

УДК 619:615.015.4

DOI: 10.31016/1998-8435-2019-13-4-77-82

Оценка острой пероральной токсичности супрамолекулярного комплекса на основе альбендазола и триклабендазола – Алтрик-Экстра на лабораторных аутбредных мышах и крысах

Екатерина Владимировна Лагерева, Владислав Евгеньевич Абрамов

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, e-mail: vigis@ncport.ru

Поступила в редакцию: 22.11.2019; принята в печать: 25.11.2019

Аннотация

Цель исследований: оценка острой токсичности препарата Алтрик-Экстра при внутрижелудочном введении мышам и крысам, определение его класса опасности в зависимости от степени воздействия на организм животных.

Материалы и методы. В опыте использовали белых аутбредных мышей и крыс. При изучении острой пероральной токсичности использовали общепринятые методики.

Результаты и обсуждение. Установлены среднесмертельные дозы LD_{50} при пероральном введении лабораторным животным. Для мышей LD_{50} составила более 5986 мг/кг. Таким образом, согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76) препарат Алтрик-Экстра относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные). При изучении острой пероральной токсичности на крысах LD_{50} составила $3\ 103,1 \pm 748,5$ мг/кг (границы доверительного интервала $2\ 354,6 \div 3\ 851,5$ мг/кг). Следовательно, в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 исследуемый препарат относится к 3 классу опасности (вещества умеренно опасные).

Ключевые слова: Алтрик-Экстра, альбендазол, триклабендазол, острая токсичность, мыши, крысы.

Для цитирования: Лагерева Е. В., Абрамов В. Е. Оценка острой пероральной токсичности супрамолекулярного комплекса на основе альбендазола и триклабендазола – Алтрик-Экстра на лабораторных аутбредных мышах и крысах // Российский паразитологический журнал. 2019. Т. 13. № 4. С. 77–82. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2019-13-4-77-82>

© Лагерева Е. В., Абрамов В. Е.

Evaluation of Acute Oral Toxicity of Supramolecular Complex Based on Albendazole and Triclabendazole – Altrick-Extra in Laboratory Outbred Mice and Rats

Ekaterina V. Lagereva, Vladislav E. Abramov

All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants – a branch of Federal State Budgetary Institution of Science "Federal Scientific Center – All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Skryabin and Ya. R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences", 28, B. Cheremushkinskaya street, Moscow, Russia, 117218, e-mail: vigis@ncport.ru

Received on: 22.11.2019; accepted for printing on: 25.11.2019

Abstract

The purpose of the research research is to assess the acute oral toxicity of the drug Altrick-Extra in mice and rats, to determine its hazard class depending on the degree of exposure to animals.

Materials and methods. White outbred mice and rats were used in the experiment. In the study of acute oral toxicity, conventional techniques were used.

Results and discussion. Average lethal doses of LD_{50} were established when administered orally to laboratory animals. For mice, LD_{50} was more than 5986 mg/kg. Thus, according to the generally accepted hygienic classification (GOST 12.1.007-76), Altrick-Extra belongs to the 4th hazard class (low-hazard substances). In the study of acute oral toxicity in rats, LD_{50} was 3 103.1±748.5 mg/kg (confidence interval boundaries 2 354.6÷3 851.5 mg/kg). Therefore, in accordance with GOST 12.1.007-76, the studied drug belongs to the 3rd class of danger (moderately dangerous substances).

Keywords: Altrick-Extra, Albendazole, Triclabendazole, acute toxicity, mice, rats.

For citation: Lagereva E. V., Abramov V. E. Evaluation of acute oral toxicity of supramolecular complex based on albendazole and triclabendazole – Altrick-Extra in laboratory outbred mice and rats. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2019; 13 (4): 77–82. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2019-13-4-77-82>

Введение

Препарат Алтрик-Экстра представляет собой серый рыхлый порошок, плохо растворимый в воде. В качестве действующих веществ препарат содержит альбендазол и триклабендазол.

Алтрик-Экстра является лекарственным средством антигельминтного действия, действующие вещества которого активны в отношении широкого спектра эндопаразитов, включая нематоды, трематоды и цестоды.

Определение параметров острой пероральной токсичности на лабораторных животных является необходимым этапом исследований для оценки безопасности и дальнейшего изучения лекарственного препарата для ветеринарного применения в рамках доклинических исследований [3].

Экспериментальная часть работы была выполнена в соответствии с требованиями ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», 2015 г; Приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 г. №199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики»; Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая (под ред. А. Н. Миронов, 2012 г.); Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (под общей редакцией чл.-корр. РАМН, проф. Р. У. Хабриева, Москва, 2005); Федерального закона от 12.04.2010 г. № 61-

ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (ред. от 28.12.2017 г.) и Приказа Минсельхоза России от 06.03.2018 № 101 «Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения».

Работу выполняли в соответствии с регламентирующими положениями с использованием биологической тест-системы, так как исследования на животных предоставляют наиболее полную информацию о токсичности фармакологического вещества [5, 6].

Материалы и методы

Место проведения исследования – виварий Всероссийского научно-исследовательского института фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», г. Москва, Россия.

Острую токсичность препарата Алтрик-Экстра определяли на 20 белых аутбредных мышцах-самцах массой 19,3–23,3 г по 10 особей в группе и на 30 белых аутбредных крысах-самцах массой 150–196 г по 6 особей в группе.

Экспериментальных животных содержали в условиях вивария в соответствии с требованиями, указанными в соответствующей

нормативной документации [4, 7, 8]. В помещении, где содержались лабораторные мыши и крысы, поддерживались соответствующие параметры микроклимата [9]. Животных кормили комбикормом полнораціонным экструдированным для лабораторных животных; поение осуществляли *ad libitum* из стандартных поилок подготовленной водой.

Алтрик-Экстра вводили мышам опытной группы однократно внутрижелудочно в виде суспензии с помощью металлического атравматического зонда в объеме 0,2 мл/10 г массы тела. В качестве носителя при приготовлении суспензии использовали 1%-ный крахмальный гель. При подготовке испытуемого препарата к введению использовали такое соотношение навески исследуемого образца и крахмального геля, чтобы полученная суспензия свободно проходила через просвет внутрижелудочного зонда. Таким образом экспериментальные животные получили дозу 5 986 мг/кг. Выбор только одной дозы обусловлен, в первую очередь, результатом предварительных исследований, показавшим низкую токсичность Алтрик-Экстра для лабораторных мышей. Помимо этого, при выборе доз для эксперимента руководствовались анализом литературных данных, методическими рекомендациями [5, 6, 10].

Крысам исследуемый препарат также вводили однократно внутрижелудочно с помощью зонда в виде суспензии в фиксированном объеме 2,0 мл/100 г массы тела. В качестве носителя при приготовлении суспензии использовали 1%-ный крахмальный гель. Предварительно проведенные пилотные исследования на данном виде животных показали наличие дозозависимого эффекта при внутрижелудочном введении Алтрик-Экстра лабораторным крысам. По этой причине для изучения острой пероральной токсичности испытуемого препарата его суспензию в крахмальном геле готовили таким образом, чтобы при введении животным фиксированного объема 2,0 мл/100 г массы тела крысы получили различные уровни доз. Всего в эксперименте было задействовано 4 опытные группы крыс, на которых были испытаны дозы 4 580,2 мг/кг, 3 846,2; 3 088,8 и 1 577,9 мг/кг. Выбор доз обусловлен анализом литературных данных и методическими рекомендациями [5, 6, 10].

Мышам и крысам контрольных групп внутрижелудочно однократно вводили 1%-ный крахмальный гель в объеме 0,2 мл/10 г и 2,0 мл/100 г массы тела соответственно.

В течение 14 сут ежедневно проводили наблюдение за проявлением симптомов интоксикации, таких как: общее состояние и поведение животных, интенсивность и характер двигательной активности, наличие и характер судорог, координация движений, тонус скелетных мышц, реакция на раздражители (тактильные, звуковые, световые), состояние шерстного и кожного покрова, окраска слизистых оболочек, количество и консистенция фекальных масс, потребление корма и воды, изменение массы тела, возможная гибель. Изменения массы тела экспериментальных животных фиксировали на 1, 3, 7, 9 и 14-е сутки.

Результаты и обсуждение

1. Результаты исследования острой пероральной токсичности препарата Алтрик-Экстра на мышах.

Однократное внутрижелудочное введение мышам дозы 5 986 мг/кг вызвало небольшое статистически достоверное снижение массы тела животных опытной группы в сравнении с аналогичными показателями мышей контрольной группы на 1, 3, 7, 14-е сутки наблюдений. Других признаков интоксикации у животных опытной группы не наблюдали. На 14-е сутки эксперимента мыши были умерщвлены и подвергнуты аутопсии, в результате которой не было отмечено патологоанатомических изменений.

Динамика изменений массы тела мышей приведена на рис. 1.

Таким образом, результаты эксперимента по изучению острой пероральной токсичности, полученные на лабораторных мышах, позволяют сделать заключение, что величина LD_{50} испытуемого препарата больше 5986 мг/кг.

2. Результаты исследования острой пероральной токсичности препарата Алтрик-Экстра на крысах.

В ходе эксперимента было установлено, что испытуемый препарат при внутрижелудочном введении обладает отсроченным токсическим действием.

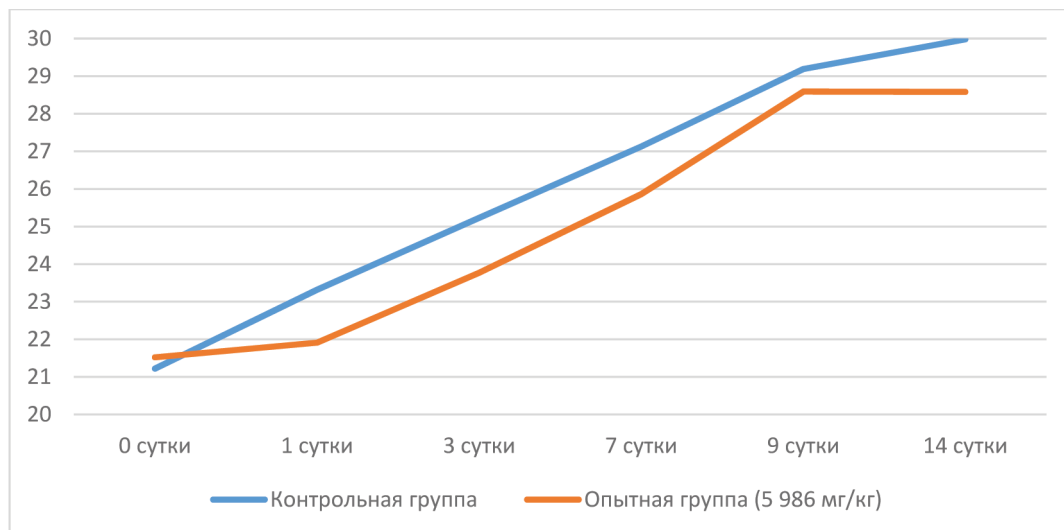


Рис. 1. Динамика изменений массы тела мышей в течение опыта

Доза 4580,2 мг/кг первые двое суток после затравки не вызвала видимых признаков интоксикации; животные демонстрировали положительную динамику в изменении массы тела. На 3-и сутки опыта была зафиксирована гибель двух крыс опытной группы; на 6-е сутки пали оставшиеся четыре крысы. Перед гибелью у животных наблюдали признаки интоксикации: диарею, адинамию, клонические судороги, одышку, снижение реакции на внешние раздражители, выделения из глаз и носа темно-коричневого цвета, снижение массы тела. При вскрытии павших крыс отмечено: увеличение желудка, который был заполнен неперевавшими кормовыми массами; тонкий кишечник был наполнен содержимым слизистой консистенции желто-коричневого цвета; содержимое толстого кишечника представляло собой массу сметанообразной консистенции серо-зелёного цвета; сосуды брыжейки и серозных покровов желудка и кишечника инъецированы.

Внутрижелудочное введение крысам второй опытной группы дозы 3846,2 мг/кг вызвало появление признаков интоксикации на 3-и сутки наблюдений. В этот период при контрольном взвешивании отмечено снижение индивидуальных значений массы тела животных. У крыс наблюдали диарею, снижение реакции на внешние раздражители, адинамию, увеличение объёма живота при визуальном наблюдении и пальпации. Доза 3846,2 мг/кг вызвала гибель пяти крыс из второй опытной группы. При аутопсии павших животных отмечены патолого-

анатомические изменения, аналогичные таковым у животных первой опытной группы.

Испытание дозы 3088,8 мг/кг вызвало гибель двух животных из третьей опытной группы: одна пала на третьи сутки, одна – на шестые сутки эксперимента. Патологоанатомические изменения, отмеченные при вскрытии павших животных, не отличались от изменений, описанных для опытных групп 1 и 2. Перед гибелью у крыс наблюдали признаки интоксикации: диарею, снижение реакции на внешние раздражители, адинамию, увеличение объёма живота при визуальном наблюдении и пальпации, снижение массы тела отдельных особей на 3, 7, 9-е сутки наблюдений. При этом к концу эксперимента все выжившие животные имели массу тела, большую, чем в начале опыта.

Внутрижелудочное введение крысам дозы 1577,9 мг/кг не вызвало гибели экспериментальных животных; таким образом, эта доза была абсолютно переносимой. Признаков интоксикации у крыс четвертой опытной группы не наблюдали. На 14-е сутки эксперимента крысы были умерщвлены и подвергнуты аутопсии, в результате которой не было отмечено патологоанатомических изменений.

Динамика изменений массы тела экспериментальных животных приведена на рис. 2.

Результаты эксперимента по изучению острой пероральной токсичности препарата Алтрик-Экстра на белых аутбредных крысах приведены в табл. 1.

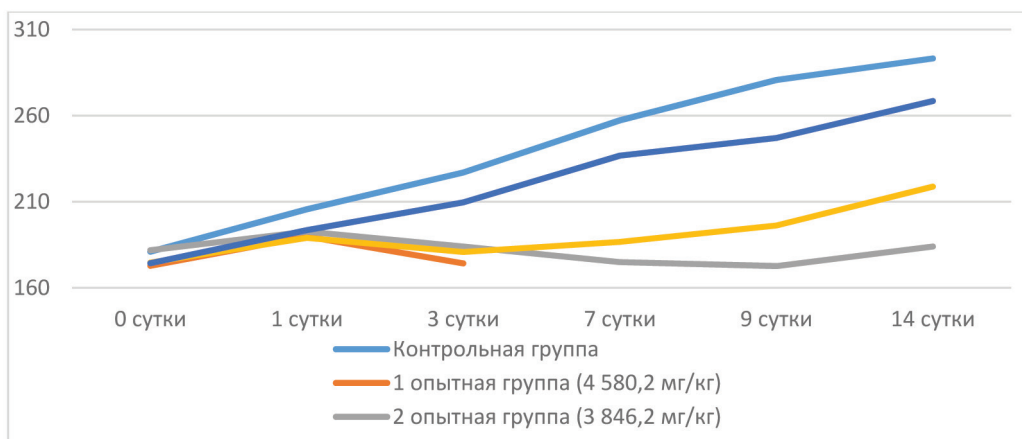


Рис. 2. Динамика изменений массы тела крыс в течение опыта

Таблица 1

Результаты эксперимента по изучению острой пероральной токсичности препарата Алтрик-Экстра на белых аутбредных крысах

| Доза препарата, мг/кг | Объем суспензии препарата, мл/100 г | Общее число животных | |
|-----------------------|-------------------------------------|----------------------|--------|
| | | пало | выжило |
| 4 580,2 | 2,0 | 6 | 0 |
| 3 846,2 | 2,0 | 5 | 1 |
| 3 088,8 | 2,0 | 2 | 4 |
| 1 577,9 | 2,0 | 0 | 6 |

На основании полученных данных была рассчитана величина ЛД₅₀ методом пробит-анализа Миллера и Тейнтера [1], которая составила 3103,1±748,5 мг/кг (границы доверительного интервала 2 354,6÷3 851,5 мг/кг). Также были определены значения ЛД₀, ЛД₁₆, ЛД₈₄, ЛД₁₀₀, приведенные в табл. 2.

Таблица 2

Параметры острой пероральной токсичности препарата Алтрик-Экстра для белых аутбредных крыс, мг/кг

| ЛД ₀ | ЛД ₁₆ | ЛД ₅₀ | ЛД ₈₄ | ЛД ₁₀₀ |
|-----------------|------------------|------------------------------------|------------------|-------------------|
| 1 577,9 | 2 269,8 | 3 103,1±748,5 (2 354,6÷3 851,5) | 3 936,4 | 4 580,2 |

Дополнительно провели расчет среднесмертельной дозы методом Кербера. Величина ЛД₅₀ для крыс составила 3 213,7 мг/кг.

Заключение

В результате проведенных исследований были определены токсикологические свойства лекарственного препарата для ветеринарного применения Алтрик-Экстра.

Установлено, что при однократном пероральном введении препарата белым лабораторным мышам ЛД₅₀ составила более 5 986 мг/кг. На основании данных, полученных в опыте на мышах и согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76) исследуемый препарат относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные) [2].

При однократном пероральном введении препарата белым лабораторным крысам ЛД₅₀, рассчитанная методом пробит-анализа по Миллеру и Тейнтеру составила 3 103,1±748,5 мг/кг (2 354,6÷3 851,5 мг/кг). Статистический расчет полуметальной дозы по Керберу позволил получить величину, равную 3 213,7 мг/кг, что демонстрирует сопоставимость значений ЛД₅₀, рассчитанных разными методами. Согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76) препарат Алтрик-Экстра по результатам эксперимента на крысах относится к 3 классу опасности (вещества умеренно опасные) [2].

Дополнительно необходимо отметить, что у лабораторных животных существует видовая чувствительность к препарату Алтрик-Экстра. Крысы оказались более чувствительны к нему, чем мыши.

Литература

1. Бельский М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта: монография. Ленинград: Медгиз, 1963. 146 с.
2. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности: ГОСТ 12.1.007-76. Введ. 1977-01-01. М.: Стандартинформ, 2007. 7 с.
3. Емельянова Н. Б., Абрамов В. Е., Глазьев Е. Н., Балышев А. В. Острая пероральная и подострая токсичность препарата Трисульфон Суспензия // Международный вестник ветеринарии. 2013. № 2. С. 34–37.
4. Каркищенко Н. Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. М., 2010. 344 с.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей ред. член-корр. РАМН, проф. Р. У. Хабриева. М.: Медицина, 2005. 832 с.
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А. Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
7. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами: ГОСТ 33216-2014. Введ. впервые. М.: Стандартинформ, 2016. 16 с.
8. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур: ГОСТ 33215-2014. Введ. впервые. М.: Стандартинформ, 2016. 19 с.
9. СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».
10. Venkatesan P. S., Deecaraman M., Vijayalakshmi M., Sakthivelan S. M. Sub-acute Toxicity Studies of Acetaminophen in Sprague Dawley Rats. *Biol. Pharm. Bull.* 2014; 37 (7): 1184–1190.

References

1. Belenky M. L. Elements of a quantitative assessment of the pharmacological effect: Monograph. Leningrad: Medgiz, 1963; 146. (In Russ.)
2. Harmful substances. Classification and general safety requirements: GOST 12.1.007-76. Enter. 1977-01-01. M.: Standartinform, 2007; 7.
3. Emelyanova N. B., Abramov V. E., Glazyev E. N., Balyshev A. V. Acute oral and subacute toxicity of the drug Trisulfone Suspension. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii = International Veterinary Newsletter*. 2013; 2: 34–37. (In Russ.)
4. Karkishchenko N. N. Guide for laboratory animals and alternative models in biomedical technologies. M., 2010; 344. (In Russ.)
5. Guidance on the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Ed. Corresponding Member of RAMS, prof. R. U. Khabriev. M.: Medicine, 2005; 832.
6. Guidelines for preclinical studies of drugs. Part One. Ed. A. N. Mironov. M.: Grif and K, 2012; 944.
7. Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of laboratory rodents and rabbits: GOST 33216-2014. Enter. for the first time. M.: Standartinform, 2016; 16.
8. Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipment of premises and organization of procedures: GOST 33215-2014. Enter. for the first time. M.: Standartinform, 2016; 19.
9. SP 2.2.1.3218-14 "Sanitary and epidemiological requirements for the design, equipment and maintenance of experimental biological clinics (vivariums)."
10. Venkatesan P. S., Deecaraman M., Vijayalakshmi M., Sakthivelan S. M. Sub-acute Toxicity Studies of Acetaminophen in Sprague Dawley Rats. *Biol. Pharm. Bull.* 2014; 37 (7): 1184–1190.