

# Исследование иммунотоксичности пролонгированной формы препарата Афобазол

Коваленко Л. П., Журиков Р. В., Коржова К. В., Дурнев А. Д.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

**Аннотация.** Проведено исследование иммунотоксичности пролонгированной формы препарата Афобазол на самцах мышей линий CBA, C57BL/6, гибридах F1 (CBA×C57BL/6). При оценке иммунотоксического действия Афобазол вводили мышам опытных групп перорально 14 дней в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг. Животным контрольных групп вводили плацебо таблетированной формы препарата. При оценке иммунотоксичности пролонгированной формы препарата Афобазол было выявлено, что 14-дневное пероральное введение Афобазола в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг мышам-гибридам F1 (CBA×C57BL/6) не вызвало значимого влияния на массу тимуса, селезенки и подколечных лимфатических узлов по сравнению с контрольными особями, но значимо ( $p < 0,01$ ) увеличивало клеточность тимуса при введении препарата в дозе 12 мг/кг. Введение пролонгированной формы препарата Афобазол в дозах 12 и 120 мг/кг значимо снижало уровни спонтанной хемилюминесценции в 2,0 и 2,2 раза, а в дозе 120 мг/кг значимо ( $p < 0,05$ ) снижало интегральный показатель хемилюминесценции S в 2,4 раза по сравнению с контрольной группой, получавшей плацебо. Курсовое введение пролонгированной лекарственной формы препарата Афобазол в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг не влияло на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов у мышей-гибридов F1 (CBA×C57BL/6), не вызвало значимых изменений реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) по сравнению с контрольной группой. Введение пролонгированной формы препарата Афобазол перорально 14 дней в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг мышам линий CBA и C57BL/6 не вызвало значимого влияния на антителообразование по сравнению с данными контрольных групп. Результаты проведенного исследования иммунотоксичности пролонгированной формы препарата Афобазол позволяют заключить, что введение Афобазола в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия.

**Ключевые слова:** пролонгированная форма; Афобазол; фагоцитоз; хемилюминесценция; гуморальный иммунный ответ; клеточный иммунный ответ; иммунотоксичность

## Для цитирования:

Коваленко Л.П., Журиков Р.В., Коржова К.В., Дурнев А.Д. Исследование иммунотоксичности пролонгированной формы препарата Афобазол // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2020. – № 3. – С. 48–51. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-3-48-51

## Evaluation of immunotoxicity of the extended-release form of Afobazol

Kovalenko LP, Zhurikov RV, Korzhova KV, Durnev AD

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

**Abstract.** The research of immunotoxicity of extended-release form of Afobazol was conducted on male CBA, C57BL/6 and F1 hybrids (CBA×C57BL/6) mice. Afobazol was administered per os for 14 days in doses of 12 mg/kg and 120 mg/kg. Control group received a placebo. Weight of thymus, spleen and popliteal lymph nodes was not affected by the extended-release form of Afobazol in doses of 12 mg/kg and 120 mg/kg in F1 hybrids (CBA×C57BL/6) mice compared to the control group ( $p > 0.05$ ). Cellularity of thymus was significantly increased by the extended-release form of Afobazol in dose of 12 mg/kg ( $p < 0.01$  vs control group). Administration of the extended-release form of Afobazol in doses of 12 mg/kg and 120 mg/kg decreased spontaneous chemiluminescence activity of peripheral blood lymphocytes in 2.0 and 2.2 times, in dose of 120 mg/kg level integral chemiluminescence response S was decreased in 2.4 times ( $p < 0.05$  vs control group). Phagocytic activity of peritoneal macrophages and antibody production in F1 hybrids (CBA×C57BL/6) mice were not affected by administration of the extended-release form of Afobazol in doses of 12 mg/kg and 120 mg/kg ( $p > 0.05$  vs control group). 14 days of the extended-release form of Afobazol in doses of 12 mg/kg and 120 mg/kg did not cause any significant change to intensity of delayed-type hypersensitivity reactions ( $p > 0.05$  vs control group). The results of the study allow us to conclude that administration of the extended-release form Afobazol in the range of studied doses does not induce immunotoxicity.

**Keywords:** extended-release form; Afobazol; phagocytosis; chemiluminescence; humoral immune response; cellular immune response; immunotoxicity

## For citations:

Kovalenko LP, Zhurikov RV, Korzhova KV, Durnev AD. Evaluation of immunotoxicity of the extended-release form of Afobazol. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020;(3):48–51. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-3-48-51

## Введение

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» разработана пролонгированная форма препарата Афобазол, селективного небензодиазепинового анксиолитика. Препарат обладает анксиолитическим действием с активирующим компонентом, не сопровождающимся гипноседативными эффектами (седативное действие выявляется в дозах, в 40–50 раз превышающих ED<sub>50</sub> для анксиолитического действия). Действуя на сигма-1-рецепторы в нервных клетках головного мозга,

Афобазол стабилизирует ГАМК/бензодиазепиновые рецепторы и восстанавливает их чувствительность к эндогенным медиаторам торможения. Афобазол также повышает биоэнергетический потенциал нейронов и оказывает нейропротекторное действие на нервные клетки. У препарата отсутствуют миорелаксантные свойства, негативное влияние на память и внимание. При применении препарата не формируется лекарственная зависимость и не развивается синдром отмены. Действие препарата реализуется преимущественно в виде сочетания анксиолитического (противотревожного) и

лёгкого стимулирующего (активирующего) эффектов. Уменьшение или устранение тревоги (озабоченность, плохие предчувствия, опасения, раздражительность), напряжённости (пугливость, плаксивость, чувство беспокойства, неспособность расслабиться, бессонница, страх), а, следовательно, соматических (мышечные, сенсорные, сердечно-сосудистые, дыхательные, желудочно-кишечные симптомы), вегетативных (сухость во рту, потливость, головокружение), когнитивных (трудности при концентрации внимания, ослабленная память) нарушений наблюдаются на 5–7 дни лечения Афобазолом. Пролонгированная форма Афобазола позволит усилить его анксиолитические свойства и терапевтическую активность. Пролонгированная форма препарата расширяет спектр использования селективного анксиолитика Афобазола, оценка иммунотоксичности является необходимым этапом доклинического исследования его безопасности [1, 2].

**Целью данной работы** являлось изучение иммунотоксического действия пролонгированной формы препарата Афобазол.

### Материалы и методы

Исследование иммунотоксического действия пролонгированной формы препарата Афобазол выполнено на сертифицированных лабораторных животных, 150 самцах мышей линий СВА, С57BL/6, гибридах  $F_1$  (СВА×С57BL/6) массой 18–20 г, клинически здоровых особях, полученных из питомников «Столовая» и «Андреевка».

При оценке иммунотоксичности Афобазола мышам опытных групп 14 дней перорально вводили пролонгированную форму препарата в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг. Животным контрольных групп вводили плацебо таблетированной формы препарата. Каждая группа включала 10 животных.

При изучении иммунотоксичности пролонгированной формы Афобазола использовали следующие методы:

- определение массы и клеточности органов иммунной системы мышам-гибридов  $F_1$  (СВА×С57BL/6);
- оценка фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов мышам-гибридов  $F_1$  (СВА×С57BL/6);
- оценка активности нейтрофилов в тесте хемилюминесценции на мышам-гибридах  $F_1$  (СВА×С57BL/6);
- постановка реакции гиперчувствительности замедленного типа на мышам-гибридах  $F_1$  (СВА×С57BL/6);
- постановка реакции гемагглютинации на мышам линии СВА и линии С57BL/6 [3, 4].

Для всех показателей иммунотоксикологических исследований с нормальным распределением проводили межгрупповые сравнения по непарному *t*-критерию Стьюдента. Для множественных сравнений показателей с распределением, отличающимся от

нормального, применяли непарметрический критерий Манна-Уитни, различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

При оценке иммунотоксичности пролонгированной формы препарата Афобазол было выявлено, что 14-дневное пероральное введение препарата в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг мышам-гибридам  $F_1$  (СВА×С57BL/6) не вызывало значимого влияния на массу тимуса, селезёнки и подколенных лимфатических узлов по сравнению с контрольными особями.

Двухнедельное пероральное введение пролонгированной формы препарата Афобазол в дозе 12 мг/кг значимо ( $p < 0,01$ ) увеличивало клеточность тимуса в 1,2 раза по сравнению с контрольной группой, и не влияло на клеточность селезёнки и подколенных лимфатических узлов. Двухнедельное пероральное введение препарата в дозе 120 мг/кг не вызывало значимого изменения клеточности тимуса, селезёнки и подколенных лимфатических узлов.

Курсовое введение пролонгированной лекарственной формы препарата Афобазол в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг не влияло на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов у мышам-гибридов  $F_1$  (СВА×С57BL/6).

Параметры хемилюминесценции нейтрофилов исследовались после 14-дневного перорального введения плацебо и исследуемого препарата в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг. У группы контрольных мышам, получавших плацебо, уровень спонтанной хемилюминесценции составил  $67,8 \pm 11,5$  mV. Введение препарата Афобазол в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг вызывало значимое ( $p < 0,05$ ) снижение уровня спонтанной хемилюминесценции, указанные показатели составили  $33,4 \pm 7,6$  mV и  $30,7 \pm 5,5$  mV, соответственно. После добавления к суспензии нейтрофилов зимозана уровень стимулированной хемилюминесценции —  $\Delta I$  у контрольных животных, получавших плацебо, составил  $159,5 \pm 48,1$  mV. Интегральный показатель хемилюминесценции у контрольной группы, получавшей плацебо, показатель *S* составил  $16,3 \pm 3,6$  ед.× $10^4$ . При изучении кинетики хемилюминесцентного ответа нейтрофилов на зимозан в контрольной и опытных группах животных выявлено, что 14-дневное введение препарата Афобазол в дозе 12 мг/кг не приводило к значимому изменению показателей в тесте, а в дозе 120 мг/кг значимо ( $p < 0,05$ ) снижало интегральный показатель хемилюминесценции *S* в 2,4 раза (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о наличии антирадикальной активности у пролонгированной формы Афобазола. Таким образом, двухнедельное пероральное введение пролонгированной лекарственной формы препарата Афобазол в дозах 12 и 120 мг/кг значимо снижало уровни спонтанной хемилюминесценции в 2,0 и 2,2 раза по сравнению с контрольной группой, получав-

Таблица 1

Влияние пролонгированной лекарственной формы препарата Афобазол на показатели хемилюминесцентного ответа нейтрофилов на зимозан при пероральном введении в течение 14 дней

Table 1

Effect of the prolonged dosage form of the drug Afobazol on the parameters of the chemiluminescent response of neutrophils to zymosan when administered orally for 14 days

Группы, n = 10	$\Delta I$ , (mv)	Уровень значимости	S, (ед.) / $10^4$	Уровень значимости
Плацебо (перорально)	159,5±48,1	—	16,3±3,6	—
Афобазол, 12 мг/кг (перорально)	113,8±25,5	$p > 0,05$	15,7±5,5	$p > 0,05$
Афобазол, 120 мг/кг (перорально)	66,9±14,6	$p > 0,05$	6,7±1,2	$p < 0,05$

*Примечания:* n – число животных;  $\Delta I$  – показатель уровня активированной хемилюминесценции; S – интегральный показатель хемилюминесценции; p – статистическая значимость различий по сравнению с контрольной группой по непарному t-критерию Стьюдента.  
*Notes:* n – number of animals;  $\Delta I$  – indicator of the level of activated chemiluminescence; S – integral indicator of chemiluminescence; p – statistical significance of differences in comparison with the control group according to the unpaired Student's t-test.

шей плацебо. Введение пролонгированной формы Афобазола в дозе 12 мг/кг не оказывало достоверного влияния на параметры хемилюминесценции полиморфноядерных гранулоцитов, активированных опсонизированным зимозаном, а в дозе 120 мг/кг значимо ( $p < 0,05$ ) снижало интегральный показатель хемилюминесценции S в 2,4 раза.

Введение пролонгированной формы препарата Афобазол перорально 14 дней в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг мышам линий СВА и С57BL/6 не вызывало значимого влияния на антителообразование по сравнению с данными контрольных групп.

Двухнедельное введение пролонгированной формы препарата Афобазол перорально в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг мышам гибридам  $F_1$  (СВА×С57BL/6) в течение 14 дней не вызывало значимых изменений реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, результаты проведенного исследования иммунотоксичности пролонгированной формы

препарата Афобазол позволяют заключить, что введение пролонгированной формы препарата Афобазол в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия.

### Заключение

Результаты проведенного комплексного исследования позволяют заключить, что пролонгированная форма препарата Афобазол в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия. Проведенное исследование не установило данных, препятствующих клиническому испытанию готовой пролонгированной формы препарата Афобазол.

*Исследование выполнено в рамках Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу».*

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Коваленко Лариса Петровна**  
 Автор, ответственный за переписку

e-mail: kovalenko.larisa@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-2083-0832

SPIN-код: 5185-4250

д. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

**Kovalenko Larisa P.**  
 Corresponding author

e-mail: kovalenko.larisa@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-2083-0832

SPIN code: 5185-4250

D. Sci. in Biology, Leading Researcher of drug toxicology department FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow, Russia

**Журиков Руслан Валерьевич**  
 ORCID ID: 0000-0003-1084-690X

SPIN-код: 6648-1794

м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

**Zhurikov Ruslan V.**  
 ORCID ID: 0000-0003-1084-690X

SPIN code: 6648-1794

Junior researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow, Russia

**Коржова Ксения Витальевна**  
ORCID ID: 0000-0002-8087-4976  
SPIN-код: 3831-3782

м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

**Korzhova Ksenia V.**  
ORCID ID: 0000-0002-8087-4976  
SPIN code: 3831-3782

Junior researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow, Russia

**Дурнев Андрей Дмитриевич**  
ORCID ID: 0000-0003-0218-8580  
SPIN-код: 8426-0380

д. м. н., профессор, член-корр. РАН, заведующий отделом лекарственной токсикологии, директор ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

**Durnev Andrei D.**  
ORCID ID: 0000-0003-0218-8580  
SPIN code: 8426-0380

D. Sci. in Medicine, professor, RAS corresponding member of the RAS, Head of the department of drug toxicology, Director FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow, Russia

#### Литература / References

1. Середенин С.Б., Воронин М.В. Нейрорецепторные механизмы действия афобазола // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2009. – Т. 72. – № 1. – С. 3–11. [Seredenin SB, Voronin MV. Neuroreceptor mechanisms involved in the action of afobazole. *Ekspierimental'naiia i klinicheskaia farmakologiia*. 2009;72(1):3–11. (In Russ).]. DOI: 10.30906/0869-2092-2009-72-1-3-11.

2. Кадников И.А., Воронин М.В., Середенин С.Б. Влияние афобазола на активность хинонредуктазы 2 // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2013. – Т. 47. – №10. – С. 9–11. [Kadnikov IA, Voronin MV, Seredenin SB. Effect of afobazole on the activity of quinone reductase 2. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*. 2013;47(10):9–11. (In Russ).]. DOI: 10.30906/0023-1134-2013-47-10-9-11.

3. Хаитов Р.М., Иванова А.С., Коваленко Л.П., и др. Методические рекомендации по оценке иммунотоксического действия фармакологических веществ. Руководство по проведению доклинических ис-

следований лекарственных средств. Часть первая. / под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К; 2012. – С. 64–79. [Haitov RM, Ivanova AS, Kovalenko LP, et al. Metodicheskie rekomendacii po ocenke immunotoksicheskogo dejstviya farmakologicheskikh veshchestv. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv. Part one. / Ed by AN Mironova. Moscow: Grif i K; 2012. p. 64–79. (In Russ).].

4. Хаитов Р.М., Гушин И.С., Пинегин Б.В. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению иммуотропной активности фармакологических веществ. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К; 2012. – С. 626–656. [Haitov RM, Gushchin IS, Pinegin BV, et al. Metodicheskie rekomendacii po doklinicheskomu izucheniyu immunotropnoj aktivnosti farmakologicheskikh veshchestv. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv. Part one. / Ed by AN Mironova. Moscow: Grif i K; 2012. p. 626–656. (In Russ).].