

**Острая токсичность супрамолекулярных комплексов
фенбендазола, полученных по механохимической технологии
с использованием адресной доставки Drug Delivery System**

А. И. Варламова¹, И. А. Архипов¹, Н. В. Данилевская², В. Н. Скира³

¹ *Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К. И. Скрябина, 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, e-mail: arhipov@vniigis.ru*

² *Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина, 109472, Москва, ул. акад. Скрябина, 23, e-mail: rector@mgavm.ru*

³ *Федеральное Агентство Научных Организаций 119334, Москва, Ленинский проспект, д. 32а, e-mail: akvet@mail.ru*

Реферат

Цель исследования – изучение острой токсичности супрамолекулярных комплексов фенбендазола, полученных по механохимической технологии в сравнении с субстанцией препарата при введении в желудок белым мышам и крысам.

Материалы и методы. Изучение параметров острой токсичности супрамолекулярных комплексов с фенбендазолом проводили согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» и других правил. Препараты вводили подопытным белым крысам и мышам обоего пола массой тела 160–180 и 18–20 г соответственно однократно в желудок в дозах 7 000, 10 000, 15 000 и 20 000 мг/кг по препарату. Исследование каждой дозы проводили на 6 белых крысах и 10 белых мышах. В течение 14 сут наблюдали за общим состоянием и поведением животных, проявлением симптомов интоксикации и возможной гибелью. Проводили патологоанатомическое вскрытие павших животных. Показатели острой токсичности определяли по Литчфилду и Уилкоксону (М. Д. Беленький, 1963).

Результаты и обсуждение. ЛД₅₀ супрамолекулярного комплекса фенбендазола и базового препарата – фенбендазола установить не удалось из-за низкой токсичности. Максимально переносимая доза супрамолекулярного комплекса № 2 составила 10 000 мг/кг, ЛД₅₀ супрамолекулярного комплекса с фенбендазолом № 2 при введении в желудок белым мышам и крысам – 20 000 мг/кг.

Ключевые слова: супрамолекулярный комплекс, фенбендазол, острая токсичность, белые мыши, белые крысы, ЛД₅₀.

Введение

Для лечения гельминтозов животных широко применяют фенбендазол и его лекарственные формы. Препарат, обладая широким спектром действия, в том числе против нематод, цестод и трематод, успешно используют в ветеринарии на разных видах животных [5–9].

Фенбендазол в химическом отношении представляет собой [5-(фенилтио)-2-бензимидазол карбамат [5]. Механизм действия фенбендазола заключается в ингибировании активности фумарат редуктазы, снижении потребления гликогена в кишечнике гельминтов, нарушении митохондриальной функции и митохондриального метаболизма. Нематоды выделяются из организма животных в течение 2–3-х суток после назначения фенбендазола [9].

Фенбендазол высоко эффективен против нематод, в том числе и на преимагинальной стадии. Эффективность его против трихоцефал несколько ниже. Препарат снижает зараженность животных имагинальными фасциолами, но не активен против молодых *Fasciola hepatica* [1].

Фармако-токсикологические свойства фенбендазола достаточно полно изучены и указывают на безопасность применения по общетоксическим свойствам. ЛД₅₀ препарата при введении в желудок белым мышам и крысам установить не удалось, т. е. более 15 000 мг/кг [9]. Недостатком препарата является нерастворимость в воде, что снижает его антигельминтную эффективность.

Согласно системы биофармацевтической классификации FDA [7] фенбендазол относится к IV классу препаратов с низкой проницаемостью и плохой растворимостью, т. е. препарат имеет слабую биодоступность и плохо абсорбируется слизистой оболочкой кишечника.

Поэтому использование механических, химических подходов, методов комплексообразования типа «гость – хозяин» и приемов нанотехнологии позволит повысить растворимость, проницаемость, биодоступность и эффективность фенбендазола и изменить его токсические свойства.

В связи с этим цель нашей работы – оценить токсические свойства супрамолекулярных комплексов фенбендазола, полученных по механохимической технологии с использованием адресной доставки Drug Delivery System.

Супрамолекулярные комплексы с фенбендазолом № 1 на основе фармакопейного арабиногалактана и № 2 на основе Краснообского арабиногалактана получены методом механохимической технологии д. х. н. В. А. Душкиным, д. т. н. С. С. Халиковым и аспирантом Ю. С. Чистяченко, за что им выражаем благодарность. Способ получения комплексов характеризуется тем, что смешивают фенбендазол с полимером, затем смесь подвергают механохимической обработке путем ударно-стирающих воздействий до образования агрегатов – измельченных частиц размером от 0,1 до 10 микрон. При этом фенбендазол равномерно распределяется в порах и на поверхности полимерного носителя, что способствует повышению растворимости, проницаемости, биодоступности и эффективности.

Материалы и методы

Изучение параметров острой токсичности супрамолекулярных комплексов с фенбендазолом проводили в виварии и на базе лаборатории фармакологии, токсикологии и терапии ВНИИП им. К. И. Скрябина согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [4], а также других правил [2, 3].

Для определения параметров острой пероральной токсичности исследуемые препараты вводили однократно беспородным белым крысам и мышам обоего пола массой 160–180 и 18–20 г соответственно. Крысам и мышам препарат вводили в дозах 7 000, 10 000, 15 000 и 20 000 мг/кг по препарату. Исследование каждой дозы проводили на 6 белых крысах и 10 белых мышах. В течение 14 сут наблюдали за общим состоянием и поведением животных, проявлением симптомов интоксикации и возможной гибелью. Проводили патологоанатомическое вскрытие павших животных во время эксперимента. Выживших животных по завершению времени наблюдения декапитировали и также подвергали вскрытию.

Результаты и обсуждение

Результаты изучения токсичности препаратов при введении в желудок крысам приведены в таблице 1.

Таблица 1. Показатели токсичности препаратов при введении в желудок белым крысам

Доза, мг/кг	Число павших/выживших по группам		
	лек. форма № 2	лек. форма № 1	баз. фенбендазол
7 000	0/6	0/6	0/6
10 000	0/6	0/6	0/6
15 000	2/6	0/6	0/6
20 000	3/6	0/6	0/6

У крыс после введения базового препарата – фенбендазола не отмечали гибели животных после введения в желудок препарата в дозах 7 000, 10 000, 15 000 и 20 000 мг/кг.

Супрамолекулярный комплекс с фенбендазолом № 1 оказался не токсичным. Дозы новой лекарственной формы 7 000, 10 000, 15 000 и 20 000 мг/кг не вызывали гибели животных. От лекарственной формы № 2 пали две крысы, получившие в желудок 15 000 мг/кг, и три крысы пали после дозы 20 000 мг/кг.

Как показали результаты исследований на белых мышах, комплекс № 1 в испытанных дозах не вызывал гибели мышей (табл. 2). Наиболее токсичным оказался супрамолекулярный комплекс № 2. Только после его введения в желудок в дозе 15 000 мг/кг отмечали гибель трех из 10 мышей, а после дозы 20 000 мг/кг пало 5 из 10 мышей.

Таблица 2. Показатели токсичности препаратов при введении в желудок белым мышам

Доза, мг/кг	Число павших/выживших по группам		
	лек. форма № 2	лек. форма № 1	баз. альбендазол
7 000	0/10	0/10	0/10
10 000	0/10	0/10	0/10

15 000	3/10	0/10	0/10
20 000	5/10	0/10	0/10

Максимально переносимой дозой супрамолекулярного комплекса фенбендазола № 2 является доза 10 000 мг/кг. От максимальной вводимой дозы 20 000 мг/кг пали пять из 10 мышей. ЛД₅₀ этого комплекса следует считать дозу > 20 000 мг/кг.

ЛД₅₀ супрамолекулярного комплекса фенбендазола № 1 рассчитать было невозможно в связи с тем, что от максимальной вводимой дозы препарата 20 000 мг/кг не отмечали падежа мышей. Максимально переносимой дозой супрамолекулярного комплекса фенбендазола № 1 можно считать дозу 20 000 мг/кг, не вызывающую падеж и признаков интоксикации организма.

Не токсичным был базовый препарат – фенбендазол, после введения которого в дозе 7 000, 10 000, 15 000 и 20 000 мг/кг не отмечали падежа мышей.

При клиническом наблюдении за животными установлено, что при введении в желудок супрамолекулярного комплекса № 2 в токсических дозах (15 000–20 000 мг/кг) у крыс и мышей в первые часы отмечали одышку, возбуждение, тремор, постепенно переходящие в судороги, которые заканчивались или гибелью животных, или постепенным восстановлением жизненных функций организма животных.

При патологоанатомическом вскрытии павших животных регистрировали гиперемии стенок желудка, двенадцатиперстной кишки и тонкого кишечника; в предсердиях обнаруживали темную не свернувшуюся кровь, на печени и почках точечные кровоизлияния; капсула с почек легко снимается.

Не отмечено выраженной видовой чувствительности супрамолекулярного комплекса № 2. ЛД₅₀ при введении в желудок белым крысам и мышам составила 20 000 мг/кг.

С учетом установленных значений ЛД₅₀ согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76) супрамолекулярные комплексы с фенбендазолом и базовый препарат – фенбендазол по степени воздействия на организм белых мышей и белых крыс относятся к 4 классу опасности – вещества малоопасные. Таким образом, супрамолекулярный комплекс № 2 оказался более токсичным для организма теплокровных по сравнению с фенбендазолом субстанцией и супрамолекулярным комплексом № 1.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-16-00026).

Литература

1. *Архинов И. А.* Антигельминтики: фармакология и применение. – М.: Изд-во РАСХН, 2009.-405с.
2. *Беленький М. Д.* Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л.: Госмедиздат, 1963.- 146с.
3. Правила лабораторной практики. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 708 н от 23.08.2010.
4. *Хабриев Р. У.* (ред.) Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2005. – С. 626–628.

5. Baeder C., Bahr H., Christ O., Duwel D. et al. Fenbendazole: A new, highly effective anthelmintics // *Experientia*. – 1974. – V. 30. – P. 753–754.
6. Benz G. W. Action of fenbendazole against gastrointestinal nematodes of sheep // *Amer. J. Vet. Res.* – 1978. – V. 39, No 9. – P. 1107–1108.
7. Biopharmaceutics Classification System (BCS) Guidance, Available at: [//www.fda.gov/About FDA/Center Offices/CDER/ucm128219, htm](http://www.fda.gov/About_FDA/Center_Offices/CDER/ucm128219.htm)(accessed 25 may 2009).
8. Duwel D. Anthelmintic efficacy of fenbendazole in the control of trematodes and cestodes // *Vet. Rec.* – 1976. – No 21. – P. 375.
9. Riviere J. E., Papich M. G. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Ninth Edition, Wiley-Blackwell, 2009. -1544 pp.

References

1. Arhipov I. A. *Antigel'mintiki: Farmakologija i primenenie* [Anthelmintics: pharmacology and using]. Moscow, 2009. 405 p.
2. Belen'ky M.D. Elementy kolichestvennoj otsenki farmakologicheskogo effekta. [Elements of quantitative assessment of pharmacological effects]. Leningrad, Gosmedgizdat, 1963. 146 p.
3. Pravila laboratornoj praktiki. Prikaz Ministerstva zdravoohraneniya Rossijskoj Federatsii № 708 n ot 23.08.2010 [Laboratory practice rules. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No, 708 n of 23.08.2010].
4. Habriev R. U. Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv. [Guidelines for experimental (pre-clinical) studies of new pharmaceutical compounds]. Moscow, 2005. pp. 626–628.
5. Baeder C., Bahr H., Christ O., Duwel D. et al. Fenbendazole: A new, highly effective anthelmintics . *Experientia*. 1974, vol. 30, pp. 753–754.
6. Benz G. W. Action of fenbendazole against gastrointestinal nematodes of sheep. *Amer. J. Vet. Res.*, 1978, vol. 39, no. 9, pp. 1107–1108.
7. Biopharmaceutics Classification System (BCS) Guidance, Available at: [//www.fda.gov/About FDA/Center Offices/CDER/ucm128219, htm](http://www.fda.gov/About_FDA/Center_Offices/CDER/ucm128219.htm)(accessed 25 may 2009).
8. Duwel D. Anthelmintic efficacy of fenbendazole in the control of trematodes and cestodes, *Vet. Rec.*, 1976, no. 21, p. 375.
9. Riviere J. E., Papich M. G. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Ninth Edition, Wiley-Blackwell, 2009. 1544 p.

Russian Journal of Parasitology

Article history:

Received 19.01.2015

Accepted 14.03.2015

Acute toxicity of supramolecular anthelmintic complexes of Fenbendazole developed by chemical mechanical technology using the Drug Delivery System

Varlamova A.I.¹, Archhipov I.A.¹, Danilevskaya N.V.², Skira V.N.³

¹All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin

117218, Moscow, 28 B. Cheremushkinskaya St., e-mail: arkhipov@vniigis.ru

² Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin, 109472, Moscow, 23 Acad. Skryabin st., e-mail: rector@mgavm.ru

³ FASO Russia 119334, Moscow, 32a, Leninskiy pr-t, e-mail: akvet@mail.ru

Abstract

Objective of research: studying of acute toxicity of supramolecular complexes of Fenbendazole developed using chemical mechanical technology in comparison with the substance of preparation injected to the stomach of white mice and rats.

Materials and methods:

The research of parameters of acute toxicity of the supramolecular complexes of Fenbendazole was conducted according to «Guidelines for experimental (pre-clinical) studies of new pharmaceutical compounds», and other rules.

Preparations were injected to the stomach of white rats and mice of both gender with the body mass 160–180 and 18–20 g. at a single dose 7 000, 10 000, 15 000 and 20 000 mg/kg, respectively. Each dose was investigated on 6 white rats and 10 white mice. Within 14 days we observed the general health status and behavior of animals, symptoms of intoxication and eventual death. We also conducted postmortem examinations of the fallen animals. The parameters of acute toxicity were determined by the method of Litchfield J. and Wilcoxon F. (M.D. Belen'ky, 1963).

Results and discussion:

It was not possible to detect LD₅₀ in supramolecular complex of Fenbendazole and the base drug Fenbendazole due to the low toxicity. The maximum endurable dose of supramolecular complex no. 2 was 10 000 mg/kg, LD₅₀-value in supramolecular complex of Fenbendazole no. 2 at injection to the stomach of white mice and rats was 20 000 mg/kg.

Keywords: supramolecular complex, Fenbendazole, acute toxicity, white mice, white rats, LD₅₀.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)