

УДК 619:616.995.1-085

DOI: 10.31016/1998-8435-2020-14-2-83-87

Сравнительная острая токсичность супрамолекулярных комплексов фенбендазола с использованием разных полимеров для адресной доставки

Анастасия Ивановна Варламова^{1,2}, Иван Алексеевич Архипов¹

¹Всероссийский 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: arsphoeb@mail.ru

²Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина, 109472, Москва, ул. акад. К. И. Скрябина

Поступила в редакцию: 24.04.2020; принята в печать: 11.05.2020

Аннотация

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

Материалы и методы. Изучение параметров острой токсичности супрамолекулярных комплексов фенбендазола (СМКФ) с разными полимерами проводили согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» и других правил. Препараты вводили белым мышам обоего пола массой тела 16–18 г однократно в желудок в дозах 7000, 10000, 15000 и 20000 мг/кг по препарату. Исследование каждой дозы проводили на 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 Уилкоксона (М. Д. Беленький, 1963).

Результаты и обсуждение. ЛД₅₀ СМКФ и базового препарата фенбендазола установить не удалось из-за низкой токсичности. ЛД₅₀ СМКФ при введении в желудок белым мышам – 20000 мг/кг.

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

Для цитирования: Варламова А. И., Архипов И. А. Сравнительная острая токсичность супрамолекулярных комплексов фенбендазола с использованием разных полимеров для адресной доставки // Российский паразитологический журнал. 2020. Т. 14. № 2. С. 83–87.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-2-83-87>

© Варламова А. И., Архипов И. А., 2020

Comparative Acute Toxicity of Supramolecular Complexes of Fenbendazole with Different Polymers used for Targeted Delivery

Anastasia I. Varlamova^{1,2}, Ivan A. Arkhipov¹

¹All-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 st., Moscow, Russia, 117218, e-mail: arsphoeb@mail.ru

²Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K. I. Skryabin, 23 Akademik Skryabin st., Moscow

Received on: 24.04.2020; accepted for printing on: 11.05.2020

Abstract

The purpose of the research is studying acute toxicity of supramolecular complexes of fenbendazole with different polymers obtained by mechanochemical technology as compared to the substance of the drug when administered to the stomach of white mice.

Materials and methods. The acute toxicity parameters of supramolecular complexes of fenbendazole (SMCF) with different polymers were studied under the "Guide to experimental (preclinical) study of new pharmacological substances" and other rules. The drugs were administered once to the stomach of white mice of both genders with a body weight of 16–18 g at doses of 7,000, 10,000, 15,000 and 20,000 mg/kg by the drug. Each dose was tested on 10 white mice. For 14 days, we observed the general condition and behavior of animals, symptoms of intoxication and possible death. Postmortem examination was performed for the dead animals. Acute toxicity was determined by Litchfield and Wilcoxon (M. D. Belenky, 1963).

Results and discussion. LD₅₀ of the SMCF and the major drug of fenbendazole could not be established due to low toxicity. LD₅₀ of the SMCF administered to the stomach of white mice was 20 000 mg/kg.

Keywords: fenbendazole, supramolecular complex, polymers, acute toxicity, white mice, LD₅₀.

For citation: Varlamova A. I., Arkhipov I. A. Comparative Acute Toxicity of Supramolecular Complexes of Fenbendazole with Different Polymers used for Targeted Delivery. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2020; 14 (2): 83–87.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-2-83-87>

Введение

Для лечения гельминтозов животных широко применяют фенбендазол и его лекарственные формы. Препарат, обладая широким спектром действия, в том числе против разных видов нематод, успешно используют в ветеринарии на разных видах животных [7–11].

Фенбендазол представляет собой [5-(фенилтио)-2-бензимидазол карбамат [7]. Механизм действия фенбендазола заключается в ингибировании активности фумарат редуктазы, снижении потребления гликогена в кишечнике гельминтов, нарушении митохондриальной функции и митохондриального

метаболизма. Организм животных в течение 2–3-х суток после назначения фенбендазола освобождается от паразитов [11].

Препарат высоко эффективен против нематод, в том числе и на преимагинальной стадии. Эффективность его против трихоцефал несколько ниже. Препарат в дозе 100 мг/кг снижает зараженность животных имагинальными фасциолами, но не активен против молодых *Fasciola hepatica* [1].

Токсикологические свойства фенбендазола подробно изучены и указывают на безопасность применения по общетоксическим свойствам. LD₅₀ препарата при введении в желудок белым

мышам и крысам установить не удалось, т. е. более 15 000 мг/кг [11]. Недостатком препарата является нерастворимость в воде, что снижает его антигельминтную эффективность.

Согласно системы биофармацевтической классификации FDA [9], фенбендазол относится к IV классу препаратов с низкой проницаемостью и плохой растворимостью, т. е. препарат имеет слабую биодоступность и плохо абсорбируется слизистой оболочкой кишечника.

Полагаем, что 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 в сравнительном аспекте токсические свойства СМКФ, полученных по механохимической технологии с использованием для адресной доставки разных полимеров.

СМКФ на основе фармакопейного арабиногалактана и на основе Краснообского арабиногалактана получены методом механохимической технологии Д. х. н. В. А. Душкиным, д. т. н. С. С. Халиковым и к. х. н. Ю. С. Чистяченко, за что им выражаем благодарность.

Кроме того, д. т. н. С. С. Халиковым разработаны СМКФ с поливинилпирролидоном (ПВП), натриевой солью глицирризиновой кислоты (NaГК), диоктилсульфосукцинатом натрия (ДССNa), экстрактом солодки (ЭС), гексилэтил крахмалом (ГЭК). Способ получения комплексов заключается в том, что смешивают фенбендазол с полимером, затем смесь подвергают механохимической обработке путем ударно-истирающих 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

Токсикологические исследования проводили в лаборатории экспериментальной терапии и виварии ВНИИП ФГБНУ «ФНЦ ВИЭВ» РАН. Лабораторных животных (белых мышей

и белых крыс) получали из питомника «Андреевка» Научного центра биомедицинских технологий РАН. Мышей содержали в виварии института в поликарбонатных клетках по 10 особей, а белых крыс по 6 голов в соответствии с правилами лабораторной практики и приказом МинЗдрава СССР № 1179 от 10.10.1983 г. [3, 4].

Исследования на животных проводили согласно приказа МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. и правил, принятых Европейской Конвекцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей [5].

Доклинические исследования осуществляли в соответствии с Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [6].

При исследовании острой токсичности на каждую дозу препарата брали по 10 белых мышей обоего пола массой по 18–20 г и белых крыс по 6 гол. массой 160–180 г.

Параметры острой токсичности СМКФ рассчитывали методом пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксоу [2], а оценку степени опасности препаратов проводили согласно ГОСТ 12.1.007-76.

Мышам и крысам препараты вводили в дозах 7000, 10000, 15000 и 20000 мг/кг по массе комплексов. В течение 14 сут наблюдали за общим состоянием и поведением животных, проявлением симптомов интоксикации и возможной гибелью. Во время опыта проводили патологоанатомическое вскрытие павших животных. Выживших животных по завершении времени наблюдения декапитировали и также подвергали вскрытию.

Результаты и обсуждение

Результаты сравнительного изучения параметров острой токсичности СМКФ при введении в желудок белым мышам приведены в табл. 1.

Наиболее токсичными оказались СМКФ с ДССNa и СМКФ с АГ Алтайского производства. После их введения в желудок в дозе 15000 мг/кг отмечали гибель трех из 10 мышей, а после дозы 20000 мг/кг пало по 5 из 10 мышей. Токсичным также оказался СМКФ с NaГК. От этого препарата в дозах 15000 и 20000 мг/кг пали соответственно одна и две мыши из 10. ЛД₅₀ этих комплексов следует считать дозу >

Таблица 1

Показатели острой токсичности СМКФ при введении
в желудок белым мышам

Препарат	Пало/выжило от дозы (мг/кг)			
	7000	10000	15000	20000
СМКФ с ПВП	0/10	0/10	0/10	0/10
СМКФ с АГ (фармакоп.)	0/10	0/10	0/10	0/10
СМКФ с АГ (Алтайский)	0/10	0/10	3/7	5/5
СМКФ с NaГК	0/10	0/10	1/9	2/8
СМКФ с ДССNa	0/10	0/10	3/7	5/5
СМКФ с ЭС	0/10	0/10	0/10	0/10
СМКФ с ГЭК	0/10	0/10	0/10	0/10
Фенбендазол базовый	0/10	0/10	0/10	0/10

20000 мг/кг. ЛД₅₀ СМКФ с ПВП, СМКФ с АГ (фармакопейным), СМКФ с ЭС и СМКФ с ГЭК рассчитать было невозможно в связи с тем, что от максимально вводимой дозы препаратов – 20000 мг/кг, не отмечали падежа животных. В связи с этим, максимально переносимой дозой СМКФ с ПВП, АГ (фармакопейным), ЭС и ГЭК можно считать дозу 20000 мг/кг, не вызывающую падежа и признаков интоксикации организма.

Не токсичным был также базовый препарат – фенбендазол, после введения которого в дозах 7000, 10000, 15000 и 20000 мг/кг не отмечали падежа мышей.

Результаты изучения параметров острой токсичности СМКФ с ПВП при введении в желудок белым крысам приведены в табл. 2.

Таблица 2

Показатели острой токсичности СМКФ с ПВП (1/10)
при введении в желудок белым крысам

Доза, мг/кг	Пало/выжило после дачи препарата	
	СМКФ с ПВП	Баз. фенбендазол
7000	0/6	0/6
10000	0/6	0/6
15000	0/6	0/6
20000	0/6	0/6

У крыс после введения базового препарата – фенбендазола не отмечали гибели животных после введения в желудок препарата в дозах 7000, 10000, 15000 и 20000 мг/кг. Большую дозу препарата животным ввести не удалось.

СМКФ с ПВП оказался также не токсичным. Дозы этого препарата 7000, 10000, 15000 и 20000 мг/кг не вызывали гибели животных.

При клиническом наблюдении за животными установлено, что при введении в желудок СМКФ с ДССNa, СМКФ с NaГК и СМКФ с АГ (Алтайского производства) в токсических дозах (15000-20000 мг/кг) у мышей в первые часы отмечали одышку, возбуждение, тремор, постепенно переходящие в судороги, которые заканчивались гибелью животных или постепенным восстановлением жизненных функций организма животных.

При патологоанатомическом вскрытии павших животных отмечали гиперемию стенок желудка, двенадцатиперстной кишки и тонкого кишечника; в предсердиях обнаружили темную несвернувшуюся кровь, на поверхности печени и почек точечные кровоизлияния; капсула с почек легко снимается.

Не установлено выраженной видовой чувствительности СМКФ с ПВП. ЛД₅₀ при введении в желудок белым крысам и мышам составила 20000 мг/кг.

С учетом установленных значений ЛД₅₀ согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76), СМКФ с ПВП, ЭС, ГЭК, АГ (фарм.) и базовый препарат – фенбендазол по степени воздействия на организм белых мышей относятся к 4 классу опасности – вещества малоопасные. Таким образом, СМКФ с ДССNa, NaГК и АГ (Алт.) оказались более токсичными для организма теплокровных по сравнению с субстанцией фенбендазола и другими супрамолекулярными комплексами.

Более высокая токсичность СМКФ с NaГК, ДССNa и АГ (Алт.) объясняется повышенной токсичностью перечисленных средств доставки по сравнению с базовым препаратом – фенбендазолом и комплексами с ПВП, ЭС и ГЭК.

Литература

1. Архипов И. А. Антигельминтики: Фармакология и применение. М., 2009. 409 с.
2. Бельский М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Ленинград: изд-во Мед. литературы, 1963. 151 с.
3. Правила лабораторной практики. Приказ МЗ РФ № 708 н от 23.08.2010.

4. Приказ МЗ СССР № 1179 от 10.10.1983 г. «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения».
5. Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных».
6. *Хабриев Р. У.* Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005. С. 501–514.
7. *Baeder C., Bahr H., Christ O., Duwel D. et al.* Fenbendazole: A new highly effective anthelmintics. *Experientia*. 1974; 30. 753–754.
8. *Benz G. W.* Action of fenbendazole against gastrointestinal nematodes of sheep. *Amer. J. Vet. Res.* 1978; 39 (9): 1107–1108.
9. The Biopharmaceutics classification system (BCS) guidance, available at: <http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/CDER/ucml 28219.htm>
10. *Duwel D.* Anthelmintic efficacy of fenbendazole in the control of trematodes and cestodes. *Vet. Rec.* 1976; 21: 375.
11. *Riviere J. E., Papich M. G.* *Vet. Pharmacology and Therapeutics*. Ninth Edition, Wiley-Blackwell, 2009; 1544.
2. *Belenky M. L.* Elements of quantitative assessment of pharmacological effect. Leningrad: Publishing House of Medical Literature, 1963; 151. (In Russ.)
3. Rules of laboratory practice. Order by the Ministry of Healthcare of the Russian Federation No. 708 н dated 23/08/2010.
4. Order by the Ministry of Healthcare of the USSR No. 1179 dated 10/10/1983 "On approval of basic standard costs of feed for laboratory animals in healthcare facilities".
5. Order by the Ministry of Healthcare of the USSR No. 755 dated 12/08/1977 "On measures to further improve organizational forms of work using experimental animals".
6. *Khabriev R. U.* Guide to experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. М., 2005; 501–514. (In Russ.)
7. *Baeder C., Bahr H., Christ O., Duwel D. et al.* Fenbendazole: A new highly effective anthelmintics. *Experientia*. 1974; 30. 753–754.
8. *Benz G. W.* Action of fenbendazole against gastrointestinal nematodes of sheep. *Amer. J. Vet. Res.* 1978; 39 (9): 1107–1108.
9. The Biopharmaceutics classification system (BCS) guidance, available at: <http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/CDER/ucml 28219.htm>
10. *Duwel D.* Anthelmintic efficacy of fenbendazole in the control of trematodes and cestodes. *Vet. Rec.* 1976; 21: 375.
11. *Riviere J. E., Papich M. G.* *Vet. Pharmacology and Therapeutics*. Ninth Edition, Wiley-Blackwell, 2009; 1544.

References

1. *Arkhipov I. A.* Anthelmintics: Pharmacology and application. М., 2009; 409. (In Russ.)
11. *Riviere J. E., Papich M. G.* *Vet. Pharmacology and Therapeutics*. Ninth Edition, Wiley-Blackwell, 2009; 1544.