

ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЦИТРОКАРДА — НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ФЕНИБУТА С КАРДИО- И НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

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

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

В экспериментах на половозрелых мышах и крысах установлено, что цитрокард относится к классу малотоксичных (IV класс токсичности, ГОСТ 12.1.007-76). Границы LD_{50} цитрокарда при внутрибрюшинном введении мышам самкам составляют 2143,0 (1967,0—2334,8) мг/кг, самцам — 2324,1 (2119,4—2548,6) мг/кг; крысам самкам — 1491,1 (1361,8—1632,6) мг/кг, самцам — 1708,5 (1456,0—2004,9) мг/кг; при внутрижелудочном введении мышам — более 4000,0 мг/кг, крысам — 3500 (3250,1—3769,1) мг/кг.

Ключевые слова: производные гамма-аминомасляной кислоты, цитрокард, фенибут, острая токсичность, LD_{50} .

STUDY OF ACUTE TOXICITY OF CITROCARD, A NEW DERIVATIVE OF FENIBUT WITH A CARDIO- AND NEUROPROTECTIVE ACTION

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

*Volgograd State Medical University,
Research Institute of Pharmacology,
Department of Pharmacology and Biopharmaceutics of the Department of Continuing Education*

The experiments on fertile mice and rats have demonstrated that citrocard refers to the class of low-toxic agents (class IV toxicity, Russian national standard GOST 12.1.007-76). When administered intraperitoneally, the limits of LD_{50} of citrocard reach 2143,0 (1967,0—2334,8) mg/kg in female mice, in males — 2324,1 (2119,4—2548,6) mg/kg; in female rats 1491,1 (1361,8—1632,6) mg/kg, in males — 1708,5 (1456,0—2004,9) mg/kg. Intragastric administration to mice yielded more than 4000,0 mg/kg, to rats — 3500 (3250,1—3769,1) mg/kg.

Key words: GABA derivatives, citrocard, fenibut, acute toxicity, LD_{50} .

Известно, что создание солей и композиций фармакологических препаратов с метаболически активными органическими кислотами позволяет получить малотоксичные лекарственные средства с высокой специфической активностью и широким спектром действия. Примерами таких средств являются пикамилон-никотиноил-ГАМК [9], мексидол-сукцинат эмоксипина [2, 3]. В ряде работ показано, что использование таких биологически активных кислот, как янтарная, лимонная и др., в качестве целевых добавок для создания солей и композиций с линейными и циклическими аналогами ГАМК, позволяет получить новые вещества с более высокой фармакологической активностью и низкой токсичностью, по сравнению с исходными [5, 8, 9]. В этой связи фармакологами Волгоградского государственного медицинского университета в сотрудничестве с химиками Российского государственного педагогического университета им. А. И. Герцена разработана новая соль фенибута с лимонной кислотой — цитрокард, превосходящая препарат фенибут по выраженности психотропного, кардио- и нейропротекторного действия [5, 8]. На сегодняшний день выполнен большой комплекс доклинических исследований цитрокарда и решается вопрос о внедрении его в клиническую практику. В настоящей работе представлены данные по изучению острой токсичности цитрокарда.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение острой токсичности цитрокарда при однократном внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении мышам и крысам.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено в соответствии с ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г по охране животных, используемых в научных целях, одобрены Региональным Независимым Этическим Комитетом (ГУ ВМНЦ): протокол № 140-2011 от 11.06.2011 г.

Эксперименты проводили на белых нелинейных половозрелых животных обоего пола: 72 мышах, массой 21—25 г, 4-месячного возраста и 96 крысах, массой 180—220 г, 3,5—4-месячного возраста, полученных из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» РАМН, и прошедших 2-недельный карантин в виварии НИИ фармакологии ВолгГМУ. По окончании карантинного режима животных осматривали и распределяли по группам. Опытным группам вводили цитрокард (белый мелкокристаллический порошок, без запаха, умеренно растворимый в воде), в виде водной

суспензии в объеме 2 мл/100 г массы животного в возрастающих токсических дозах: внутрибрюшинно — мышам от 1800 до 2600 мг/кг; крысам от 1100 до 2000 мг/кг; внутрижелудочно — мышам от 2000 до 4000 мг/кг, крысам от 3000 до 3500 мг/кг. Контрольным животным вводили дистиллированную воду в эквивалентном объеме.

После введения изучаемого вещества животных по одной особи помещали на 24 ч в плексигласовые домики для наблюдений 150x250x150 мм, при этом они были лишены пищи и воды и изолированы от внешних раздражителей. В первые 8 ч наблюдения за животными вели непрерывно, в последующий 2-недельный период 2 раза в день. На 2-е сут., выживших животных размещали в стандартные клетки в условиях свободного доступа к воде и пище. В наблюдениях у животных оценивали общее состояние, клинику токсического отравления и реабилитации, регистрировали количество погибших и выживших. Погибших животных подвергали некропсии и макроскопическому осмотру внутренних органов. По результатам гибели животных рассчитывали границы ЛД₅₀ цитрокарда по методу Литчфилда и Уилкоксона [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После *внутрибрюшинного* введения, под действием цитрокарда у животных через 5—7 мин манифестировали прогрессирующие симптомы угнетения ЦНС: седация, вялость и заторможенность, снижение локомоторной активности, диффузная мышечная гипотония, атаксия, гипорефлексия, угнетение болевой и тактильной чувствительности, дыхания, боковое положение и утрата рефлекса переворачивания. Указанные симптомы сохранялись у выживших животных в последующие 2—3 ч эксперимента — у мышей и 6—8 ч — у крыс. У крыс, помимо перечисленных проявлений интоксикации, отмечался периодический спонтанный мелкоамплитудный тремор конечностей и хвоста. Гибель мышей регистрировалась к концу 3—4 ч наблюдения, крыс — на 6—8 ч наблюдения. На терминальных стадиях интоксикации у животных наблюдался акроцианоз, снижалась частота и глубина дыхания, оно становилось аperiодичным, затем поверхностным, после чего регистрировалась остановка дыхания.

У оставшихся в живых животных симптомы интоксикации постепенно регрессировали в динамике 14-дневного наблюдения. Так, у мышей, получавших цитрокард в интервале доз 1800—1200 мг/кг, и крыс — 1100—1500 мг/кг, перечисленные симптомы отравления нивелировались к окончанию 2-х сут. наблюдений, а у выживших животных, получавших более высокие дозы испытуемой субстанции, к окончанию 7-х сут. Отдаленной гибели у этих животных не отмечалось.

При вскрытии не обнаружено наличие изучаемого вещества в брюшной полости мышей и крыс, что может быть следствием хорошей абсорбции цитрокарда. При осмотре места *внутрибрюшинного* введения

цитрокарда у животных не выявлено отека, гиперемии и структурных нарушений в прилегающих тканях. Брюшная полость была чистой, свободной от выпота или экссудата. Эти данные позволяют предполагать отсутствие у цитрокарда местного раздражающего действия.

По результатам гибели животных, получавших цитрокард *внутрибрюшинно* (табл.), рассчитали границы ЛД₅₀, которые оказались равными 2324,1 (2119,4—2548,6) мг/кг — у мышей самцов, 2143,0 (1967,0—2334,8) мг/кг — у мышей самок; 1708,5 (1456,0—2004,9) мг/кг — у крыс самцов и 1491,1 (1361,8—1632,6) мг/кг у крыс самок.

Результаты гибели животных, получавших цитрокард однократно внутрижелудочно в токсических дозах

Количество погибших животных / количество животных в группе			
Опыты на мышах			
доза цитрокарда	самцы	доза цитрокарда	самки
1800,0	0/6	1800,0	0/6
2000,0	1/6	2000,0	2/6
2200,0	2/6	2200,0	3/6
2400,0	3/6	2400,0	5/6
2600,0	5/6	2600,0	6/6
Опыты на крысах			
1250,0	0/6	1100,0	0/6
1500,0	2/6	1300,0	1/6
1750,0	3/6	1500,0	3/6
1900,0	4/6	1700,0	5/6
2000,0	6/6	1900,0	6/6

Развитие клинических проявлений интоксикации у животных, получавших цитрокард *внутрижелудочно*, происходило в интервале первых 10—20 минут эксперимента, что также может указывать на хорошую абсорбцию вещества. Об этом свидетельствуют и результаты вскрытия животных. При макроскопическом обследовании у них различных отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в желудке, 12-перстной кишке, тонком и толстом кишечнике наличия вещества не обнаружено, что свидетельствует о его полной всасываемости. В изученных отделах ЖКТ отмечалась слабая гиперемия слизистых оболочек без признаков изъязвления, что говорит об отсутствии у цитрокарда раздражающего влияния на слизистые ЖКТ.

Клиника отравления проявлялась умеренным угнетением ЦНС в виде седации, вялости, заторможенности, снижения подвижности при неизменных тактильной и болевой чувствительности, сохраненных рефлексах. Указанные симптомы были в меньшей степени выражены у мышей и регистрировались в течение 2—3 ч, после чего постепенно нивелировались к 4—5 ч наблюдения, у выживших крыс симптомы отравления постепенно угасали к концу первых суток наблюдения.

Гибели в группах мышей, получавших цитрокард *внутрижелудочно* в дозах от 2000 до 4000 мг/кг, зарегистрировано не было. Дальнейшее увеличение дозы

не представилось возможным из-за относительно плохой растворимости цитрокарда в воде и существующими нормативными требованиями по ограничению введения в желудок жидкости [7]. В связи с этим уровень ЛД₅₀ цитрокарда при внутрижелудочном введении мышам был условно принят — 4000 мг/кг.

При *внутрижелудочном* введении крысам цитрокард в максимально растворимой дозе 3500 мг/кг не способствовал гибели животных в 1-е сут. наблюдений, единичные случаи отдаленной гибели отмечены на III и IV сут. наблюдений. Границы ЛД₅₀ цитрокарда при *внутрижелудочном* введении крысам составили 3500 (3250,1—3769,1) мг/кг.

На основании полученных величин ЛД₅₀ и с учетом классификации токсичности веществ по И. В. Саноцкому и И. П. Улановой [7], цитрокард можно отнести к малотоксичным веществам, IV классу токсичности согласно ГОСТ 12.1.007—76 [1].

По результатам некропсии и макроскопического обследования внутренних органов мышей и крыс, получавших токсические дозы цитрокарда *внутрибрюшинно* и *внутрижелудочно*, были выделены предполагаемые органы-мишени токсического воздействия: печень и почки, которые были резко гиперемированы, уплотнены и увеличены в размерах. Не исключается токсическое влияние на легкие и сердце, которые были отчетливо гиперемированы. Остальные паренхиматозные органы у животных были без видимых изменений. Эти данные согласуются с результатами фармакокинетических исследований цитрокарда, в которых показано, что изучаемое соединение имеет наибольшую тропность к органам с высокой степенью васкуляризации — печени и почкам, а также лёгким и сердцу [10].

Таким образом, в настоящем исследовании установлено, что ЛД₅₀ соли фенибута с лимонной кислотой цитрокарда практически в 2 раза выше, чем у исходных компонентов, так при *внутрибрюшинном* введении мышам ЛД₅₀ фенибута составляет 932 (773,6—1103,6) мг/кг [4], а ЛД₅₀ лимонной кислоты 961—1050 мг/кг [4]. Данный факт подтверждает, что создание солей структурных аналогов ГАМК с метаболически активными органическими кислотами позволяет получить соединения с меньшей токсичностью, чем у исходных компонентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что цитрокард относится к малотоксичным соединениям по классификации Саноцкого И. В. [7]

и соответствует IV классу токсичности согласно ГОСТ 12.1.007-76 [1]. Границы ЛД₅₀ цитрокарда при *внутрибрюшинном* введении мышам самкам составляют 2143,0 (1967,0—2334,8) мг/кг, самцам — 2324,1 (2119,4—2548,6) мг/кг; крысам самкам 1491,1 (1361,8—1632,6) мг/кг, самцам — 1708,5 (1456,0—2004,9) мг/кг. Уровень ЛД₅₀ при *внутрижелудочном* введении мышам составляет более 4000,0 мг/кг, крысам 3500 (3250,1—3769,1) мг/кг. Предполагаемые «органы-мишени» токсического воздействия: печень и почки, а также легкие, сердце.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березовская И. В. // Токсикологический вестник. — 2010. — Т. 104, № 5. — С. 17—22.
2. Воронина Т. А. // Поликлиника. — 2009. — № 5. — С. 32—36.
3. Волчегорский И. А., Рассохина Л. М., Мирошниченко И. Ю. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2011. — Т. 74, № 12. — С. 27—32.
4. Колла В. Э., Сыропятов Б. Я. Дозы лекарственных средств и химических соединений для лабораторных животных. — М: Медицина, 1998. — 263 с.
5. Перфилова В. Н., Островский О. В., Веровский В. Е., Попова Т. А., Лебедева С. А., Диб Х. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2007. — Т. 143, № 3. — С. 312—314.
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.
7. Саноцкий И. В. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (Токсикометрия). — М.: Медицина, 1970. — 343 с.
8. Тюренков И. Н., Багметова В. В., Бородкина Л. Е., Берестовицкая В. М., Васильева О. С. // Экспер. и клин. фармакол. — 2012. — Т. 75, № 6. — С. 8—13.
9. Тюренков И. Н., Бородкина Л. Е., Багметова В. В. // Бюл. экспер. биол. и мед. — 2012. — Т. 153, № 5. — С.667—670.
10. Тюренков И. Н., Перфилова В. Н., Смирнова Л. А., Рябуха А. Ф., Сучков Е. А., Лебедева С. А. // Фармакокинетика и фармакодинамика. — 2012. — № 2. — С. 26—29.

Контактная информация

Багметова Виктория Владимировна — д. м. н., ассистент кафедры фармакологии и биофармации ФУВ, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: vvbagmetova@gmail.com