназії під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). Для наркозу використовували ліофілізат для розчину для ін'єкцій Тіопентал 1,0 г. (ARTERIUM), серія 84942. Готували розчин тіопенталу натрію безпосередньо перед використанням на стерильній воді для ін'єкцій з метою отримання абсолютно прозорого розчину.

Біохімічні дослідження плазми крові, гомогенатів органів проводили з використанням стандартних тест-наборів НПВ «Філісіт-Діагностика» (Україна) згідно з загальноприйнятими методиками [22].

Гістологічне (мікроскопічне) вивчення органів щурів виконане згідно з загальноприйнятими методиками [12]. Зразки тканин дослідних та контрольних щурів були зафіксовані в 10 % розчині формаліну, зневоднені в спиртах зростаючої міцності, залиті в целоїдин-парафін. Для оглядової мікроскопії мікротомні зрізи фарбували гематоксином та еозином і досліджували стандартними методами світлової мікроскопії (мікрофотографування гістологічних препаратів під мікроскопом Zeiss «Primo Star» (Carl Zeiss Microscopy, Німеччина) здійснювали фотокамерою DCM 500 (ScopeTek, Китай)) [12].

Результати дослідження обробляли з застосуванням статистичного пакета програми «STATISTICA® for Windows 7.0» (StatSoft Inc.). Оцінку достовірності відмінностей середніх проводили за t-критерієм Стьюдента. Зміни вважали достовірними в разі $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. На 90 добу субхронічного введення препаратів, що досліджували, активність та поведінка тварин залишались звичайними, фізичний стан тварин був у нормі.

За даними таблиці 1, маса щурів упродовж вказаного терміну введення досліджуваних препаратів суттєво не відхилялась від фізіологічної норми. На 30 та 90 добу експерименту достовірних змін маси тіла відносно вихідного стану в усіх групах тварин зареєстровано не було.

Таким чином, за субхронічного введення ЕГВС та препарату порівняння спостерігали збереження стабільної маси тіла в експериментальних тварин, відхилень від фізіологічної норми не відмічали.

Вплив екстракту, що досліджувався, на поведінку тварин у тесті «відкрите

поле» наведено в таблиці 2. На початку експерименту показники поведінкових реакцій експериментальних тварин суттєвих відмінностей не мали. За субхронічного введення ЕГВС упродовж 90 діб не відзначали достовірних змін показників рухово-дослідницької активності та емоційних реакцій тварин порівняно з вихідним станом.

За субхронічного введення досліджуваного екстракту та препарату порівняння визначали зміни показників периферичної крові порівняно з інтактними тваринами (табл. 3). У разі введення ЕГВС у дозі 25 мг/кг знижувався рівень гемоглобіну на 6,62 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою. Для препарату порівняння цей показник був нижчим на 8,83 % ($p < 0,05$). Незначні коливання цього показника можливо пов'язані з вмістом залишко-

Таблиця 1

Динаміка маси тіла в тварин упродовж 90 діб, $\bar{x} \pm m$, $n = 6$

Група	Вихідний стан	30 доба	90 доба
Контрольна	221,02 $\pm$ 2,19	221,03 $\pm$ 2,34	218,05 $\pm$ 1,26
Екстракт густий водно-спиртовий з незрілих плодів горіха волоського, 25 мг/кг	220,45 $\pm$ 2,48	220,43 $\pm$ 2,50	220,33 $\pm$ 2,57
Альтан, 1 мг/кг	220,57 $\pm$ 2,01	220,58 $\pm$ 2,03	220,60 $\pm$ 2,03

Таблиця 2

Показники поведінки тварин у тесті «відкрите поле» під впливом екстракту густого водно-спиртового незрілих плодів горіха волоського ($\bar{x} \pm m$, $n = 6$)

Показник	Час реєстрації	Група піддослідних тварин		
		Контроль	Екстракт густий водно-спиртовий з незрілих плодів горіха волоського, 25 мг/кг	Альтан, 1 мг/кг
Перетнуто квадрати	Вихідний стан	16,83 $\pm$ 0,31	18,0 $\pm$ 0,58	17,0 $\pm$ 0,37
	90 доба	18,83 $\pm$ 0,31*	17,00 $\pm$ 0,37	16,67 $\pm$ 0,33
Обстежено отворів	Вихідний стан	1,50 $\pm$ 0,22	1,50 $\pm$ 0,22	1,50 $\pm$ 0,22
	90 доба	1,67 $\pm$ 0,21	1,50 $\pm$ 0,22	1,67 $\pm$ 0,33
Стійки	Вихідний стан	2,17 $\pm$ 0,17	4,33 $\pm$ 0,56	4,0 $\pm$ 0,26
	90 доба	1,67 $\pm$ 0,33	4,50 $\pm$ 0,22	3,50 $\pm$ 0,43
Грумінг	Вихідний стан	1,17 $\pm$ 0,17	1,17 $\pm$ 0,17	0,83 $\pm$ 0,31
	90 доба	1,33 $\pm$ 0,21	1,0 $\pm$ 0,26	1,17 $\pm$ 0,48
Болюси	Вихідний стан	1,0 $\pm$ 0,26	0,67 $\pm$ 0,21	1,0 $\pm$ 0,26
	90 доба	0,83 $\pm$ 0,17	0,50 $\pm$ 0,22	1,0 $\pm$ 0,37

Примітка. * $p < 0,05$ порівняно з вихідним станом; n – кількість тварин у групі

вої кількості спирту, який здатен зменшувати цей показник за рахунок гемолізу еритроцитів. За такими основними критеріями оцінки гематологічних показників, як ШОЕ, загальна кількість еритроцитів та лейкоцитів, гематокрит, значущих змін та відхилень від контрольної групи не реєстрували. Таким чином, препарати, що вивчали, за субхронічного внутрішньошлункового введення щурам не викликають патологічних змін показників крові білих щурів.

Дослідження біохімічних показників плазми крові після субхронічного внутрішньошлункового введення ЕГВС та препарату порівняння Альтану проводили наприкінці експерименту на 90 добу введення препаратів, що вивчали. Для контролю за показниками функцій гепатобіліарної системи оцінювали вміст загальних ліпідів, холестерину, β -ліпопротеїдів. Стан азотистого обміну характеризували за показниками вмісту креатиніну та сечовини. Для оцінки стану вуглеводного та білкового обміну визначали вміст глюкози та загального білка. Результати досліджень наведено в таблиці 3.

За даними таблиці 3, субхронічне введення досліджуваного екстракту впродовж 3 міс. викликає достовірно значущі зміни рівня глюкози крові – за введення ЕГВС у дозі 25 мг/кг рівень цукру знизився майже на 20,55 % ($p < 0,05$). Це можна пояснити здатністю БАР, які входять до складу екстракту з незрілих плодів горіха волоського, збільшувати розмір островців Лангерганса, підвищувати рівень інсуліну та знижувати рівень глікозилизованого гемоглобіну [23–27]. На тлі прийому препарату порівняння вміст глюкози відносно контролю знижується (–4,14 %) не достовірно.

Дані таблиці 3 демонструють незначні коливання вмісту загального білка та сечовини крові на тлі введення ЕГВС у дозі 25 мг/кг та препарату порівняння, уміст їх в крові в межах фізіологічної норми.

Уведення Альтану супроводжувалось підвищенням рівня холестерину на 18,63 % ($p < 0,05$). Навпаки, на тлі введення ЕГВС у дозі 25 мг/кг рівень холестерину порівняно з контролем знизився на 8,75 %, але це відхилення не є достовірно значущим.

Таблиця 3

Біохімічні та гематологічні показники в тварин за пливу екстракту густого водно-спиртового незрілих плодів горіха волоського ($M \pm m$, $n = 6$)

Показник	Контроль	ЕГВС, 25 мг/кг	Альтан, 1 мг/кг
Уміст глюкози в крові, ммоль/л	6,52 $\pm$ 0,06	5,18 $\pm$ 0,11*	6,25 $\pm$ 0,12
Уміст загального білка в крові, г/л	60,41 $\pm$ 0,57	60,75 $\pm$ 0,65	58,54 $\pm$ 0,76
Концентрація сечовини в плазмі крові, ммоль/л	7,03 $\pm$ 0,11	7,10 $\pm$ 0,09	7,12 $\pm$ 0,08
Уміст креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	57,35 $\pm$ 0,11	56,25 $\pm$ 0,18*	57,53 $\pm$ 0,16
Холестерин, ммоль/л	2,63 $\pm$ 0,08	2,40 $\pm$ 0,07	3,12 $\pm$ 0,09*
Загальні ліпіди, ммоль/л	131,28 $\pm$ 1,12	122,15 $\pm$ 1,03*	149,28 $\pm$ 1,37*
β -ліпопротеїди, у. о.	28,17 $\pm$ 0,39	10,0 $\pm$ 0,34*	21,88 $\pm$ 0,65*
Гемоглобін, г/л	131,68 $\pm$ 1,4	122,96 $\pm$ 1,95*	120,05 $\pm$ 0,42*
ШОЕ, мм/год	2,62 $\pm$ 0,04	2,57 $\pm$ 0,04	2,57 $\pm$ 0,03
Гематокрит, %	39,35 $\pm$ 0,30	39,08 $\pm$ 0,39	40,05 $\pm$ 0,13
Еритроцити, 10^{12} од/л	6,83 $\pm$ 0,07	6,73 $\pm$ 0,10	6,63 $\pm$ 0,12
Лейкоцити, 10^9 од/л	10,32 $\pm$ 0,15	10,02 $\pm$ 0,12	9,68 $\pm$ 0,24

Примітка. * $p < 0,05$ порівняно з контролем; n – кількість тварин у групі.

У разі введення ЕГВС у дозі 25 мг/кг уміст загальних ліпідів знизився на 6,95 %, а за введення Альтану цей показник збільшився на 13,71 % ($p < 0,05$). У всіх досліджуваних групах спостерігали зниження рівня β -ліпопротеїдів: за введення ЕГВС спостерігали зниження на 64,50 % ($p < 0,05$), препарат порівняння знижував цей показник на 22,33 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою тварин.

Отже, тримісячне внутрішньошлункове введення ЕГВС у дозі 25 мг/кг не викликає суттєвих патологічних змін показників ліпідного обміну.

Подальшим етапом дослідження було вивчення впливу ЕГВС на стан внутрішніх органів за результатами патоморфологічного дослідження.

В органах тварин, які отримували Альтан й ЕГВС, гістологічна картина була подібна й не мала суттєвих відмінностей.

У разі дослідження серця щурів контрольної групи було виявлено зернисту дистрофію кардіоміоцитів і незначний проміжний набряк. Між кардіоміоцитами розташовуються прошарки пухкої сполучної тканини, судини, нервові волокна (рис. 1а). У серці тварин, які отримували ЕГВС, на тлі нормальної гістоструктури, виявлено помірне повнокров'я, незначний інтерстиційний набряк та зернисту дистрофію міокардіоцитів (рис. 1б).

У разі дослідження паренхіми печінки контрольної групи тварин

було виявлено печінкові часточки, покриті плоскими ендотеліоцитами та розсіяними між ними зірчастими макрофагами. Гепатоцити тісно прилягають один до одного. У зразку препарату печінки щура виявлено помірне повнокров'я, зернисту дистрофію гепатоцитів, незначні лімфоцитогістiocитарні інфільтрати поблизу порталних трактів. У стромі проходять кровоносні судини та жовчні протоки (рис. 2а). Гістологічна структура печінки щурів, які отримували Альтан і ЕГВС, не мала патологічних змін. Жовчні капіляри, розташовані між печінковими балками, мали просвіт звичайної форми, без ділянок розширення. Синусоїди печінкових часток мали однаковий просвіт. У центральних і периферичних відділах печінкових часток явищ стазу не виявлено, що свідчить про нормальний стан мікроциркуляторного русла в органі. Мали місце помірне повнокров'я, зерниста дистрофія гепатоцитів, незначна лімфоцитогістiocитарна інфільтрація порталних трактів (рис. 2б).

Нирки інтактних щурів вкриті сполучнотканинною капсулою. Паренхіма нирок представлена епітеліальними нирковими каналцями, а ниркові клубочки – клубками капілярів з наявністю помірної кількості мезангіоцитів між капілярними петлями. Проксимальні відділи ниркових каналців вистелені кубічним епітелієм з еозинофільною, злегка зернистою цитоплаз-

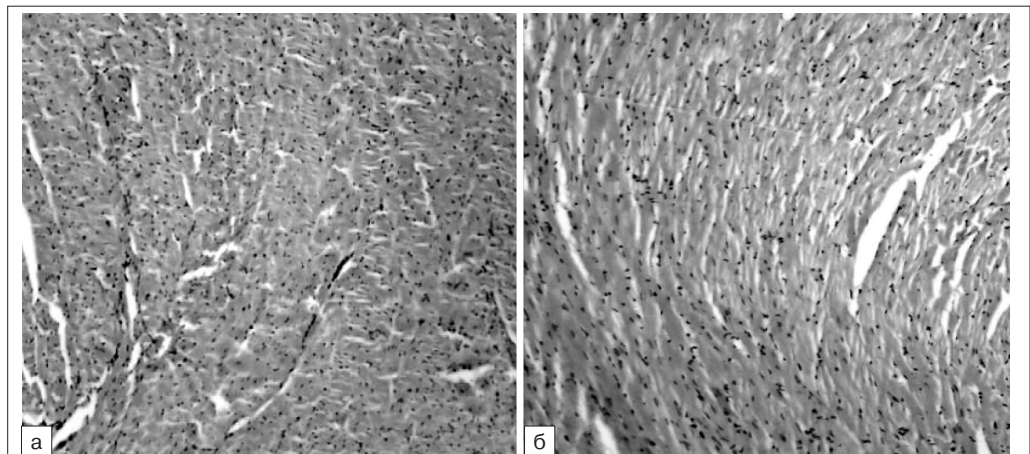


Рис. 1. Препарат серця щура контрольної групи (а) та на тлі субхронічного введення екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського (б). Забарвлення гематоксилін і еозин, зб. $\times 100$

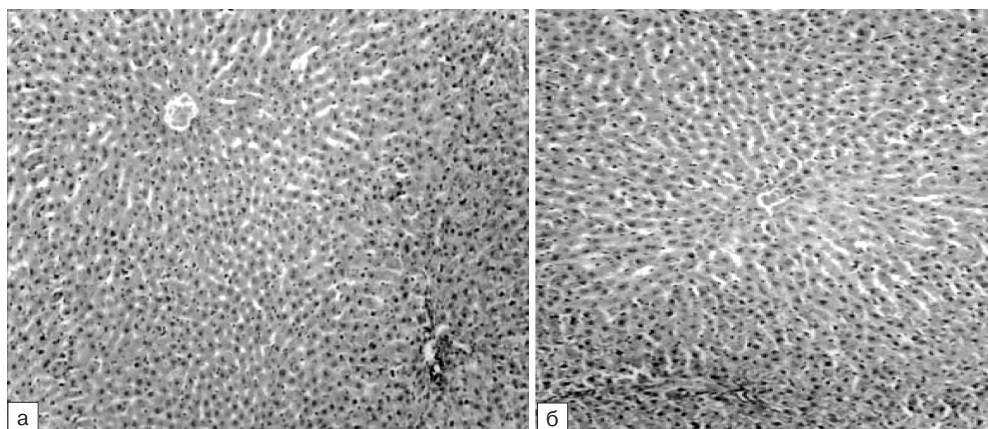


Рис. 2. Препарат печінки щура контрольної групи (а) та на тлі субхронічного введення екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського (б). Забарвлення: гематоксилін і еозин, зб. $\times 100$

мою, а дистальні – однорядним епітелієм циліндричної форми з базально розташованим ядром і базофільно пофарбованою цитоплазмою. Гісто-структура органу відповідає нормі (рис. 3а).

У нирках щурів, які отримували ЕГВС, на тлі нормальної гістоструктури виявлено помірне повнокров'я, зернисту дистрофію епітелію проксимальних канальців, нерівномірно виражені ознаки помірного набухання епітелію канальців (рис. 3б).

У легенях щурів контрольної групи відмічається помірне повнокров'я, альвеоли мають приблизно однакову повітряність, розділені сполучнотканинними перегородками, в яких проходять

кровоносні капіляри. У полі зору знаходяться поодинокі невеликі вогнищеві периваскулярні лімфоїдні інфільтрати (рис. 4а). Легені тварин, що отримували ЕГВС, були помірно повнокровними, без ознак запалення (рис. 4б).

У контрольній групі при розгляді селезінки тварин спостерігається її помірне повнокров'я, лімфатичні фолікули мають однаковий розмір, без ознак гіперплазії. Біла пульпа являє собою сукупність лімфоїдної тканини, розташованої в адвентиції її артерій у вигляді кулястих скупчень або вузликів, утворених Т- і В-лімфоцитами, плазмоцитами та макрофагами (рис. 5а). Селезінка тварин, що отримували ЕГВС, мала помірно повнокровну пуль-

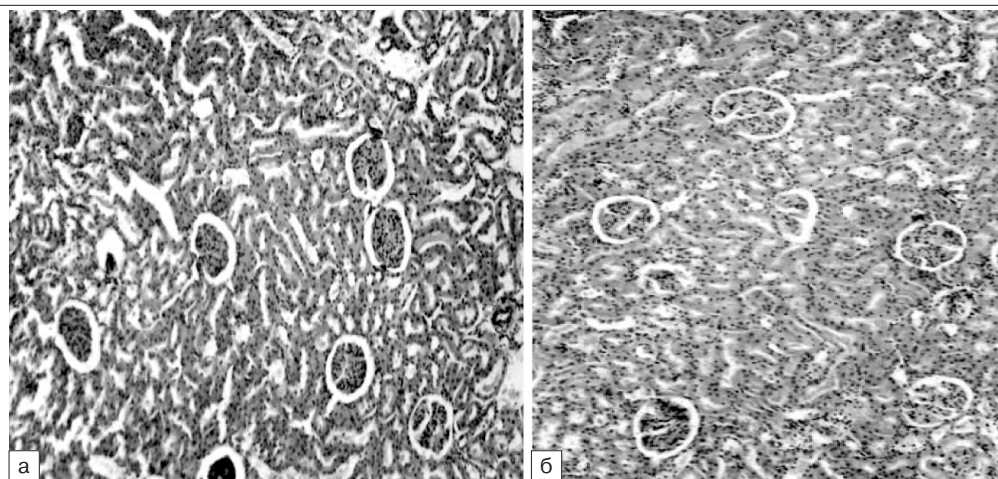


Рис. 3. Препарат нирки щура контрольної групи (а) та на тлі субхронічного введення екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського (б). Забарвлення: гематоксилін і еозин, зб. $\times 100$

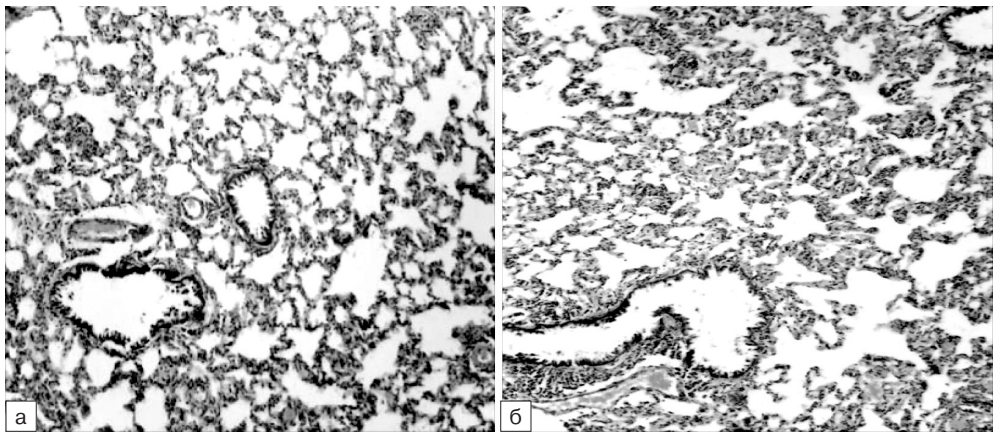


Рис. 4. Препарат легень щура контрольної групи (а) та на тлі хронічного введення екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського (б). Забарвлення гематоксилін і еозин, зб. $\times 100$

пу, лімфатичні фолікули були звичайної будови (рис. 5б).

Слизова залозистої частини шлунка щурів з групи інтактного контролю в ділянці дна вистлана покривним епітелієм, клітини якого мають помірно високу циліндричну форму. У напрямку від верхівки шлункового валика до шлункової ямки висота епітеліальних клітин поступово зменшується. Залози дна (власні) розташовані щільно. Розташування та взаємовідношення залозистих клітин – типове. Слизові клітини займають, головним чином, початкову частину тіла залоз поблизу шийки, їхня цитоплазма світла, секрет – слабобазофільний. Парієтальні клітини, що секретують соляну кислоту,

за кількістю преважують над іншими залозистими клітинами, їхня цитоплазма – доволі потужно еозинофільна. Головні клітини переважають у базальних відділах залоз. Цитоплазма містить білкові гранули, що фарбуються гематоксиліном. Строма слизової – помірно повнокровна, містить варіабельну кількість лімфоцитів та еозинофільних клітин. У шийчному відділі власних залоз мають місце недиференційовані (камбіальні) епітеліоцити та нейроендокринні клітини (рис. 6а). У шлунках тварин, що одержували ЕГВС, можна відзначити повнокров'я слизової оболонки, помірний набряк стромы фовеолярного шару, розширення просвіту власних

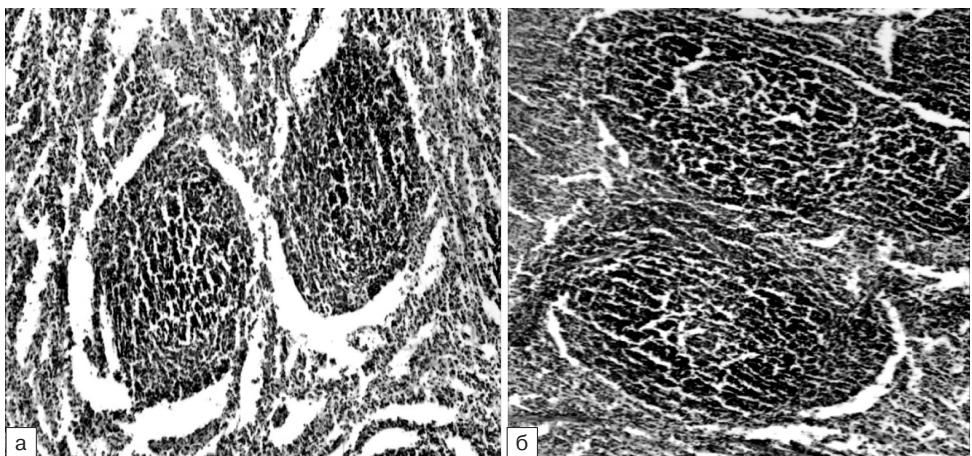
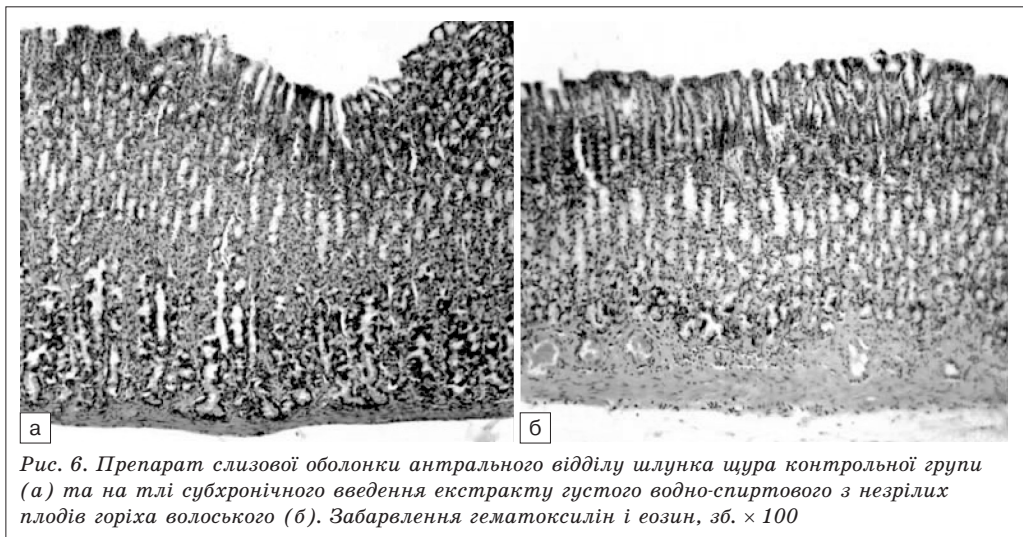


Рис. 5. Препарат селезінки щура контрольної групи (а) та на тлі субхронічного введення екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського (б). Забарвлення гематоксилін і еозин, зб. $\times 100$



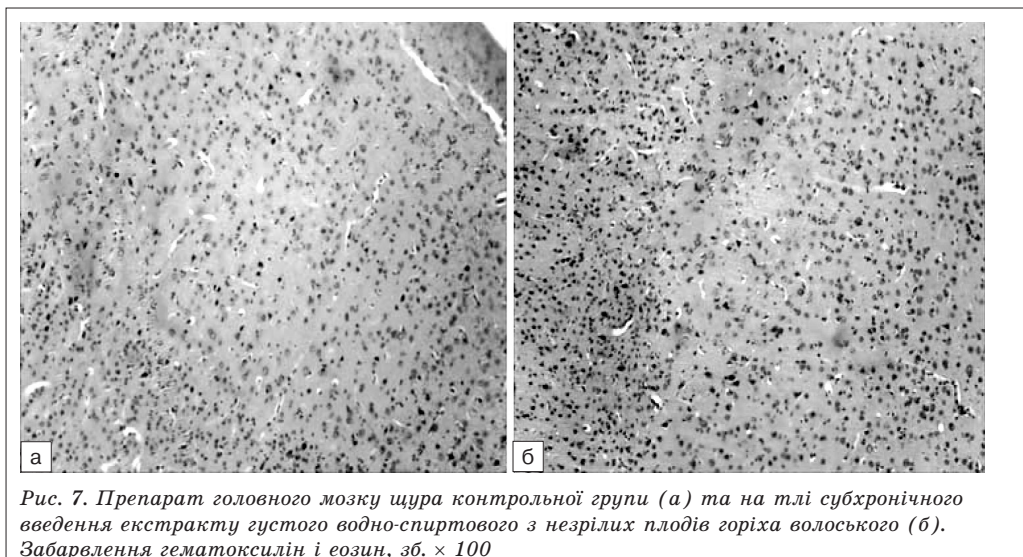
залоз, переважно в шийчному відділі, що може свідчити про посилення слизоутворення (рис. 6б).

Під час гістологічного дослідження головного мозку контрольної групи тварин виявлено незначний периваскулярний і перичелюлярний набряк. Сіра речовина складається з нейронів різного типу, а біла представлена пучками нервових волокон. Головний мозок містить клітини всіх видів макроглії (астроцитарної, епендимної й олигодендроглії), а також мікроглію. Серед нейрогліальних елементів знаходяться кровоносні судини та капіляри (рис. 7а). За гістологічного дослідження тканини головного мозку її будова була звичайною, спостерігався незначний

периваскулярний та перичелюлярний набряк (рис. 7б).

Висновки

Показано, що за субхронічного (протягом 90 діб) внутрішньошлункового введення ЕГВС щурам у дозі 25 мг/кг та Альтану 1 мг/кг маса тіла експериментальних тварин залишається стабільною, не відзначено статистично значущих змін показників поведінки тварин у тесті «Відкрите поле» порівняно з вихідним станом, гематологічних і більшості біохімічних показників у крові за винятком зменшення наприкінці експерименту вмісту глюкози, загальних ліпідів та β -ліпопротеїдів під впливом ЕГВС (на відміну



від Альтану), що, на нашу думку, може бути зумовлено специфічними фармакологічними (зокрема, гіпоглікемічними, антиатерогенними) властивостями досліджуваного екстракту та потребує подальших досліджень.

Гістологічна будова внутрішніх органів щурів, які отримували ЕГВС та

препарат Альтан, не мала суттєвих відмінностей від групи контролю, патологічних змін не виявлено, що свідчить про безпечність застосування ЕГВС.

Таким чином, отримані результати досліджень дозволяють розглядати ЕГВС як безпечний лікувальний засіб, придатний для тривалого застосування.

1. Ковальов В. М. Фармакогнозія з основами біохімії рослин / В. М. Ковальов, О. І. Павлій, Т. І. Ісакова. – Харків : «Прапор», вид. НФаУ, 2000 – 703 с.
2. Солодовниченко Н. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати / Н. М. Солодовниченко, М. С. Журавльов, В. М. Ковальов. – Харків : Вид-во НФаУ: «Золоті сторінки», 2001. – 408 с.
3. Tree Nuts. (Walnut polyphenols: structures and functions); ed. by Toshiyuki Fukuda / Tree Nuts: Composition, Phytochemicals, and Health effects: ed. by Cesaretin Alasalvar and Fereidoon Shahidi // Nutraceutical Science and Technology: ed. by Fereidoon Shahidi. – Boca Raton/London/New York : CRC Press Taylor & Francis Grup, 2009. – 307 p.
4. Подходы к оценке эквивалентности воспроизведенных лекарственных средств в современной фармацевтической практике / К. С. Давыдова, И. Е. Шохин, Г. В. Раменская, В. Г. Кулес // Вісник фармації. – 2010. – № 3 (63). – С. 66–68.
5. Залигіна Є. В. Скринінгове дослідження противиразової активності густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2016. – № 6. – С. 47–52.
6. Залигіна Є. В. Експериментальне дослідження впливу густого екстракту з незрілих плодів горіха волоського на функціональні показники роботи шлунково-кишкового тракту / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня // Зб. матеріалів VIII Національного з'їзду фармацевтів України 13–16 вересня 2016р. – Харків, 2016. – С. 45.
7. Zalygina E. V. Antimicrobial activity of thick aqueous-alcoholic extract of unripe walnut fruits / E. V. Zalygina, I. P. Koshova, E. A. Podpletnyaya // East European Scientific. – 2017. – № 1. – P. 127–134.
8. Залигіна Є. В. Дослідження гострої токсичності та протизапальної дії екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня, В. Ю. Слесарчук // Український біофармацевтичний журнал. – 2017. – № 2 (49). – С. 44–47.
9. Гастроцитопротекторні властивості лікарських рослин в фармакотерапії кислотозалежних захворювань ШКТ / Т. М. Потапова, Є. В. Залигіна, К. В. Соколова [та ін.] // Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні проблеми клінічної, теоретичної, профілактичної медицини, стоматології та фармації», 8–9 квітня 2016 р. м.Одеса. – Одеса, 2016. – С. 149–153.
10. Залигіна Є. В. Незрілі плоди горіха волоського – перспективна лікарська сировина для отримання лікарських препаратів комплексного впливу на розлади шлунково-кишкового тракту / Є. В. Залигіна // Зб. матеріалів II Міжнар. науково-практичної конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» 21–23 березня 2016 р. – Харків, 2016. – С. 110.
11. Залигіна Є. В. Актуальність розробки вітчизняних фітопрепаратів з горіха волоського / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня // Фітотерапія. Часопис. – 2016. – № 2. – С. 29–31.
12. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; за ред. О. В. Стефанова. – Київ : ВД «Авіцена», 2002. – 527 с.
13. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария [и др.]. Киев : Вища школа, 1983. – 383 с.
14. Абуладзе Г. В. Изучение эмоциональности крыс и мышей в поведенческих и фармакологических экспериментах методом «открытое поле» / Г. В. Абуладзе // Изд. РН СССР, сер. Биол. – 1983. – Т. 9, № 3. – С. 156–165.
15. Калусев А. В. Стресс. Тревожность и поведение. Актуальные проблемы моделирования тревожного поведения у животных / А. В. Калусев. – Киев, 1998. – 95 с.
16. Чайченко Г. М. Зависимость обучения крыс от их общей возбудимости / Г. М. Чайченко // Журнал высшей нервной деятельности им. Павлова. – 1982. – Т. 32, № 5. – С. 980–982.
17. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон; под ред. проф. А. С. Батуева. – Москва, 1991. – 400 с.
18. Новый метод оценки тревожно-фобических состояний у крыс / В. И. Родина, Н. А. Крупина, Г. Н. Крыжановский, Н. Б. Окнина // Высшая нервная деятельность. – 1993. – № 43 (5). – С. 1006–1017.
19. Кулагин Д. А. Исследование эмоциональности у крыс линии Вистар и Крушинского-Молодиной методом «открытого поля» / Д. А. Кулагин, В. Н. Федоров // Генетика поведения. – Ленинград : Наука, 1969. – С. 35–42.
20. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of European. – Strasbourg. – 1986. – № 123. – 51 p.
21. Сучасні проблеми біоетики: відп. ред. Ю. І. Кундієв. – Київ : Академперіодика, 2009. – 278 с.

22. Энциклопедия клинических и лабораторных тестов; под ред. Н. У. Тица [перевод с англ. под ред. В. В. Меньшикова]. – Москва : Лабинформ, 1997. – 948 с.
23. The hypoglycemic effect of *Juglans regia* leaves aqueous extract in diabetic patients: A first human trial / S. Hosseini, H. F. Huseini, B. Larijani [et al.] // *Daru*. – 2014. – V. 22 (1). – P. 19. – Published online 2014 Jan 21. doi: 10.1186/2008-2231-22-19 Pubmed, Medline,PDF.[PubMed] [Cross Ref]
24. The effect of hydro alcoholic extract of *Juglans regia* leaves in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats / J. Mohammadi, H. Delaviz, J. Malekzadeh, A. Roozbehi // *Pak J Pharm Sci*. – 2012. – V. 25 (2). – P. 407–11. – Pubmed, Medline,PDF.[PubMed] [Cross Ref]
25. *Gholamreza K.* Effects of walnut leaf aqueous extract on blood sugar and lipids in male diabetic rats / K. Gholamreza, B. Hossein // *Saudi Med J*. –2008. – V. 29 (9). – P. 1350–2. Pubmed, Medline, PDF. [PubMed] [Cross Ref]
26. Effect of ethanolic extract of *Juglans regia* L. on blood sugar in diabetes-induced rats / S. Asgary, S. Parkhideh , A. Solhpour [et al.] // *J Med Food*. – 2008. – V. 11 (3). – P. 533–8. doi: 10.1089/jmf.2007.0611. -Pubmed, Medline,PDF.[PubMed] [Cross Ref]
27. Maintaining a physiological blood glucose level with 'glucoselevel', a combination of four anti-diabetes plants used in the traditional arab herbal medicine / O. Said, S. Fulder, K. Khalil [et al.] / *Evid Based Complement Alternat Med*. – 2008. – V. 5 (4). – P. 421–428. -doi: 10.1093/ecam/nem047. Pubmed, Medline,PDF.[PubMed] [Cross Ref]

Є. В. Залигіна

Порівняльне вивчення токсичності густого водно-спиртового екстракту з незрілих плодів горіха волоського та препарату Альтан за повторного введення шурам

Мета дослідження – вивчення профілю безпеки екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського (ЕГВС) (*Juglans regia* L.) за субхронічного введення порівняно з препаратом «Альтан».

Дослідження субхронічної токсичності ЕГВС було проведено відповідно до «Методичних рекомендацій з експериментального вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів».

Показано, що за субхронічного (протягом 90 діб) введення ЕГВС у дозі 25 мг/кг та Альтану 1 мг/кг маса тіла експериментальних тварин залишається стабільною, відхилень від фізіологічної норми не відмічено, не відзначали також статистично значущих змін показників поведінки тварин у тесті «Відкрите поле» порівняно з вихідним станом.

Встановлено, що досліджувані препарати за субхронічного внутрішньошлункового введення шурам не викликають зміни гематологічних та більшості біохімічних показників у крові за винятком зменшення наприкінці експерименту вмісту глюкози, загальних ліпідів та β-ліпопротеїдів під впливом ЕГВС (на відміну від Альтану), що, на нашу думку, може бути зумовлено специфічними фармакологічними (зокрема, гіполікемічними й антиатерогенними) властивостями досліджуваного екстракту та потребує подальших досліджень.

Гістологічна будова внутрішніх органів шурів, які отримували ЕГВС та препарат Альтан, не мала суттєвих відмінностей від групи контролю, патологічних змін не виявлено, що свідчить про безпечність застосування ЕГВС.

Таким чином, отримані результати досліджень дозволяють розглядати ЕГВС як безпечний лікувальний засіб, придатний для тривалого застосування.

Ключові слова: екстракт густий водно-спиртовий з незрілих плодів горіха волоського, субхронічна токсичність, патоморфологічне дослідження

Е. В. Залыгина

Сравнительное изучение токсичности густого водно-спиртового экстракта из незрелых плодов ореха грецкого и препарата Альтан при повторном введении крысам

Цель исследования – изучение профиля безопасности экстракта густого водно-спиртового из незрелых плодов ореха грецкого (ЭГВС) (*Juglans regia* L.) при субхроническом введении крысам по сравнению с препаратом «Альтан».

Исследование субхронической токсичности ЭГВС было проведено в соответствии с «Методическими рекомендациями по экспериментальному изучению токсического действия потенциальных лекарственных средств».

Показано, что при субхроническом (на протяжении 90 сут) введении ЭГВС в дозе 25 мг / кг и Альтана 1 мг/кг масса тела экспериментальных животных остается стабильной, отклонений от физиологической нормы не отмечено, не отмечали также статистически значимых изменений показателей поведения животных в тесте «Открытое поле» по сравнению с исходным состоянием.

Установлено, что исследуемые препараты при субхроническом внутрижелудочном введении крысам не вызывают изменений гематологических и большинства биохимических показателей в крови за исключением уменьшения к концу эксперимента содержания глюкозы, общих липидов и β-липопротеидов под влиянием ЭГВС (в отличие от Альтана), что, по нашему мнению, может быть

обусловлено специфическими фармакологическими (в частности, гипогликемическими и антиатерогенными) свойствами исследуемого экстракта и требует дальнейших исследований.

Гистологическая структура внутренних органов крыс, получавших ЭГВС и препарат сравнения Альтан, существенно не отличалась от таковой в группе контроля, патологических изменений не выявлено, что свидетельствует о безопасности применения ЭГВС.

Таким образом, полученные результаты исследования позволяют рассматривать ЭГВС как безопасное лекарственное средство, предназначенное для длительного применения.

Ключевые слова: экстракт густой водно-спиртовой из незрелых плодов ореха грецкого, субхроническая токсичность, патоморфологическое исследование

I. V. Zalygina

A comparative study of the toxicity of a thick water-alcohol extract from unripe Walnut fruit and Altan under repeated administrations to rats

The aim of this study was to evaluate the safety profile of thick water-alcohol extract from unripe Walnut fruit (EGVC) (*Juglans regia* L.) in subchronic administration and to compare it with such of Altan preparation.

The subchronic toxicity of EGVC was carried out according to the «Methodological recommendations for the experimental study of the toxic effect of potential medicines».

There was shown that after subchronic (within 90 days) administration of EGVC at a dose of 25 mg/kg and Altan 1 mg/kg the body weight of experimental animals remained stable, no deviations from the physiological norm were observed and also there were no significant changes in the rates of motor and research activities of animals in comparison with the initial state.

In the course of the experiment, there were established that the studied drugs at subchronic intragastric administration to rats do not cause pathological changes in hematological and most biochemical indices, except for reducing glucose, total lipids and β -lipoproteins levels in the blood under influence of EGVC (unlike Altan), which, in our opinion, may be due to specific pharmacological (hypoglycemic, antiatherogenic) properties of extract and requires further study.

The histological structure of the internal organs of rats treated with EGVC and Altan did not differ from such of the control group, no pathological changes were detected, which indicates the safety of the EGVC under subchronic administration.

Thus, the results obtained allow considering EGVC as a safe medicine intended for long-term use.

Key words: the thick water-alcohol extract from unripe Walnut fruit, subchronic toxicity, pathomorphological study

Надійшла: 5 листопада 2017 р.

Контактна особа: Залигіна Євгенія Володимирівна, викладач, здобувач, кафедра загальної та клінічної фармації, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», буд. 9, вул. Володимира Вернадського, м. Дніпро, 49044. Тел.: + 38 0 56 713 52 57.
Електронна пошта: avis.rara@hotmail.com.