

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ И СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА КЛАРИТРОМИЦИН**

Павлють Т.О., Мелик-Касумов Т.Б., Жаворонок И.П., Таргонская Е.И., Павловец Л.В.,  
Благун Е.В., Марцинкевич Е.В., Ясюченя Р.Н., Молчанова А.Ю., Маньковская С.В.

*Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

biblio@fizio.bas-net.by

Внедрение современных лекарственных средств (ЛС) в клиническую практику осуществимо лишь при условии детального изучения их эффективности и безопасности на этапе экспериментальных (доклинических) исследований.

Токсикологические исследования фармакологических веществ требуются для установления характера и выраженности их повреждающего действия на организм экспериментальных животных и оценки его безопасности.

При исследовании общей токсичности происходит выявление переносимых и токсических доз ЛС, а также основных органов и систем организма, подверженных повреждающему действию изучаемых веществ [1, 2].

**Целью** исследования явилась оценка острой и субхронической токсичности ЛС Кларитромицин, таблетки, покрытые оболочкой 250 мг, выпускаемого ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов».

**В задачи** исследования входили характеристика степени повреждающего действия фармакологического вещества при его однократном введении, оценка безопасности однократного ежедневного на протяжении 28 суток введения ЛС экспериментальным животным, характеристика степени повреждающего действия фармакологического вещества, выявление наиболее чувствительных органов.

**Материалы и методы.** Измельченные навески тестируемого ЛС (Кларитромицин, таблетки, покрытые оболочкой 250 мг) вводились внутрижелудочно (в/ж) в виде водного раствора с помощью металлического атравматического зонда. Выбор доз для исследования обусловлен информацией, предоставленной заказчиком, требованиями нормативных документов и методическими рекомендациями [1, 3].

Работа по исследованию острой токсичности ЛС была проведена на 72-х (36 самцов и 36 самок) рандомбредных крысах одного возраста, массой 180-210 г и 72-х (36 самок и 36 самцов) мышах одного возраста, массой 18-21 г. Для оценки острой токсичности были выбраны следующие дозы: терапевтическая разовая, которая в пересчете на крыс и мышей составила 50 мг/кг и 100 мг/кг соответственно; максимальная (на основании данных литературы о ЛД<sub>50</sub>): 3000 мг/кг для крыс и 2000 мг/кг для мышей; две промежуточные дозы (между разовой терапевтической и максимальной): 500 и 2000 мг/кг для крыс и 500 и 1000 мг/кг для мышей [1-4].

Исследование субхронической токсичности Кларитромицина выполнены на 80-х (40 самцов и 40 самок) рандомбредных крысах одного возраста и массой 200-240 г. Для оценки безопасности ЛС использовали метод субхронической токсичности Lim'a и соавт., позволяющий оценить в одном исследовании кумулятивные свойства вещества при его воздействии на организм и развитие привыкания к нему. В первые четыре дня ежедневно вводили дозу, составляющую десятую часть от ЛД<sub>50</sub>. Затем дозу повышали в 1,5 раза и вводили последующие четыре дня. После введения Кларитромицина в восьмой раз накопленная доза составляла одну полулетальную дозу. Введение ЛС продолжали далее, каждые четыре дня повышая дозу в 1,5 раза от предыдущего уровня [1-4].

Для сравнения отдельной группе животных в/ж вводили дистиллированную воду (растворитель). Контролем служили интактные животные.

О токсическом действии Кларитромицина судили по общему состоянию (внешний вид, поведение, состояние шерстного (волосяного) и кожного покровов и слизистых оболочек),

приросту массы тела, потреблению пищи и воды, гематологическим и биохимическим показателям крови, параметрам сердечно-сосудистой системы, макроскопически выявляемым изменениям внутренних органов, и их весовым коэффициентам.

Забор крови у животных (только у крыс) для анализа осуществляли после 14-15-часового голодания в одно и то же время суток до введения ЛС, на 8-е и 15-е сутки при острой токсичности и на 14-е, 28-е и 42-е сутки при субхронической. Регистрацию показателей осуществляли с помощью автоматического гематологического ветеринарного анализатора Nihon Mek 6450K (Япония). Определение биохимических показателей в сыворотке крови осуществляли на автоматическом биохимическом анализаторе BS-200 (MINDRAY, Китай) с использованием коммерческих наборов фирмы Randox (Великобритания) [5].

Регистрацию показателей деятельности сердечно-сосудистой системы систолического артериального давления (АД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС) [4] осуществляли с помощью системы неинвазивного измерения давления у мелких животных (PanLab.HARVARD APPARATUS, Испания).

После завершения срока наблюдения (15-е сутки – острая токсичность, 28-е и 42-е сутки субхроническая токсичность) проведена эвтаназия и последующая некропсия тел всех выживших, включая контрольных. Во время некропсии отбирали следующие органы: легкие, сердце, печень, почки, селезенка, надпочечники, желудок для определения их массы и расчета весовых коэффициентов.

Анализ данных выполняли с использованием стандартных пакетов прикладных программ ORIGIN 7.0 и Microsoft Excel с определением среднего арифметического значения и его стандартной ошибки  $M \pm m$ . Проверка на нормальность распределения количественных показателей осуществлялась по критерию Шапиро-Уилка. Для сравнительного анализа количественных переменных применяли  $t$  критерий Стьюдента. В процессе обработки данных вывод о статистической значимости делали при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** При исследовании острой токсичности Кларитромицина отмечено, что в течение всего периода наблюдения существенных признаков изменения клинического состояния и поведения экспериментальных животных не наблюдалось. На протяжении всего эксперимента случаев гибели подопытных крыс и мышей не зафиксировано. Указанное ЛС при однократном введении в желудок в исследуемых дозах не вызвало достоверных изменений количества потребляемого корма и воды по сравнению как с интактными крысами и мышами, так и с животными, которым вводили дистиллированную воду ( $p > 0,05$ ). На протяжении всего эксперимента динамика роста массы тела животных в целом была положительной, темпы прироста массы тела в группах, получавших Кларитромицин во всех дозах, растворитель (дистиллированная вода) и в контрольной группе (интактные животные), существенно не отличались ( $p > 0,05$ ). Некоторые изменения показателей периферической крови (8-е и 15-е сутки) носили недостоверный характер ( $p > 0,05$ ). Установлено незначительное увеличение ( $p > 0,05$ ) массы печени как у самцов, так и у самок крыс, в тоже время у мышей все показатели массы внутренних органов не превышали контрольные значения ( $p > 0,05$ ). После введения препарата у крыс (самцов и самок) в среднем не было установлено достоверных отличий показателей отношения массы внутренних органов к массе тела во всех экспериментальных группах. У мышей обнаружено незначительное снижение массового коэффициента печени.

При исследовании субхронической токсичности Кларитромицина у крыс-самок отмечена бóльшая чувствительность к действию исследуемого ЛС, что выразилось в более раннем развитии реакции со стороны кожных покровов (покраснения, царапины, трещинки на ушных раковинах, лапах и хвосте) и летального исхода, по сравнению с самцами. Введение Кларитромицина приводило к снижению ( $p > 0,05$ ) потребления воды и пищи по сравнению с интактными животными. После в/ж введения ЛС отмечено снижение ( $p < 0,05$ ) массы тела подопытных крыс (самцы и самки) как при сопоставлении с контролем, так и животными, которым вводили дистиллированную воду. Установлено, что Кларитромицин на

14-е сутки не оказывает выраженного негативного влияния на показатели периферической крови как у самцов, так и у самок. Снижение количества лейкоцитов и тромбоцитов носило недостоверный характер ( $p > 0,05$ ). Мониторинг параметров сердечно-сосудистой системы показал, что в/ж введение дистиллированной воды и Кларитромицина экспериментальным животным не оказывало значительного влияния ( $p > 0,05$ ) на систолическое АД и ЧСС по сравнению с интактными животными. Введение ЛС экспериментальным животным не оказывало местно-раздражающего действия на желудочно-кишечный тракт. Наиболее чувствительными к действию Кларитромицина органами по результатам исследования, как у самцов, так и у самок, оказались печень, селезенка, почки и надпочечники. Установлены характерные для интоксикации изменения весовых коэффициентов печени, селезенки, почек и надпочечников у экспериментальных животных обоего пола после приема лекарственного средства. На 23-и сутки после в/ж введения Кларитромицина суммарной дозой 7,49 ЛД<sub>50</sub> зафиксирована гибель всех экспериментальных животных (самцов и самок), которым вводили ЛС.

**Заключение.** Результаты экспериментальных исследований острой токсичности ЛС Кларитромицин показали, отсутствие летальных исходов, патологических изменений внутренних органов и местно-раздражающего действия на желудочно-кишечный тракт. Общее состояние и поведение животных носили нормальный характер и не отличались от таковых у животных из контрольных групп. Полученные данные позволили отнести Кларитромицин к классу умеренно токсичных лекарственных веществ (по Н. Hodge et al., 1975) или к III классу умеренно опасных соединений (согласно ГОСТу 12.1.007-76).

По результатам экспериментальных исследований субхронической токсичности ЛС Кларитромицин установлено, что ежедневное в/ж введение исследуемого вещества суммарной дозой 7,49 ЛД<sub>50</sub> к 23-м суткам привело к гибели всех экспериментальных животных (самцов и самок), которым вводили ЛС. Проведенное исследование показало, что наиболее чувствительными органами к действию Кларитромицина оказались такие внутренние органы, как печень, селезенка, почки и надпочечники, введение ЛС не сопровождается местно-раздражающим действием на желудочно-кишечный тракт. Коэффициент кумуляции (отношение суммарной дозы вещества, вызвавшей гибель 50% подопытных животных при многократном введении, к дозе, вызвавшей гибель 50% животных при однократном воздействии) Кларитромицина составил 4,74, что позволило отнести его к ЛС с умеренной функциональной кумуляцией (по Медведю Л.И., 1964).

### Литература

1. Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева - 2 изд., перераб. и доп. - М.: Медицина, 2005 - 832 с.
2. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. М., «Русский врач», 2003, 76 с.
3. Технический кодекс установившейся практики. ТКП 125-2008 (02040) Надлежащая лабораторная практика. Утверждено и введено Постановлением Министерства здравоохранения Респ. Беларусь 28 марта 2008 г. №56. Официальное издание МЗ РБ. 35 с.
4. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях под редакцией: Н.Н. Каркищенко и С.В. Грачева Москва 2010. 344 с.
5. Власова, Н.В. Методы клинических лабораторных исследований: Учебное пособие. / Н.В. Власова. - Красноярск: Красноярский медико-фармацевтический колледж, 2008. 222 с.

### RESEARCH OF ACUTE AND SUBCHRONIC TOXICITY OF THE DRUG CLARITHROMYCIN

*Pavlut T.O., Melik-Kasumov T.B., Zhavoronok J.P., Targonskaya E.I., Pavlovets L.V., Blagun E.V., Martsynkevich E.V., Yasyuchenya R.N., Molchanova A.YU., Mankovskaya S. V.*

*Institute of physiology of NAN of Belarus, Minsk, Belarus*  
**biblio@fizio.bas-net.by**

Assessment of toxicity and safety of generic medicines is important and helps to prevent possible negative effects. The acute and subchronic toxicity of the drug Clarithromycin manufactured by «Borisov Medical Preparations Plant», Republic of Belarus, Borisov after intragastric introduction were studied.

Results of experimental studies of acute toxicity of the drug Clarithromycin showed no deaths, pathological changes of internal organs and local irritation of the gastrointestinal tract. The general condition and behavior of animals had normal character. The obtained data allowed us to refer Clarithromycin to a class of moderately toxic drug or to the III class of moderately hazardous compounds.

According to the results of experimental studies of subchronic toxicity of Clarithromycin the most sensitive organs to the action of the drug were liver, spleen, kidneys and adrenal glands. Clarithromycin introduction appeared not to be followed by a local irritant action on a digestive tract. Daily introduction of the studied substance to the 23-th day led to death of all experimental animals (males and females) administered with Clarithromycin. The obtained data allowed to refer this medicament to substances with a moderate functional cumulation.

**Keywords:** *Clarithromycin, acute and subchronic toxicity, systolic arterial pressure, heart rate hematologic and biochemical indicators, necropsy, weight ratios.*