

Исследование хронической токсичности и аллергизирующих свойств инъекционной формы афобазола

Алексеева С.В., Сорокина А.В., Коваленко Л.П., Мирошкина И.А., Дурнев А.Д.

ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», г. Москва

Резюме. Проведено изучение хронической токсичности инъекционной формы афобазола при ежедневном внутривенном введении в течение 2 недель самкам и самцам крыс в дозах 0,1; 1; 5 и 50 мг/кг, самкам и самцам кроликов в дозах 0,1; 1 и 10 мг/кг. Развернутое клинико-лабораторное исследование не выявило токсических эффектов препарата в дозах 0,1–5 мг/кг. Афобазол при в/в введении в дозах 10 мг/кг у кроликов и 50 мг/кг у крыс вызывал кратковременные клонические судороги и нарушение координации движения, а также в той же дозировке увеличивал сегмент PQ у самок крыс. Афобазол в дозах 10 и 50 мг/кг повышал уровень глюкозы и общего белка у лабораторных животных и понижал содержание мочевины в сыворотке крови у крыс. Исследование аллергизирующих свойств афобазола показало, что афобазол в дозах 5 и 50 мг/кг не вызывает аллергических реакций немедленного и замедленного типа и псевдоаллергических реакций. Незначительное усиление аллергической реакции на чужеродный белок при введении афобазола указывает на возможность индивидуальной чувствительности у лиц с белковой сенсибилизацией.

Ключевые слова: афобазол, хроническая токсичность, аллергизирующие свойства, реакция воспаления на конканавалин А, мыши, крысы, кролики

Experimental study of chronic toxicity and allergenic properties of the drug afobazol

Alekseeva S.V., Sorokina A.V., Miroshkina I.A., Kovalenko L.P., Durnev A.D.

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Abstract. The study of chronic toxicity injection form afobazol with daily intravenous administration for 2 weeks old female and male rats in doses of 0,1; 1; 5 and 50 mg/kg, female and male rabbits at doses of 0,1; 1 and 10 mg/kg. A detailed clinical and laboratory examination did not reveal any toxic effects of the drug in doses of 0,1 – 5 mg/kg. Afobazol when administered intravenously in doses of 10 mg/kg for rabbits and 50 mg/kg in rats induced clonic convulsions, and intermittent loss of coordination of movement, and at the same dosage segment PQ increased in female rats. Afobazol 10 and 50 mg/kg increased levels of glucose and total protein in laboratory animals and decreased the content of urea in blood serum of rats. Investigation showed allergenic properties afobazol in doses of 5 and 50 mg/kg did not cause allergic reactions of immediate and delayed type reactions and pseudoallergic. The slight increase in allergic reactions to foreign protein when administered afobazol indicates the possibility of individual sensitivity in people with protein sensitization.

Keywords: afobazol, chronic toxicity, allergenic properties, inflammation reaction to Con A, mice, rats, rabbits

Автор, ответственный за переписку:

Алексеева Светлана Витальевна — ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Введение

Афобазол — 5-этокси-2-[2-(морфолино)этилтио]бензимидазола дигидрохлорид — новый отечественный препарат в таблетированной форме, обладающий селективными анксиолитическими и нейропротекторными свойствами, разработан в ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» (Гос. регистрация № 000861) (рис. 1).

В ходе дополнительных доклинических исследований были установлены нейропротекторные свойства

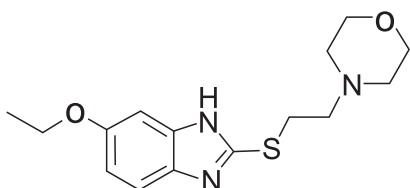


Рис. 1. Структурная формула афобазола

афобазола [1]. Данное наблюдение определило целесообразность разработки инъекционной лекарственной формы афобазола, нацеленной на лечение различных форм острого нарушения мозгового кровообращения с дальнейшей коррекцией неврологического дефекта, профилактикой и лечением неврологических и соматических осложнений. Необходимым этапом этой работы явилась доклиническая оценка безопасности инъекционной лекарственной формы афобазола.

Цель исследования

Оценка хронической токсичности афобазола, а также его аллергизирующих свойств.

Материалы и методы

В работе использована инъекционная форма афобазола — раствор для инъекций 10 мг/мл.

Хроническую токсичность афобазола оценивали на самцах и самках беспородных белых крыс массой 180–200 г и кроликах породы шиншилла массой 1,5–2 кг.

Аллергизирующие свойства афобазола исследованы в экспериментах на морских свинках альбиносах массой 250–300 г, противовоспалительные эффекты на мышах СВА массой 18–20 г.

Все животные были получены из сертифицированных питомников и содержались в условиях вивария ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» при свободном доступе к воде и корму.

1% раствор афобазола вводили крысам внутривенно в боковую хвостовую вену 1 раз в сутки в течение двух недель в дозе, соответствующей терапевтической — 5 мг/кг и превышающей её в десять раз — 50 мг/кг. Учитывая индивидуальную чувствительность кроликов к производным 2-меркаптобензимидазола, для данного вида животных был сделан перерасчёт доз по поверхности тела. Препарат вводили 1 раз в сутки в краевую ушную вену в течение двух недель в дозе 1 мг/кг и 10 мг/кг.

При оценке аллергенности препарат использовали в дозах 5 и 50 мг/кг по стандартным схемам иммунизации.

Объём и продолжительность исследования, набор использованных методов, регистрируемых параметров и другие условия проведения исследования регламентировались соответствующим Руководством [3]. В экспериментах использовали современное лабораторное оборудование, прошедшее соответствующую поверку; электрокардиограф ЭК 1Т-03М, гемоанализатор (Лаборскель), установка «Открытое поле», прибор КФК-2МП и др.

Все анализы выполнялись до начала эксперимента и через 2 нед, не позже 24 ч после последнего введения препарата, за исключением «отставленной» группы, в которой измерения выполняли через две недели после последнего введения препарата.

Всех животных опытных и контрольных групп подвергали патологоанатомическому вскрытию

с последующей оценкой микроскопической картины важнейших внутренних органов.

Изучение аллергизирующих свойств афобазола проводили согласно методическим рекомендациям [4].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы Statistica 10. Результаты выражали в виде средней арифметической и её средней ошибки, проверку данных на нормальность распределения выборок определяли по критерию Шапиро–Уилка, статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью непарного *t*-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Проведено изучение хронической токсичности инъекционной формы афобазола при ежедневном внутривенном введении в течение 2 недель самкам и самцам крыс в дозах 0,1; 1; 5 и 50 мг/кг, самкам и самцам кроликов в дозах 0,1; 1 и 10 мг/кг. Развёрнутое клинико-лабораторное исследование не выявило токсических эффектов препарата в дозах 0,1–5 мг/кг.

Афобазол при внутривенном введении в дозах 10 мг/кг у кроликов и 50 мг/кг у крыс вызывал кратковременные клонические судороги и нарушение координации движения. Афобазол увеличивал сегмент PQ в ЭКГ у самок, получавших препарат в дозе 50 мг/кг, что позволили предположить замедление атриовентрикулярного проведения (табл. 1).

Афобазол не оказывал существенного повреждающего действия на систему крови и не вызывал значимых изменений биохимических показателей сыворотки крови исследованных животных, за исключением статистически достоверного повышения уровня глюкозы, который снижался в «отставленной группе», общего белка в максимальных дозах, и понижения содержания мочевины у крыс в дозе 50 мг/кг (табл. 2). Афобазол не вызывал значительных изменений физико-химических свойств мочи.

При изучении аллергизирующих свойств инъекционной формы афобазола было установлено, что его

Таблица 1

Влияние афобазола при внутривенном введении в дозах 5 мг/кг и 50 мг/кг на интервалы ЭКГ у самок крыс по сравнению с контролем

Группа	RR, с	PQ, с	QRS, с	QT, с	ЧСС, уд/мин
Контроль ♀	0,11 0,10–0,12	0,02 0,02–0,03	0,01 0,01–0,01	0,07 0,06–0,07	545,4 500,0–600,0
5 мг/кг ♀	0,12 0,12–0,14	0,03 0,03–0,03	0,01 0,01–0,02	0,08 0,07–0,08	500,0 428,6–500,0
50 мг/кг ♀	0,12 0,12–0,13	0,04* 0,04–0,05	0,02 0,01–0,02	0,06 0,06–0,07	500,0 461,5–500,0
«Отставленная группа» ♀	0,12 0,12–0,13	0,03 0,02–0,03	0,01 0,01–0,01	0,08 0,07–0,08	500,0 461,5–500,0

Примечание: *n* = 12 — число животных в группе; данные представлены в виде медиан групп и 25% и 75% квартилей; * — *p* ≤ 0,05 — по отношению к контролю.

Таблица 2

Влияние афобазола на биохимические показатели крови крыс, получавших препарат в дозах 5 мг/кг и 50 мг/кг по сравнению с контролем

Показатели		Контроль	5,0 мг/кг	50,0 мг/кг	50,0 мг/кг «отставленная группа»
Глюкоза, ммоль/л	♀	6,57±0,75	7,47±0,58	10,04±1,06*	7,13±0,44
	♂	7,01±0,58	8,35±0,68	9,78±0,63*	6,22±0,49
Общий белок, г/л	♀	64,71±3,38	71,27±1,13	95,25±4,65*	79,09±2,71*
	♂	61,11±3,09	69,54±3,60	116,4±15,62*	82,17±3,38*
Аланин-амино трансфераза, мкмоль/л	♀	0,57±0,08	0,27±0,06*	0,46±0,07	0,52±0,07
	♂	0,62±0,03	0,39±0,05*	0,67±0,09	0,59±0,03
Аспаргатамино трансфераза, мкмоль/л	♀	0,64±0,07	0,92±0,09*	0,69±0,08	0,47±0,08
	♂	0,74±0,05	0,87±0,05	0,79±0,07	0,74±0,04
Креатинин, мкмоль/л	♀	106,41±13,49	93,09±15,37	84,80±15,13	94,20±8,90
	♂	118,04±9,76	65,53±15,06*	94,42±6,63	67,39±10,24*
Мочевина, ммоль/л	♀	5,86±0,52	4,64±0,19*	4,42±0,26*	5,48±0,54
	♂	6,08±0,68	3,06±1,06*	3,76±0,34*	5,42±0,53

Примечание: $n = 12$ — количество животных в группе; * — $p < 0,05$ достоверность различий по сравнению с контрольной группой по непарному t -критерию Стьюдента.

введение в дозе 5 мг/кг приводило к незначительному усилению реакции общей анафилаксии у животных опытной группы на белок куриного яйца (БКЯ), введение в дозе 50 мг/кг подавляло реакцию общей анафилаксии. Дополнительная оценка анафилатогенной активности афобазола при его 3-кратной иммунизации препаратом в дозе 5 мг/кг по стандартной схеме не выявила развития анафилактоидной реакции после введения разрешающей дозы препарата.

При иммунизации морских свинок афобазолом в дозах 5 и 50 мг/кг в смеси с полным адьювантом Фрейнда аллергических реакций замедленного типа не обнаружено.

Установлено, что афобазол в исследуемых дозах при однократном внутривенном введении мышам линии СВА вызывает выраженное подавление реакции воспаления на конканавалин А, что свидетельствует о наличии у афобазола противовоспалительной активности, характерной для производных 2-меркаптобензимидазола (табл. 3).

Таким образом, 2-недельное изучение хронической токсичности инъекционной формы афобазола при внутривенном введении не выявило токсических эффектов в терапевтических дозах 0,1 и 1 мг/кг у крыс и у кроликов (как наиболее восприимчивого к производным 2-меркаптобензимидазола вида) в дозе 0,1 мг/кг. Афобазол при внутривенном введении в дозах 10 и 50 мг/кг вызывает кратковременные клонические судороги и нарушение координации движения, увеличивает сегмент PQ у самок крыс, повышает уровень

Таблица 3

Влияние инъекционной формы афобазола на реакцию воспаления на Кон А

Доза афобазола	Число животных в группе	Индекс реакции
Контроль	10	15,9±2,5
Афобазол 5 мг/кг	10	2,1±0,7* $p < 0,001$
Афобазол 50 мг/кг	10	4,7±1,8* $p < 0,01$

Примечание: * — $p < 0,001$ достоверность различий по сравнению с контрольной группой по непарному t -критерию Стьюдента; ** — $p < 0,01$ достоверность различий по сравнению с контрольной группой по непарному t -критерию Стьюдента.

глюкозы и общего белка у лабораторных животных, и понижает содержание мочевины в сыворотке крови у крыс.

Исследование алергизирующих свойств афобазола показало, что афобазол в дозах 5 и 50 мг/кг не вызывает аллергических реакций немедленного и замедленного типа и псевдоаллергических реакций. Незначительное усиление аллергической реакции на чужеродный белок при введении афобазола указывает на возможность индивидуальной чувствительности у лиц с белковой сенсibilизацией.

Литература

1. Середин С.Б., Крайнева В.А. Нейропротекторные свойства афобазола при экспериментальном моделировании геморрагического инсульта. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2009; 72: 1: 24–28.
2. Грушевская Л.Н., Авдюнина Н.И., Милкина С.Е. и др. Разработка методик анализа инъекционной лекарственной формы афобазола. Химико-фармацевтический журнал. 2010; 44: 7: 49.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией Р.У. Хабриева, М.: Медицина, 2005; 827.
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Методические рекомендации по оценке алергизирующих свойств лекарственных средств. М.: 2012; 51–63.
5. Хлопушина Т.Г., Кринская А.В., Коваленко Л.П. и др. Влияние зиксорина на фармакокинетику антипирина у интактных и сенсibilизированных морских свинок — Бюл. exper. биол. 1991; 7: 67–69.
6. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных // Совет международных медицинских организаций. М.: 2000.
7. Kimber I., Kerkvliet N.I., Taylor S.L. et al. Toxicology of protein allergenicity: prediction and characterization-Toxicol. Sci. 1999; 48: 157–162.
8. Аллергология и иммунология: национальное руководство / Под ред. Р.М. Хаитова, Н.И. Ильиной. М.: ГЭОТАР- Медиа, 2009; 656.
9. Клинические рекомендации. Аллергология / Под ред. Р.М. Хаитова, Н.И. Ильиной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006; 240.
10. Паттерсон Р., Грэммер Л.К., Гринбергер П.А. Аллергические болезни: диагностика и лечение / Перевод с англ. / Под ред. акад. РАМН А.Г. Чучалина (гл. ред.), И.С. Гушина (отв. ред.). М.: ГЭОТАР-Медиа, 2000; 768.