

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ СУБСТАНЦИИ ГИДРОХЛОРИДА β-ФЕНИЛГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ МЫШАМ И КРЫСАМ

Л. И. Бугаева, И. Н. Тюренков, В. В. Багметова, Ю. В. Чернышева, Е. А. Кузубова

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра фармакологии и биофармации ФУВ, кафедра фармакологии,
Научно-исследовательский институт фармакологии*

Установлено, что субстанция гидрохлорид β-фенилглутаминовой кислоты относится к классу малотоксичных соединений, LD_{50} при внутрижелудочном введении мышам самкам составляет 4196,50 (3222,49—5464,92) мг/кг (суточная) и 3632,53 (2786,64—4735,20) мг/кг (2-недельная), мышам самцам 3837,76 (2861,33—5147,41) мг/кг (суточная) и 3167,02 (2500,92—4010,53) мг/кг (2-недельная); крысам самкам — 8487,25 (7362,79—9783,44) мг/кг (суточная) и 6976,79 (6141,00—7926,33) мг/кг (2-недельная), крысам самцам — 9433,68 (8379,49—10620,5) мг/кг (суточная) и 7185,12 (6265,10—8240,23) мг/кг (2-недельная). В картине интоксикации отмечены эффекты депривации центральной нервной системы: седация, мышечная гипотония, гипорефлексия без существенного влияния на частоту дыхания.

Ключевые слова: производные глутаминовой кислоты, гидрохлорид β-фенилглутаминовой кислоты, лекарственная безопасность, острая токсичность, LD_{50} .

ACUTE TOXICITY OF β-PHENYLGLUTAMIC ACID SUBSTANCE IN SINGLE ENDOGASTRIC INTRODUCTION TO MICE AND RATS

L. I. Bugaeva, I. N. Tyurenkov, V. V. Bagmetova, Yu. V. Chernysheva, E. A. Kuzubova

It was ascertained that the substance of hydrachloride of β-phenylglutamic acid belongs to the class of low-toxic compounds. When introduced endogastrically to female mice, its LD_{50} forms 4196,50(3222,49—5464,92) mg/kg (daily) and 3632.53(2786.64—4735.20)mg/kg (two-week), when introduced endogastrically to male mice — 3837.76(2861.33—5147.41) mg/kg (daily) and 3167.02 (2500.92—4010.53) mg/kg (two-week); to female rats — 8487.25(7362.79—9783.44) mg/kg (daily) and 6976.79(6141.00—7926.33) mg/kg (two-week), to male rats — 9433.68(8379.49—10620.5) mg/kg (daily) and 7185.12(6265.10—8240.23) mg/kg (two-week). CNS deprivation effects were noted in the intoxication pattern: sedation, muscular hypotonia, hyporeflexia without any essential effect on the respiratory rate.

Key words: glutamic acid derivatives, hydrachloride of β-phenylglutamic acid, medicamentous safety, acute toxicity, LD_{50}

В ряде работ фармакологов Волгоградского государственного медицинского университета показана перспективность разработки психотропных веществ на основе производных глутаминовой кислоты [4, 5, 6, 7]. В ряду структурных аналогов глутаминовой кислоты с гетероциклическими и ароматическими заместителями в β-положении выделены вещества, обладающие РГПУ-146 — антидепрессивным, РГПУ-202 — анксиолитическим, антидепрессивным и седативным [5], РГПУ-197 — анксиолитическим, антигипоксическим, ноотропным и стресспротекторным [1, 4], РГПУ-198 и РГПУ-199 — активирующим и ноотропным действием [2, 4]. Совместно с химиками Российского государственного педагогического университета им. А. И. Герцена (Санкт-Петербург, Россия) разработано новое производное глутаминовой кислоты — гидрохлорид β-фенилглутаминовой кислоты с лабораторным шифром РГПУ-135 (глутарон), у которого выявлена высокая антидепрессивная активность, сопоставимая с активностью трициклических антидепрессантов, а также анксиолитические и нейрорепротекторные свойства [5, 8, 11]. При внутрибрюшинном введении мышам и крысам по степени острой токсичности субстанция РГПУ-135 может быть отнесена к классу малотоксичных [3]. При этом также показана

хорошая растворимость субстанции в воде и высокая степень биодоступности, что позволяет прогнозировать ее эффективность при пероральном применении. Ввиду этого сочли целесообразным выполнить изучение острой токсичности субстанции РГПУ-135 при внутрижелудочном введении мышам и крысам.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение острой токсичности субстанции гидрохлорида β-фенилглутаминовой кислоты при однократном внутрижелудочном введении мышам и крысам.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на аутбредных половозрелых животных обоего пола 3,5—4-месячного возраста: 60 белых мышам, массой 21—25 г, и 60 белых крысах, массой 180—220 г, полученных из питомника ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» РАМН. При проведении экспериментов учитывали «Принципы надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ Р-53434-2009) и правила, принятые Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986). До начала эксперимента животные в течение 2 недель находи-

лись на карантине, по окончании которого распределялись на опытные и контрольные группы. Опытным группам субстанцию гидрохлорид β-фенилглутаминовой кислоты, растворенную в дистиллированной воде (из расчета 2 мл/100 г массы животного), вводили внутривентрикулярно в возрастающих дозах: мышам от 2500 мг/кг до 6000 мг/кг, крысам от 6000 мг/кг до 11000 мг/кг. Контрольным животным вводили дистиллированную воду в эквивалентном объеме. Были сформированы также интактные контрольные группы самцов и самок мышей и крыс, которые не подвергались введению каких-либо веществ. После введения испытуемой субстанции или дистиллированной воды мышам и крысам по одной особи помещали на 24 часа в изолированные плексигласовые домики для наблюдений /150 x 250 x 150 мм/. В этот период наблюдения за животными велись непрерывно, при этом они были лишены пищи и воды и изолированы от внешних раздражителей. В последующий 2 недельный период наблюдения за животными проводились 2 раза в день. На вторые сутки выживших животных объединяли по группам и размещали в стандартные пластиковые клетки, предназначенные для мышей и крыс со свободным доступом к воде и пище. В период наблюдений у животных оценивали общее состояние, поведенческие, нервномышечные и вегетативные реакции, измеряли массу тела (г). При расчете ЛД₅₀ субстанции гидрохлорид 3-фенилглутаминовой кислоты использовали метод Литчфилда и Уилкоксона [9, 10]. Статистический анализ динамики массы тела у животных выполняли с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие клинических признаков интоксикации у мышей и крыс после интрагастрального введения субстанции РГПУ-135 в токсических дозах происходило быстро — в интервале первых 5—15 минут эксперимента, что может указывать на высокую скорость абсорбции вещества. В клинике отравления мышам и крысам обоего пола преобладали симптомы угнетения центральной нервной системы (ЦНС): седация, вялость и заторможенность, снижение локомоторной активности, диффузная мышечная гипотония, атаксия, гипорефлексия, подавление болевой и тактильной чувствительности, акроцианоз, угнетение дыхания вплоть до остановки, боковое положение. Острая гибель у мышей регистрировалась через 40—90 мин после введения субстанции, у крыс — через 120—180 мин. У оставшихся в живых животных указанные симптомы интоксикации постепенно регрессировали в динамике 14-дневного наблюдения. Так, у мышам, получавших субстанцию РГПУ-135 в дозе 2500 мг/кг, и крыс в интервале доз 6000—7000 мг/кг, перечисленные симптомы интоксикации нивелировались к окончанию первых суток наблюдений, а у выживших животных, получавших более высокие дозы испытуемой субстанции, — к окончанию 7 суток. Отмечалась гибель животных и в более отдаленные сроки наблюдений — преимущественно на 3-и сутки у мышам,

на 7-е сутки у крыс. При этом количество погибших самок и самцов на первые и последующие сутки эксперимента в опытных группах было неодинаковым, что может свидетельствовать о половой чувствительности к испытуемой субстанции (табл. 1, 2).

По результатам анализа острой и отдаленной гибели мышам и крыс, получавших внутривентрикулярно субстанцию РГПУ-135, установлены различающиеся по величинам границы LD₅₀. Так, в опытах на мышам суточный диапазон LD₅₀ субстанции составил: для самцов — 3837,76 (2861,3—5147,41) мг/кг, для самок — 4196,50 (3222,49—5464,9) мг/кг, тогда как 14-дневный уровень LD₅₀ составил: для самцов — 3167,02 (2500,9—4010,5) мг/кг, для самок — 3632,53 (2786,6—4735,2) мг/кг. В опытах на крысах суточная LD₅₀ составила: для самцов — 9433,68 (8379,5—10620,5) мг/кг, для самок — 8487,3 (7362,8—9783,4) мг/кг; LD₅₀ 14-дневная: для самцов — 7185,12 (6265,1—8240,2) мг/кг, для самок — 6976,79 (6141,0—7926,3) мг/кг.

Таблица 1

Динамика гибели мышам при внутривентрикулярном введении субстанции гидрохлорид 3-фенилглутаминовой кислоты

Доза, мг	Периоды наблюдений			
	24 часа	72 часа	1 неделя	2 недели
самцы				
2500	0/5	0/5	0/5	0/5
3000	1/5	3/5	3/5	3/5
4000	3/5	4/5	4/5	4/5
5000	4/5	4/5	5/5	5/5
6000	5/5	5/5	5/5	5/5
самки				
2500	0/5	0/5	0/5	0/5
3000	1/5	2/5	2/5	2/5
4000	2/5	3/5	3/5	3/5
5000	3/5	4/5	4/5	4/5
6000	5/5	5/5	5/5	5/5

Таблица 2

Динамика гибели крыс при внутривентрикулярном введении субстанции гидрохлорид 3-фенилглутаминовой кислоты

Доза, мг	Периоды наблюдений			
	24 часа	72 часа	1 неделя	2 недели
самцы				
7000	0/5	1/5	2/5	2/5
8000	1/5	3/5	4/5	4/5
9000	2/5	4/5	5/5	5/5
10000	3/5	5/5	5/5	5/5
11000	4/5	5/5	5/5	5/5
самки				
6000	0/5	1/5	1/5	1/5
7000	1/5	2/5	2/5	2/5
8000	2/5	4/5	4/5	4/5
9000	3/5	5/5	5/5	5/5
10000	5/5	5/5	5/5	5/5

На основании полученных величин LD_{50} и с учетом классификации токсичности веществ по И. В. Саноцкому и И. П. Улановой [10] субстанцию гидрохлорид β -фенилглутаминовой кислоты отнесли к классу малотоксичных веществ.

Можно предположить, что отсроченная гибель особей связана с особенностями фармакокинетики (всасывания, распределения и выведения) субстанции, а также последствий ее токсического воздействия на органы-мишени. Последнее, отчасти, согласуется и с результатами вскрытия павших животных (табл. 3).

Таблица 3

Результаты макроскопического изучения морфосоматических изменений у павших животных, получавших субстанцию гидрохлорид β -фенилглутаминовой кислоты в токсических дозах внутрижелудочно

Органы	Выявленные изменения
Головной мозг	Кровенаполнение сосудов
Сердце	Гиперемия и увеличение в размерах, преимущественно за счет правых отделов, повышенное кровенаполнение коронарных сосудов
Легкие	Без видимых изменений
Печень	Уплотнение, сглаженность краев, изменение окраски до желтовато-бурой с яркими бордовыми вкраплениями
Почки	Без видимых изменений
Надпочечники	Без видимых изменений
Селезенка	Без видимых изменений
Желудок	Гиперемия и множественные эрозии на слизистой оболочке
Тонкий кишечник	Гиперемия и множественные точечные геморрагии на стенках кишечника и брыжейке
Толстый кишечник	Вздутие петель
Гонады	Без видимых изменений

На вскрытии мышей и крыс, погибших в первые часы эксперимента, не выявлялось наличия испытуемой субстанции в желудке, петлях тонкого кишечника, что подтверждает предположение о быстром всасывании изучаемого вещества. При визуальном осмотре внутренних органов мышей и крыс, павших как в острые, так и отдаленные сроки эксперимента, выявлялись изменения со стороны желудочно-кишечного тракта в виде гиперемии, множественных точечных геморрагий на стенках тонкого кишечника, вздутия желудка и толстого кишечника, а также гиперемия и эрозивные образования на стенках желудка.

У всех вскрытых животных отмечались сходные изменения со стороны печени: уплотнение, сглаженность краев, изменение окраски до желтовато-бурой с яркими бордовыми вкраплениями. Помимо этого, характерные нарушения прослеживались в легких (отчетливая гиперемия) и сердце (гиперемия и увеличение в размерах, преимущественно за счет правых отделов, с повышенным кровенаполнением в коронарных сосудах). Подобное сочетание изменений со стороны сердца и легких может быть следствием развития легочной гипертензии в результате токсического действия изучаемого вещества. Со стороны других органов у животных обоего пола при внутрижелудочном введении токсических доз субстанции патологических изменений не выявлено.

По результатам последующих наблюдений за животными, оставшимися в живых, отмечено, что прирост массы тела как мышей, так и крыс в опытных группах отставал от аналогичного показателя контрольных животных, получавших дистиллированную воду (табл. 4, 5).

Таблица 4

Влияние субстанции гидрохлорид 3-фенилглутаминовой кислоты при внутрижелудочном введении в токсических дозах на массу тела мышей (г, $M \pm m$)*

Группа животных, доза мг/кг	Исходные данные**	1 сутки	7 суток	14 суток
Опыты на мышках самцах				
Контроль	23,60 $\pm$ 0,71	21,90 $\pm$ 0,78 [#]	24,00 $\pm$ 0,51	24,40 $\pm$ 0,49
Субстанция, 2500 мг/кг	24,20 $\pm$ 0,83	22,00 $\pm$ 1,02 [#]	24,30 $\pm$ 1,15	24,60 $\pm$ 1,16
Субстанция, 3000 мг/кг	23,40 $\pm$ 0,69	21,20 $\pm$ 1,13 [#]	23,10 $\pm$ 0,59	23,50 $\pm$ 0,95
Субстанция, 4000 мг/кг	22,70 $\pm$ 0,75	20,20 $\pm$ 1,56 [#]	22,0	22,3
Субстанция, 5000 мг/кг	23,90 $\pm$ 0,73	20,6 ^{###}	гибель	гибель
Опыты на мышках самках				
Контроль	23,60 $\pm$ 0,81	23,20 $\pm$ 0,47	23,90 $\pm$ 0,08	24,30 $\pm$ 0,43
Субстанция, 2500 мг/кг	22,90 $\pm$ 0,63	21,80 $\pm$ 1,12	22,30 $\pm$ 0,75	23,00 $\pm$ 1,31
Субстанция, 3000 мг/кг	23,40 $\pm$ 0,79	22,00 $\pm$ 1,27	22,20 $\pm$ 1,31	23,10 $\pm$ 1,25
Субстанция, 4000 мг/кг	23,80 $\pm$ 0,72	21,3 $\pm$ 1,1 ^{###}	22,00 $\pm$ 1,45 [#]	23,3 $\pm$ 1,0
Субстанция, 5000 мг/кг	23,50 $\pm$ 0,84	20,9 ^{###}	21,3	22,9

Здесь и далее. *Представлены данные по группам мышей, выживших в количестве, подлежащем статистической обработке;

**показатели «исходные данные» соответствуют массе тела животных перед началом введения вещества;

[#]результаты статистически значимы по отношению к исходным данным при $P < 0,05$;

^{###}результаты статистически значимы по отношению к исходным данным при $P < 0,01$.

Влияние субстанции гидрохлорид 3-фенилглутаминовой кислоты при внутрижелудочном введении в токсических дозах на массу тела крыс (г, $M \pm m$)*

Группа животных, доза мг/кг	Исходные данные**	1 сутки	7 суток	14 суток
Опыты на крысах самцах				
Контроль	194,50 ± 4,79	188,00 ± 5,39	195,80 ± 3,14	202,60 ± 2,17
Субстанция, 7000 мг/кг	202,50 ± 3,76	187,00 ± 2,35	196,50 ± 1,54	198,40 ± 1,27
Субстанция, 8000 мг/кг	198,00 ± 2,55	179,50 ± 1,15 [#]	195,0	198,0
Субстанция, 9000 мг/кг	194,50 ± 2,43	175,40 ± 1,43 [#]	гибель	гибель
Субстанция, 10000 мг/кг	198,50 ± 3,24	179,0 ± 2,1 ^{##}	гибель	гибель
Опыты на крысах самках				
Контроль	188,50 ± 3,74	185,00 ± 2,74	190,20 ± 2,28	198,00 ± 2,95
Субстанция, 6000 мг/кг	184,0 ± 5,1	170,00 ± 3,4	180,80 ± 1,96	184,00 ± 1,49
Субстанция, 7000 мг/кг	183,00 ± 3,74	167,50 ± 2,04 ^{##}	178,50 ± 4,68	182,30 ± 2,97
Субстанция, 8000 мг/кг	186,00 ± 5,92	170,00 ± 2,47 ^{##}	179,3	180,0
Субстанция, 9000 мг/кг	185 ± 4	168,0 ^{##}	гибель	гибель

При этом замедление динамики прироста массы тела было дозозависимым, усиливалось по мере увеличения дозы гидрохлорида β-фенилглутаминовой кислоты. Признаки выравнивания прироста массы тела у опытных и контрольных животных начинали просматриваться на 10—12 дни наблюдений, что, вероятно, свидетельствует об обратимости отдаленных последствий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что субстанция гидрохлорид β-фенилглутаминовой кислоты относится к классу малотоксичных соединений, ЛД₅₀ при внутрижелудочном введении мышам самкам составляет 4196,50 (3222,49—5464,92) мг/кг (суточная) и 3632,53 (2786,64—4735,20) мг/кг (2-недельная), мышам самцам 3837,76 (2861,33—5147,41) мг/кг (суточная) и 3167,02 (2500,92—4010,53) мг/кг (2-недельная); крысам самкам — 8487,25 (7362,79—9783,44) мг/кг (суточная) и 6976,79 (6141,00—7926,33) мг/кг (2-недельная), крысам самцам — 9433,68 (8379,49—10620,5) мг/кг (суточная) и 7185,12 (6265,10—8240,23) мг/кг (2-недельная). В картине интоксикации отмечены эффекты депривации ЦНС: седация, мышечная гипотония, гипорефлексия без существенного влияния на частоту дыхания. Отсроченная гибель особей, возможно, обусловлена особенностями всасывания, распределения и выведения субстанции, токсическим воздействием на органы-мишени (сердце, печень, желудочно-кишечный тракт).

ЛИТЕРАТУРА

- Багметова В. В., Багметов М. Н., Тюренков И. Н. и др. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. — 2012. — Т. 10, № 1. — С. 54—59.
- Бородкина Л. Е., Тюренков И. Н., Воронков А. В. и др. // Успехи современного естествознания. — 2004. — № 12. — С. 36—37.

3. Бугаева Л. И., Тюренков И. Н., Багметова В. В. и др. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2012. — № 3 (43). — С. 30—33.

4. Епишина В. В. Сравнительное изучение психотропной активности гетероциклических производных гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот: автореф. дис. канд. мед. наук. — Волгоград, 2006. — 24 с.

5. Меркушенкова О. В. Спектр психотропного действия новых производных гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот, имеющих сходные ароматические и гетероциклические заместители: автореф. дис. канд. мед. наук. — Волгоград, 2009. — 26 с.

6. Петров В. И., Пиотровский Л. Б., Григорьев И. А. Возбуждающие аминокислоты (нейрохимия, фармакология и терапевтический потенциал ВАК-ергических средств). — Волгоград: ВМА, 1997. — 167 с.

7. Петров В. И., Онищенко Н. В. // Эксперим. и клин. фармакология. — 2002. — Т. 65, № 4. — С. 66—70.

8. Петров В. И., Тюренков И. Н., Багметова В. В. и др. Средство, обладающее антидепрессантным, анксиолитическим, нейропротекторным и иммуностимулирующим действием. // Патент РФ № 2429834, заявл. 23.07.2010, опубл. 27.09.2011. — Бюл. 27. — 2011.

9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. — М.: Медицина, 2005. — 832 с.

10. Саноцкий И. В. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (Токсикометрия). — М.: Медицина, 1970. — 343 с.

11. Тюренков И. Н., Багметова В. В., Чернышева Ю. В. и др. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета — 2012. — № 3 (43). — С. 21—24.

Контактная информация

Багметова Виктория Владимировна — к. м. н., докторант кафедры фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: vvbagmetova@gmail.com