

ОЦЕНКА ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ НОВОГО АМИНОКИСЛОТНОГО ПРОИЗВОДНОГО ТИАДИАЗОЛА ПРИ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ МЫШАМ

*Кафедра управления и экономики фармации
ГБОУ ВПО Тверской государственной медицинской университет Минздрава России*

В экспериментах на нелинейных мышах-самках ($n = 24$) проведена оценка острой токсичности нового аминокислотного производного тиадиазола. Анализ результатов токсикологических исследований показал, что DL_{16} и DL_{84} соединения ЛХТ₇₋₀₉ при внутрижелудочном введении подопытным мышам составили соответственно 645,65 мг/кг и 1148,15 мг/кг. Среднесмертельная доза (DL_{50}) соединения ЛХТ₇₋₀₉ при внутрижелудочном введении мышам составила $860,99 \pm 125,62$ мг/кг. Результаты определения острой токсичности соединения ЛХТ₇₋₀₉ позволили отнести его к веществам 3-го класса опасности в соответствии с ГОСТом 12.1.007-76 и к умеренно токсичным веществам по классификации Ходжа и Стернера.

Ключевые слова: тиадиазол, аминокислотное производное, острая токсичность, НПВП, мыши.

ACUTE TOXICITY EVALUATION OF THE NEW AMINO ACID DERIVATIVE FROM THIADIAZOLE AT INTRAGASTRIC ADMINISTRATION ON MICE

N.S. Popov, M.A. Demidova

Tver State Medical University

During the experiment on nonlinear female mice ($n = 24$) the acute toxicity of the new amino acid derivative from thiadiazole was evaluated. It is shown that the DL_{16} and DL_{84} of the LHT₇₋₀₉'s substance are 645,65 mg/kg and 1148,15 mg/kg on mice at intragastric administration. Average lethal dose (DL_{50}) of LHT₇₋₀₉'s substance is $860,99 \pm 125,62$ mg/kg on mice at intragastric administration. The results of studies of the acute toxicity of LHT₇₋₀₉'s substance allow to include it to substances of third class of danger in accordance with the 12.1.007-76 GOST and to moderately toxic substances with Hodge and Sterner's classification.

Key words: thiadiazole, amino acid derivative, acute toxicity, NSAIDs, mice.

Введение

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) – одна из широко применяемых в клинической практике фармакологических групп. Основной проблемой при назначении НПВП является их невысокий профиль безопасности. Главными побочными эффектами НПВП являются различные поражения желудочно-кишечного тракта, начиная с диспепсии и заканчивая серьезными осложнениями (кровотечение, обструкция и перфорация желудка), частота которых значительно увеличивается при длительном потреблении этих средств. Наряду с гастроинтестинальной токсичностью НПВП вызывают побочные явления со стороны сердечно-сосудистой системы, среди которых повышение чистоты тромботических кардиоваскулярных событий, гипертензии, комбинированных ангиальных явлений, предсердных аритмий, инфаркта миокарда и сердечной недостаточности. У пациентов, регулярно принимающих НПВП, отмечено также увеличение частоты побочных реакций со стороны почек (умеренное снижение клубочковой фильтрации, развитие почечной недостаточности, интерстициальный нефрит) и печени (бессимптомное повышение уровня трансаминаз, острый лекарственный гепатит, печеночная недостаточность). Имеются данные об отрицательном влиянии НПВП на процессы

заживления переломов и протекание бронхиальной астмы [1, 2].

Известно, что среди производных тиадиазола имеются малотоксичные соединения с выраженной противовоспалительной активностью и низкой язвобезопасностью [3–5]. Свойствами НПВП обладают различные производные тиадиазола, имеющие в своем составе фрагменты органических кислот (янтарной, бензолуксусной, пропионовой и аминокислот) [6, 7]. Одним из таких веществ является новое аминокислотное производное тиадиазола ЛХТ₇₋₀₉.

Цель исследования: оценка острой токсичности нового аминокислотного производного тиадиазола в экспериментах на мышах.

Материал и методы

Объектом исследования явилось новое производное тиадиазола в виде амида аминокислоты с лабораторным шифром ЛХТ₇₋₀₉, синтезированное в ОАО «ВНЦ БАВ» (г. Старая Купавна) проф. С.Я. Скачковой.

Значение DL_{50} для нового аминокислотного производного тиадиазола определяли методом пробит-анализа Литчфильда и Уилкоксона в модификации В.Б. Прозоровского (1978) при однократном внутрижелудочном введении мышам в виде взвеси с 0,5% Твина 80. В опытах по оценке острой токсичности

использовали белых нелинейных мышей-самок мас-сой $22,3 \pm 0,8$ г. Животных содержали в стандартных условиях вивария Тверского государственного медицин-ского университета в соответствии с правилами качественной лабораторной практики. Перед поста-новкой эксперимента животные проходили карантин в течение 10–14 дней.

Вещество ЛХТ₇₋₀₉ испытывали в дозах по 500, 1000, 1500, 2250 мг/кг. Каждая группа эксперимен-тальных животных включала по 6 особей. Продол-жительность наблюдения за животными после вве-дения препарата составляла 14 дней. В первый день подопытные животные находились под непрерыв-ным контролем. С регулярной периодичностью от-мечали общее состояние животных (поведение, дви-гательную активность, потребление воды и пищи). В каждой группе учитывали число смертельных ис-ходов в течение всего срока наблюдения.

Класс токсичности изучаемого соединения опре-деляли по значению DL_{50} в соответствии с класси-фикацией ГОСТ 12.1.007-76 [8], а также класси-фикацией Ходжа и Стернера (1943).

Результаты исследований обработаны статисти-чески с применением программного обеспечения «AnalystSoft Inc., BioStat – программа статисти-ческого анализа. Версия 2009». Для ряда выборок вычисляли среднюю арифметическую и среднюю квадратическую ошибку. Определение нормальности распределения переменных проводили на основа-нии гистограмм распределения, величины асиммет-рии и эксцессы. Для оценки достоверности разли-чий выборок, имеющих нормальное распределение, применяли параметрический t-критерий Стьюдента. За достоверное принимали различие при уровне ве-роятности 95% и более ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Анализ результатов экспериментального иссле-дования показал, что при внутрижелудочном введе-нии подопытным мышам соединения ЛХТ₇₋₀₉ в дозе 500 мг/кг гибели подопытных животных в течение 14 дней не наблюдалось, тогда как при применении анализируемого соединения в дозах 1500 мг/кг и 2250 мг/кг погибли все подопытные мыши. Жи-вотные, получавшие новое аминокислотное про-изводное тиадиазола в дозе 1500 мг/кг, погибли на 3-и сутки. При введении данного соединения в дозе 2250 мг/кг летальный исход у половины животных в группе наступил в первые сутки наблюдения, а у второй половины – во вторые. Гибель животных, по-лучавших исследуемое соединение в дозе 1000 мг/кг, зарегистрирована на третьи сутки от начала наблю-дения. При этом летальный исход наблюдался у 4 животных из 6 (табл. 1).

Для нахождения значения среднесмертельной дозы по полученным данным использовали уравне-ние линейной регрессии вида:

$$\text{Доза} = b_0 + b_1(\text{эффект}),$$

где b_0 и b_1 – коэффициенты уравнения линейной регрессии.

Таблица 1

Динамика гибели мышей-самок при однократном внутрижелудочном введении соединения ЛХТ₇₋₀₉

Серия опытов	Число погибших мышей					Ле-таль-ность, %
	1-й день	2-й день	3-й день	4–14-й дни	Все-го	
ЛХТ ₇₋₀₉ (500 мг/кг), n=6	0	0	0	0	0	0
ЛХТ ₇₋₀₉ (1000 мг/кг), n=6	0	0	4	0	4	66,7
ЛХТ ₇₋₀₉ (1500 мг/кг), n=6	0	0	6	0	6	100
ЛХТ ₇₋₀₉ (2250 мг/кг), n=6	3	3	0	0	6	100

Перед расчетом коэффициентов линейного урав-нения регрессии S-образную кривую «доза-эффект» выпрямляли при помощи логарифмирования значе-ний доз, используемых в тесте, с последующим преобразованием процента гибели животных в ве-роятностные единицы – пробиты (Bliss Ch.I., 1933).

Для учета краевых точек с летальностью 0 и 100% были использованы значения пробитов для разных объемов подопытных групп особей (В.Б. Прозоровский, 1962). Результаты преобразо-вания приведены в табл. 2.

Таблица 2

Значения логарифмов доз и пробитов для ЛХТ₇₋₀₉ при внутрижелудочном введении мышам

Серия опытов	Значение логарифма дозы, (lgD)	Значение пробитов по Блессу, (p)	Значение $p \cdot \lg D$
ЛХТ ₇₋₀₉ (500 мг/кг), n=6	2,69897	3,27	8,83
ЛХТ ₇₋₀₉ (1000 мг/кг), n=6	3,0	5,44	16,32
ЛХТ ₇₋₀₉ (1500 мг/кг), n=6	3,17609	7,72	24,52
ЛХТ ₇₋₀₉ (2250 мг/кг), n=6	3,35218	7,72	25,88
Суммарно по всем сериям	$\Sigma(\lg D) = 12,23$	$\Sigma p = 24,15$	$\Sigma(p \cdot \lg D) = 75,55$

Для дальнейшего анализа зависимости «доза – эффект» использовали уравнение линейной регрес-сии вида:

$$\lg D = b_0 + b_1 p,$$

где $\lg D$ – десятичный логарифм дозы соединения ЛХТ₇₋₀₉ при внутрижелудочном введении мышам, p – значение пробита, соответствующее определен-ной смертности, b_0 и b_1 – коэффициенты уравнения регрессии, вычисляемые по методу наименьших квадратов.

Для определения коэффициентов уравнения регрессии дополнительно рассчитывали квадраты логарифмов доз и пробитов (табл. 3).

Таблица 3

Значения квадратов логарифмов доз и пробитов для ЛХТ₇₋₀₉ при внутрижелудочном введении мышам

Серия опытов	P ²	(lgD) ²
ЛХТ ₇₋₀₉ (500 мг/кг), n=6	10,69	7,28444
ЛХТ ₇₋₀₉ (1000 мг/кг), n=6	29,59	9,0
ЛХТ ₇₋₀₉ (1500 мг/кг), n=6	59,59	10,08755
ЛХТ ₇₋₀₉ (2250 мг/кг), n=6	59,59	11,23711
Суммарно по всем сериям	Σ(p ²) = 159,48	Σ((lgD) ²) = 37,60910

Используя предварительно рассчитанные значения, вычисляли вспомогательные величины для определения коэффициентов линейного уравнения регрессии:

$$C_p = \Sigma(p^2) - (\Sigma p)^2/n = 159,48 - 24,15^2/4 = 13,67;$$

$$C_D = \Sigma((lgD)^2) - (\Sigma(lgD))^2/n = 37,61 - 12,23^2/4 = 0,22;$$

$$C_{pD} = \Sigma(plgD) - (\Sigma p)(\Sigma(lgD))/n = 75,55 - 24,15 \cdot 12,23/4 = 1,71.$$

$$M_p = \Sigma p/n = 24,15/4 = 6,04;$$

$$M_D = \Sigma(lgD)/n = 12,23/4 = 3,06.$$

Коэффициенты линейного уравнения регрессии:

$$b_1 = C_{pD}/C_p = 1,71/13,67 = 0,125;$$

$$b_0 = M_D - b_1 M_p = 3,06 - 0,125 \times 6,04 = 2,31.$$

Таким образом, линейное уравнение регрессии, выражающее зависимость дозы от летальности животных, принимало следующий вид:

$$lgD = 2,31 + 0,125 p.$$

С помощью найденного линейного уравнения регрессии определили DL₁₆, DL₅₀, DL₈₄ для соединения ЛХТ₇₋₀₉ при внутрижелудочном введении мышам:

$$DL_{16} = 645,65 \text{ мг/кг},$$

$$DL_{50} = 860,99 \text{ мг/кг},$$

$$DL_{84} = 1148,15 \text{ мг/кг}.$$

Графическое изображение взаимосвязи логарифмов доз и пробитов показано на рис. 1.

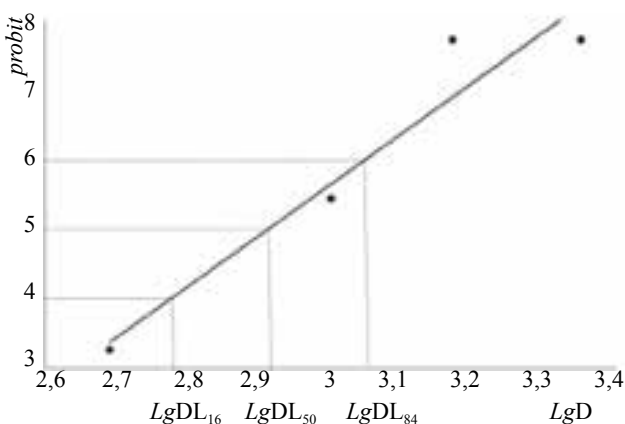


Рис. 1. Зависимость летальности подопытных мышей (в пробитах) от дозы ЛХТ₇₋₀₉ при однократном внутрижелудочном введении

Для среднесмертельной дозы вычислили стандартное отклонение S, ошибку m и доверительный интервал:

$$S \approx (DL_{84} - DL_{16})/2 = (1148,15 - 645,65)/2 = 251,25;$$

$$m = S/\sqrt{n} = 251,25/2 = 125,62;$$

$$DL_{50} - t_{0,05} m = 860,99 - 3,18 \times 125,62 = 462,69;$$

$$DL_{50} + t_{0,05} m = 860,99 + 3,18 \times 125,62 = 1260,46.$$

Таким образом, анализ результатов токсикологических исследований показал, что DL₁₆, DL₅₀ и DL₈₄ нового аминокислотного производного тиadiaзола (ЛХТ₇₋₀₉) при внутрижелудочном введении подопытным мышам составили 645,65 мг/кг, 860,99 мг/кг и 1148,15 мг/кг соответственно.

Выводы

Среднесмертельная доза DL₅₀ нового аминокислотного производного тиadiaзола (ЛХТ₇₋₀₉) при внутрижелудочном введении подопытным мышам составила 860,99 ± 125,62 мг/кг.

В соответствии с ГОСТом 12.1.007–76 ЛХТ₇₋₀₉ относится к веществам 3-го класса опасности и умеренно токсичным по классификации Ходжа и Стернера.

Литература/References

1. Лазебник Л.Б., Дроздов В.Н., Ким В.А. Эффективность фамотидина в профилактике НПВП-гастропатий. Результаты российского многоцентрового исследования ЗАСЛОН-1 (защита слизистой оболочки желудка от нестероидных противовоспалительных препаратов) // Эксперим. клин. гастроэнтерол. – 2009. – № 2. – С. 3–9.
2. Lazebnik L.B., Drozdov V.N., Kim V.A. Jeffektivnost' famotidina v profilaktike NPVP-gastropatij. Rezul'taty rossijskogo mnogocentrovogo issledovanija ZASLON-1 (zashhita slizistoj obolochki zheludka ot nesteroidnyh protivovospalitel'nyh preparatov) // Jekperim. klin. gastrojenterol. – 2009. – № 2. – С. 3–9.
3. Day R.O. et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) // BMJ. – 2013. – P. 346.
4. Казаишвили Ю.Г., Демидова М.А. Исследование анальгетической активности новых производных тиadiaзола // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 6; URL: www.science-education.ru/106–7306 (дата обращения: 26.10.2015).
5. Kazaishvili Ju.G., Demidova M.A. Issledovanie anal'geticheskoj aktivnosti novyh proizvodnyh tiadiazona // Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. – 2012. – № 6; URL: www.science-education.ru/106–7306 (data obrashhenija: 26.10.2015).
6. Казаишвили Ю.Г., Попов Н.С. Исследование противовоспалительной активности новых производных тиadiaзола при формалиновом отеке лапы у крыс // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 3; URL: www.science-education.ru/109–9598 (дата обращения: 18.10.2015).
7. Kazaishvili Ju.G., Popov N.S. Issledovanie protivovospalitel'noj aktivnosti novyh proizvodnyh tiadiazola pri formalinovom oteke lapy u krys // Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. – 2013. – № 3; URL: www.science-education.ru/109–9598 (data obrashhenija: 18.10.2015).
8. Попов Н.С., Казаишвили Ю.Г., Демидова М.А. Изучение фармакологической активности новых производных тиadiaзола // Материалы I Российской конференции по медицинской химии с международным

участием (MedChemRussia-2013, 8–12 сентября 2013, Москва). – 2013. – С. 220.

Popov N.S., Kazaishvili Ju. G., Demidova M.A. Izuchenie farmakologicheskoy aktivnosti novyh proizvodnyh tiadiazola // Materialy I Rossijskoj konferencii po medicinskoj himii s mezhdunarodnym uchastiem (MedChemRussia-2013, 8–12 sentjabrja 2013, Moskva). – 2013. – S. 220.

6. Schenone S., Brullo C., Bruno O. et al. New 1, 3, 4-thiadiazole derivatives endowed with analgesic and anti-inflammatory activities // Bioorg Med Chem. – 2006. – V. 14. – № 6 – P. 705.

7. Sharma R., Sainy J., Chaturvedi S.C. 2-Amino-5-sulfanyl-1,3,4-thiadiazoles: a new series of selective cyclooxygenase-2 inhibitors // Acta Pharm. – 2008. – V. 58. – № 3. – P. 26.

8. Березовская И.В. Система оценки безопасности фармакологических веществ // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – Т. 37. – № 3. – С. 32–34.

Berezovskaja I.V. Sistema ocenki bezopasnosti farmakologicheskikh veshhestv // Himiko-farmaceuticheskij zhurnal. – 2003. – T. 37. – № 3. – S. 32–34.

Попов Никита Сергеевич (контактное лицо) – ассистент кафедры управления и экономики фармации ГБОУ ВПО Тверской государственной медицинской университет Минздрава России. 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4. Тел. 8-963-219-41-89; e-mail: ns.popov@mail.ru.

УДК 616-006.6-089.163-06:616.89-085

С.Б. Марасанов

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ПСИХОИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ В ПРОЦЕССЕ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ПОДГОТОВКИ

*Кафедра фармакологии и клинической фармакологии
 ГБОУ ВПО Тверской государственной медицинской университет Минздрава России*

В статье обсуждаются возможности фармакологической коррекции психоэмоциональной дезадаптации и состояния иммунитета онкологических больных с тем, чтобы положительно повлиять на исход операции и прогноз в послеоперационном периоде. Сравнивались 4 группы больных раком легкого (196 мужчин и 5 женщин), получавших в предоперационном периоде диазепам, amitriptилин, тималин или симптоматическую терапию. Использовались методы психологического тестирования, а также изучалось состояние иммунитета. В ходе исследования выявлена тесная взаимосвязь психоэмоционального статуса и состояния иммунитета. Установлено, что использование диазепама в предоперационной подготовке больных раком легкого не только вызывает отчетливую регрессию симптомов тревожно-депрессивного синдрома в сочетании с иммуностимулирующим эффектом, но и реально улучшает качество предоперационной подготовки, уменьшая количество осложнений в ближайшем послеоперационном периоде.

Ключевые слова: фармакологическая коррекция, психоэмоциональный статус, состояние иммунитета, предоперационная подготовка, осложнения в послеоперационном периоде.

PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF PSYCHOIMMUNOLOGICAL STATUS OF CANCER PATIENTS DURING THE PREOPERATIVE PREPARATION

S.B. Marasanov
 Tver State Medical University

The paper discusses the possibilities of pharmacological correction of psycho-emotional maladjustment and immune status of cancer patients in order to positively influence the outcome of surgery and the prognosis in the postoperative period. Four groups of patients with lung cancer (196 men and 5 women) who received preoperative diazepam, amitriptyline, timalin or symptomatic therapy were compared. The methods of psychological testing both with the study the state of immunity were used. The study found a strong correlation of mental and emotional status and the state of immunity. It was found that the use of diazepam in the preoperative preparation of patients with lung cancer is not only provide a clear regression of the symptoms of anxiety and depressive syndrome in combination with immune