

УДК 619:615.015.4

DOI: 10.31016/1998-8435-2019-13-4-72-76

Изучение кумулятивных свойств супрамолекулярного комплекса ивермектина

Виктория Владимировна Защепкина

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: zashchepkinavv@gmail.com

Поступила в редакцию: 28.05.2019; принята в печать: 14.10.2019

Аннотация

Цель исследований: изучить кумулятивные свойства супрамолекулярного комплекса ивермектина.

Материалы и методы. Исследования проводили в виварии ВНИИП им. К. И. Скрябина. Для опыта было отобрано 20 беспородных белых крыс массой 180 г, которых распределили на подопытную и контрольную группы по 10 животных в каждой. Для определения коэффициента кумуляции использовали метод, основанный на учете гибели животных при повторном введении препарата – тест субхронической токсичности в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ». Крысам подопытной группы препарат вводили в течение первых четырех суток перорально в дозе 35,5 мг/кг, равной 1/10 от ранее установленной однократной ЛД₅₀ (298,0 мг/кг). Затем каждые следующие четверо суток дозу увеличивали в 1,5 раза. Контрольной группе крыс вводили по 2 мл воды. Опыт проводили в течение 28 сут. На протяжении всего опыта вели наблюдение за животными, учитывая их состояние, степень активности.

Результаты и обсуждение. По принятой классификации супрамолекулярный комплекс ивермектина относится к группе веществ, обладающих слабовыраженными кумулятивными свойствами, так как коэффициент кумуляции равен 6,05 (IV группа токсичности).

Ключевые слова: супрамолекулярный комплекс, ивермектин, арабиногалактан, поливинилпирролидон, кумуляция, белые крысы.

Для цитирования: Защепкина В. В. Изучение кумулятивных свойств супрамолекулярного комплекса ивермектина // Российский паразитологический журнал. 2019. Т. 13. № 4. С. 72–76. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2019-13-4-72-76>

© Защепкина В. В.

The Study of the Cumulative Properties of the Supramolecular Complex of Ivermectin

Victoria V. Zashchepkina

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: zashchepkinavv@gmail.com

Received on: 28.05.2019; accepted for printing on: 14.10.2019

Abstract

The purpose of the research is to study the cumulative properties of the supramolecular complex of ivermectin.

Materials and methods. Studies were conducted in the vivarium of the VNIIGIS named after K. I. Skrzabin. For the purpose of the experiment, 20 outbred white rats weighing 180 g were selected, which were divided into experimental and control groups of 10 animals each. To determine the cumulation coefficient, we used a method taking into account the death of animals upon repeated administration of the drug — a test of subchronic toxicity in accordance with the "Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances". For the rats in the experimental group the drug was administered orally during the first four days at a dose of 35.5 mg/kg equal to 1/10 of the previously established single LD50 (298.0 mg/kg). Then, the dose was increased by 1.5 times every next four days. The rats in the control group were injected with 2 ml of water. The experiment was carried out for 28 days. Throughout the experiment, animals were monitored, considering their condition and degree of activity.

Results and discussion. According to the accepted classification, the supramolecular complex of ivermectin belongs to the group of substances with weakly expressed cumulative properties, since the cumulation coefficient is 6.05 (IV toxicity group).

Keywords: supramolecular complex, ivermectin, arabinogalactan, polyvinylpyrrolidone, cumulation, white rats.

For citation: Zashchepkina V. V. Study of the cumulative properties of the supramolecular complex of ivermectin. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2019; 13 (4): 72–76.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2019-13-4-72-76>

Введение

В связи с использованием химиотерапевтических противопаразитарных средств возникает проблема оценки их с точки зрения безопасности применения на практике с целью исключить возможное отдалённое действие на животных и человека. Решение данной проблемы возможно проведением токсикологической оценки с учётом кумулятивной активности новых фармакологических средств и особенно препаратов длительного применения. При многократном ежедневном применении препарат может накапливаться в организме (кумуляция вещества).

Кумулятивные свойства – накопление эффекта при повторном введении токсических веществ; определяется на основании количественного показателя – коэффициента кумуляции.

До проведения хронических токсикологических экспериментов необходимо определить индекс кумуляции фармакологического вещества – отношение LD_{50} при однократном введении к LD_{50} при кратном введении.

Препараты авермектинового ряда широко применяют для лечебно-профилактических мероприятий, особенно в летний период, ежемесячно, а так как ивермектин и его мета-

болиты долго не выводятся из организма, то возникла необходимость исследовать его на кумулятивную активность.

Цель исследования – оценка супрамолекулярного комплекса ивермектина на кумулятивную активность согласно Федеральному закону от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», что является неотъемлемой частью доклинических исследований, направленных на получение доказательства безопасности новых лекарственных средств.

Материалы и методы

Объект исследования – супрамолекулярный комплекс ивермектина.

Характеристика препарата. С применением механохимической нанотехнологии в измельчителях ударно-стирающего типа с регулируемой энергонапряжённостью, был наработан супрамолекулярный комплекс ивермектина для лечения животных вольным скармливанием при паразитозах. В его состав входит биологически активный водорастворимый полисахарид арабиногалактан (АГ), выделяемый из лиственницы сибирской *Larix sibirica*, который широко применяют в медицине и ветеринарии. Он обладает гепатопротекторной активностью, является имму-

номодулятором, обеспечивает адресную доставку лекарственных средств, используется для повышения всасываемости лекарственных средств [1, 2, 8, 12]. Поливинилпирролидон (ПВП) с молекулярной массой $M_w \sim 12$ кДа используют во многих фармацевтических препаратах для улучшения растворимости и биодоступности химиотерапевтических средств.

Супрамолекулярный комплекс ивермектина представляет собой 2%-ный гигроскопический порошок (соотношение мас., %: ПВП – 49, АГ – 49, ивермектин – 2) с размером частиц 1–10 миллимикрон бежевого цвета, со слабым хвойным запахом, хорошо растворяется и суспендируется в воде в отличие от субстанции [2].

Препарат наработан в Институте элементоорганических соединений им. Н. А. Несмеянова и передан нам доктором технических наук С. С. Халиковым для доклинических и клинических испытаний.

Исследуемое вещество – ивермектин в супрамолекулярном комплексе относится к авермектиновому ряду. Авермектиновый продукт получают путём ферментации гриба *Streptomyces avermityllis*. 16-членные макролиды являются вторичными метаболитами *S. avermityllis*; обладают широким спектром нематодоцидного и инсектоакарицидного действия и успешно применяются для профилактики паразитарных болезней человека и животных [1, 11]. Недостатками препаратов авермектинового ряда являются видовая чувствительность к некоторым животным; он не выводится из организма в течение 30 сут; влияет негативно на простейших и бактерий, участвующих в пищеварении, а также на копрофаговых насекомых.

Предварительные доклинические токсикологические исследования показали, что супрамолекулярный комплекс ивермектина при энтеральном пути введения белым мышам и нанесении на кожу согласно ГОСТ 12.1.007-76 относится к IV классу малотоксичных веществ. Не обладает иммунотоксической активностью, так как входящий в состав препарата арабиногалактан способствует нивелированию негативного влияния ивермектина в супрамолекулярном комплексном препарате на организм животных [4].

Для определения коэффициента кумуляции использовали метод, основанный на учете гибели животных при повторном введении препарата – тест субхронической токсичности [12] в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [10]. Преимуществом этого метода является несложность его проведения.

Коэффициент кумуляции ($K_{\text{кум}}$) определяли по формуле [5]:

$$K_{\text{кум}} = \text{ЛД}_{50}(n) : \text{ЛД}_{50},$$

где $\text{ЛД}_{50}(n)$ – средне летальная доза при n -кратном введении; ЛД_{50} – средне летальная доза при однократном введении [3, 5].

Исследования проводили в виварии ВНИИП им. К. И. Скрябина. Животных содержали в виварии согласно санитарным правилам и на стандартном рационе в соответствии с установленными нормами [7–11].

Для опыта было отобрано 20 беспородных белых крыс массой 180 г, которых распределили на подопытную и контрольную группы по 10 животных в каждой. Подопытной группе крыс препарат в первые четверо суток вводили перорально в дозе 35,5 мг/кг, равной 1/10 от ранее установленной однократной ЛД_{50} (298,0 мг/кг), затем каждые следующие четверо суток дозу увеличивали в 1,5 раза. Контрольной группе крыс вводили по 2 мл воды. Опыт проводили в течение 28 сут; на протяжении всего опыта вели наблюдение за животными, учитывая их состояние, степень активности. Также оценивали общее состояние (возбуждение, угнетение), характер и степень активности и координацию движений, реакцию животных на болевые раздражения, наличие тремора, судорог, парезов, параличей, выделение из глаз, носа, мочевыводящих путей, изменение цвета кожных покровов, изменение массы тела, аппетита.

Результаты и обсуждение

В результате изучения кумулятивных свойств комплекса ивермектина следует, что 50% животных пало на 22-е сутки опыта. Суммарная доза вводимого препарата за этот период составила 1802,3 мг/кг (табл. 1). Коэффициент кумуляции составил:

Таблица 1

Кумулятивные свойства супрамолекулярного комплекса ивермектина

Сутки опыта	Суточная доза, мг/кг	Суммарная доза, мг/кг	Пало/живые		Гибель животных, %	
			опыт	контроль	опыт	контроль
1-4	29,8	119,2	0/10	0/10	0	0
5-8	44,7	178,8	0/10	0/10	0	0
9-12	67,1	268,2	1/9	0/10	10	0
13-16	100,7	402,6	2/8	0/10	20	0
17-20	151,1	302,1	4/6	0/10	40	0
21-22	265,7	531,4	6/4	0/10	60	0
Итого за 22 суток	659,1	1802,3	$K_{\text{кум}} = 1802,3 : 298 = 6,05$			

$$K_{\text{кум}} = 1802,3 : 298,0 = 6,05.$$

В соответствии с принятой классификацией супрамолекулярный комплекс ивермектина относится к группе веществ, обладающих слабовыраженными кумулятивными свойствами, так как коэффициент кумуляции равен 6,05. Вещества с величиной $K_{\text{кум}} > 5,5$ относятся к IV группе токсичности, степень кумуляции слабовыраженная [6].

Заключение

В результате изучения кумулятивных свойств супрамолекулярного комплекса ивермектина установлен коэффициент кумуляции, равный 6,05.

По принятой классификации, супрамолекулярный комплекс ивермектина относится к группе веществ, обладающих слабовыраженными кумулятивными свойствами, так как коэффициент кумуляции равен 6,05. Вещества с величиной $K_{\text{кум}} > 5,5$ относятся к IV группе токсичности, степень кумуляции слабовыраженная.

Таким образом, супрамолекулярный комплекс ивермектина не обладает кумулятивным действием.

Литература

1. *Архипов И. А.* Антигельминтики: фармакология и применение. М., 2009. 406 с.
2. *Архипов И. А., Халиков С. С., Душкин А. В., Варламова А. И., Мусаев М. Б., Поляков Н. Э., Чистяченко Ю. С., Садов К. М., Халиков М. С.* Супрамолекулярные комплексы антигельминт-

ных бензимидазольных препаратов, получение и свойства. М.: Новые авторы, 2017. 90 с.

3. *Беленький М. Л.* Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Ленинград: изд-во Мед. лит., 1963. 150 с.
4. *Защепкина В. В., Мусаев М. Б., Халиков С. С.* Доклинические исследования твёрдой дисперсии ивермектина // Матер. докл. междунар. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». М., 2019. Вып. 20. С. 231–237.
5. *Каган Ю. С.* Кумуляция. Критерии и методы её оценки. Прогнозирование хронических интоксикаций / В кн.: Принципы и методы установления предельно допустимых концентрации вредных веществ в воздухе и в производственных помещений. М.: Медицина, 1970. С. 49–65.
6. *Медведь Л. И., Каган Ю. С., Спыну Е. И.* Пестициды и проблемы здравоохранения // Вестник Всес. хим. о-ва им. Менделеева. 1968. Т. 13, № 3. С. 263–271.
7. Приказ МЗ СССР № 1045-73 от 6.04.73 г. «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально биологических клиник (вивариев)».
8. Приказ МЗ РФ №708н от 23 августа 2010 г. «Правила лабораторной практики в Российской Федерации».
9. Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г. «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных».
10. *Хабриев Р. У.* Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005. С. 501–514.

11. Campbell W. C. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasitic agents. *Curr. Pharm. biotechnol.* 2012; 13 (6): 853–865.
12. Lim R. K., Rink K. G., Glass H. G., Soaje-Echague E. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1961; 130 (1): 336–353.

References

1. Arkhipov I. A. Anthelmintics: pharmacology and application. M., 2009; 406. (In Russ.)
2. Arkhipov I. A., Khalikov S. S., Dushkin A. V., Varlamova A. I., Musaev M. B., Polyakov N. E., Chistyachenko Yu. S., Sadov K. M., Halikov M. S. Supramolecular complexes of anthelmintic benzimidazole preparations, synthesis and properties. M.: New Authors, 2017; 90. (In Russ.)
3. Belenky M. L. Elements of a quantitative assessment of the pharmacological effect. Leningrad: Publishing house Med. Lit., 1963; 150. (In Russ.)
4. Zashchepkina V. V., Musaev M. B., Khalikov S. S. Preclinical studies of solid dispersion of ivermectin. *Mater. dokl. nauch. konf. Vseros. o-va gel'mintol. RAN "Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami"* = Materials of the research and practice conference of All-Russian Helminthologist Society of Russian Academy of Sciences "Theory and practice of protection from parasitic diseases". Moscow, 2019; 20: 231–237. (In Russ.)
5. Kagan Y. S. Cumulation. Criteria and methods for its assessment. Prediction of chronic intoxication. In Book: Principles and methods for establishing the maximum permissible concentration of harmful substances in the air and in industrial premises. M.: Medicine, 1970; 49–65. (In Russ.)
6. Medved' L. I., Kagan Y. S., Spin E. I. Pesticides and health problems. *Bulletin of the All-Russian Chemical Society named after Mendeleev.* 1968; 13 (3): 263–271. (In Russ.)
7. Order of the USSR Ministry of Health No. 1045-73 dated April 6, 1973, "Sanitary Rules for the Design, Equipment and Maintenance of Experimental Biological Clinics (Vivarium)".
8. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 708n dated August 23, 2010 "Rules of laboratory practice in the Russian Federation".
9. Order of the USSR Ministry of Health No. 755 of 08/12/07, "Rules for the work using experimental animals."
10. Habriev R. U. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. M., 2005; 501–514. (In Russ.)
11. Campbell W. C. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasitic agents. *Curr. Pharm. biotechnol.* 2012; 13 (6): 853–865.
12. Lim R. K., Rink K. G., Glass H. G., Soaje-Echague E. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1961; 130 (1): 336–353.