ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ГИДРОХЛОРИДА β-ФЕНИЛГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИБРЮШИННОМ ВВЕДЕНИИ

Л. И. Бугаева, И. Н. Тюренков, В. В. Багметова, Ю. В. Чернышева, Е. А. Кузубова

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра фармакологии и биофармации ФУВ, кафедра фармакологии,
Научно-исследовательский институт фармакологии*

Установлено, что субстанция гидрохлорида β-фенилглутаминовой кислоты относится к классу малотоксичных соединений, LD₅₀ при внутрибрюшинном введении мышам самкам составляет 1139,17 (907,16—1430,52) мг/кг (суточная) и 746,09 (398,03—1398,51) мг/кг (2-недельная), мышам самцам — 798,29 (576,49—1105,43) мг/кг (суточная) и 684,13 (448,75—1042,98) мг/кг (2-недельная); крысам самкам — 950,22 (846,26—1066,95) мг/кг (суточная) и 724,13 (581,82—901,25) мг/кг (2-недельная), крысам самцам — 1029,04 (892,12—1186,98) мг/кг (суточная) и 747,10 (563,80—989,99) мг/кг (2-недельная). В картине интоксикации отмечены эффекты депривации центральной нервной системы: седация, мышечная гипотония, гипорефлексия без существенного влияния на частоту дыхания.

Ключевые слова: производные глутаминовой кислоты, гидрохлорид β-фенилглутаминовой кислоты, лекарственная безопасность, острая токсичность, LD₅₀.

STUDY OF ACUTE TOXICITY OF HYDRACHLORIDE OF β-PHENYLGLUTAMIC ACID IN SINGLE INJECTION

L. I. Bugaeva, I. N. Tyurenkov, V. V. Bagmetova, Yu. V. Chernysheva, E. A. Kuzubova

It was established that the substance of hydrachloride of β-phenylglutamic acid belongs to the class of low-toxic compounds. When introduced intraperitoneally to female mice, its LD₅₀ forms was 1139,17 (907,16—1430,52) mg/kg (daily) and 746,09 (398,03—1398,51) mg/kg (two-week); when introduced intraperitoneally to male mice — 798,29 (576,49—1105,43) mg/kg (daily) and 684,13 (448,75—1042,98) mg/kg (two-week); to female rats — 950,22 (846,26—1066,95) mg/kg (daily) and 724,13 (581,82—901,25) mg/kg (two-week), to male rats — 1029,04 (892,12—1186,98) mg/kg (daily) and 747,10 (563,80—989,99) mg/kg (two-week). In the intoxication pattern the following CNS deprivation effects were noted: sedation, muscular hypotonia, hyporeflexia without any essential effect on the respiratory rate.

Key words: glutamic acid derivatives, hydrachloride of β-phenylglutamic acid, medicamentous safety, acute toxicity, LD₅₀.

Глутаминовая кислота и некоторые ее структурные аналоги обладают фармакологической активностью и успешно применяются в медицинской практике. Собственно глутаминовая кислота проявляет противосудорожные, ноотропные, антиастенические, дезинтоксикационные свойства, ее аналог нооклерин (2-(диметиламино)этанол N-ацетил-L-глутамат) — ноотропные, нейропротекторные, антиастенические и активизирующие. Изучается новое отечественное средство нооглютил (N-(5-оксиникотиноил)-L-глутаминовая кислота), оказывающее ноотропное, нейропротекторное, антиишемическое, антигипоксическое действие [2]. Ряд производных глутаминовой кислоты рассматривается в качестве антидепрессивных и анксиолитических (соли N-(5-гидроксинокотиноил)-L-глутаминовой кислоты) [9], антибактериальных (N-замещенные производные D-глутаминовой кислоты) [10], противоопухолевых (диэтиловый эфир (4-[2-(2-амино-4-оксо-4,6,7,8-тетрагидро-3H-пиримидо[5,4-b][1,4]-тиазин-6-ил)-этил]-2,5-тиеноламино-L-глутаминовой кислоты; 4-[2-(2-амино-4-оксо-4,6,7,8-тетрагидро-3H-пиримидо[5,4-b][1,4]-тиазин-6-ил)-этил]-2,5-тиеноламино-L-глутаминовой кислоты) [1], антиаллергических (N-(5-оксиникотиноил)-L-глутаминовая кислота) [3] средств.

В исследованиях фармакологов ВолгГМУ показана перспективность поиска психотропных веществ в ряду производных глутаминовой кислоты [4, 5]. Так, совместно с химиками Российского государственного педагогического университета им. А. И. Герцена разработано новое производное глутаминовой кислоты — гидрохлорид β-фенилглутаминовой кислоты с лабораторным шифром РГПУ-135 (глутарон), у которого выявлены антидепрессивные, анксиолитические и нейропротекторные свойства [5, 6]. Поскольку в настоящее время повышенное внимание уделяется вопросам лекарственной безопасности разрабатываемых фармакологических средств, на этапе доклинического изучения субстанции гидрохлорида β-фенилглутаминовой кислоты представлялось важным изучение его острой токсичности.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Исследование острой токсичности гидрохлорида β-фенилглутаминовой кислоты при однократном внутрибрюшинном введении мышам и крысам.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на нелинейных половозрелых животных обоего пола: 60 белых мышам, мас-

сой 21—25 г, 3,5—4-месячного возраста и 60 белых лабораторных крысах, массой 180—220 г, 3—4-месячного возраста, полученных из питомника ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» РАМН. При проведении экспериментов учитывали «Принципы надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ Р-53434-2009) и правила, принятые Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986). До начала эксперимента животные в течение 2 недель находились на карантине. По окончании карантинного режима животных осматривали и распределяли по группам «опыт» и «контроль». Опытным группам субстанцию гидрохлорид β -фенилглутаминовой кислоты, растворенную в 2 мл / 100 г массы животного, вводили внутривентриально в возрастающих токсических дозах: мышам от 500 до 1750 мг/кг; крысам от 700 до 1200 мг/кг. Одновременно одной группе контрольных животных вводили дистиллированную воду в эквивалентном объеме, другая контрольная группа была интактной. После введения субстанции опытным и дистиллированной воды контрольным мышам и крысам их помещали по одной особи на 24 ч в изолированные плексигласовые домики для наблюдений (150 x 250 x 150 мм). В первые сутки — наблюдение за животными велось непрерывно, при этом они были лишены пищи и воды и изолированы от внешних раздражителей. В последующие сутки наблюдение проводилось 2 раза в день. На вторые сутки животных объединяли (по группам) и размещали по 5 особей в стандартные пластиковые клетки, предназначенные для мышей и крыс в условиях свободного доступа к воде и пище. Наблюдение за мышами и крысами, получившими токсические дозы субстанции, проводилось в течение 2 недель. Ежедневно у них измеряли массу тела (m). Расчет ЛД₅₀ субстанции гидрохлорид 3-фенилглутаминовой кислоты проводили по методу Литчфилда и Уилкоксона [7, 8]. Статистический анализ динамики массы тела у животных выполняли с использованием t -критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В клинике отравления мышей и крыс, получавших субстанцию гидрохлорида β -фенилглутаминовой кислоты, преобладали симптомы угнетения центральной нервной системы (ЦНС): седация, вялость и заторможенность, снижение локомоторной активности, диффузная мышечная гипотония, атаксия, гипорефлексия, угнетение болевой и тактильной чувствительности, дыхания, боковое положение. Указанные эффекты в нарастающей прогрессии начинали проследиваться через 4—10 мин и продолжались в последующие 3 ч эксперимента у мышей и 24 ч — у крыс. Гибель части животных фиксировалась как в первые, так и отдаленные сроки наблюдения (преимущественно на 7—14-е сут. у мышей, на 3—7-е сут.

у крыс). При этом, как следует из данных, приведенных в табл. 1 и 2, количество погибших особей самок и самцов на первые и последующие сутки эксперимента в опытных группах было неодинаковым, что, вероятно, может свидетельствовать о половой чувствительности к испытываемой субстанции.

Таблица 1

Динамика гибели мышей при внутривентриальном введении субстанции гидрохлорид 3-фенилглутаминовой кислоты

Доза, мг	Периоды наблюдений				
	3 часа	24 часа	72 часа	1 неделя	2 недели
Самцы					
500	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5
750	1/5	2/5	3/5	3/5	3/5
1000	2/5	3/5	4/5	4/5	4/5
1250	3/5	4/5	5/5	5/5	5/5
1500	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
Самки					
750	0/5	0/5	2/5	3/5	3/5
1000	1/5	2/5	3/5	3/5	3/5
1250	1/5	3/5	4/5	4/5	4/5
1500	3/5	4/5	5/5	5/5	5/5
1750	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

Таблица 2

Динамика гибели крыс при внутривентриальном введении субстанции гидрохлорид 3-фенилглутаминовой кислоты

Доза, мг	Периоды наблюдений				
	3 часа	24 часа	72 часа	1 неделя	2 недели
Самцы					
800	0/5	1/5	2/5	3/5	3/5
900	0/5	1/5	2/5	3/5	3/5
1000	0/5	2/5	2/5	5/5	5/5
1100	0/5	3/5	3/5	5/5	5/5
1200	2/5	4/5	5/5	5/5	5/5
Самки					
700	0/5	0/5	1/5	2/5	2/5
800	0/5	1/5	3/5	4/5	4/5
900	0/5	2/5	3/5	4/5	4/5
1000	1/5	3/5	4/5	5/5	5/5
1100	2/5	4/5	5/5	5/5	5/5

Можно предположить, что отсроченная гибель особей связана с особенностями фармакокинетики (всасывания, распределения и выведения) субстанции, а также и с токсическим воздействием на органы-мишени. Последнее, отчасти, согласуется и с результатами вскрытия павших животных, на вскрытии которых обнаружено наличие патологических изменений в сердце (выраженная гипертрофия органа и увеличение в размерах, преимущественно за счет правых отделов, повышенное кровенаполнение коронарных сосудов), печени (уплотнение органа и сглаженность краев, изменение окраски до желтовато-

бурой с яркими бордовыми вкраплениями), кишечника (наличие эрозий и гиперемий на слизистой).

По результатам последующих наблюдений за животными, оставшимися в живых, отмечено, что прирост массы тела как мышей, так и крыс в опытных группах отставал от аналогичного показателя контрольных животных, получавших дистиллированную воду (табл. 3, 4). При этом замедление динамики прироста массы тела было дозозависимым, усиливалось параллельно возрастанию дозы гидрохлорида β-фенилглутаминовой кислоты.

Признаки выравнивания прироста массы тела у опытных животных с контролем начинали просматриваться на 10—12-е дни наблюдений, что, вероят-

но, свидетельствует об обратимости отдаленных последствий.

Учитывая наличие срочной и отдаленной гибели у животных, сочли целесообразным провести расчеты суточной и 2-недельной ЛД₅₀ испытываемой субстанции.

В опытах на мышах показатель ЛД₅₀ суточной составил: для самцов — 798,29 мг/кг (576,49—1105,43), для самок — 1139,17 мг/кг (907,16—1430,52), ЛД₅₀ 2-недельная составила: для самцов — 684,13 мг/кг (448,75—1042,98), для самок — 746,09 мг/кг (398,03—1398,51).

В опытах на крысах данный показатель имел следующие значения: ЛД₅₀ суточная для самцов —

Таблица 3

Влияние субстанции гидрохлорид 3-фенилглутаминовой кислоты при внутрибрюшинном введении в токсических дозах на массу тела мышей, г ($M \pm m$)*

Группа животных, доза мг/кг	Исходные данные**	1 сутки	7 суток	14 суток
Опыты на мышах самцах				
Контроль	23,80 ± 0,33	23,50 ± 0,46	24,20 ± 0,42	25,00 ± 0,27
Субстанция, 500 мг/кг	22,60 ± 0,87	21,30 ± 0,67	22,00 ± 0,67	24,00 ± 0,67
Субстанция, 750 мг/кг	23,40 ± 0,98	22,0 ± 1,1	22,60 ± 0,78	23,40 ± 0,43
Субстанция, 1000 мг/кг	22,90 ± 0,66	21,00 ± 0,63 [#]	22,0	23,1
Субстанция, 1250 мг/кг	23,90 ± 0,78	21,4	гибель	гибель
Опыты на мышах самках				
Контроль	23,90 ± 0,65	23,70 ± 0,69	24,50 ± 0,58	24,90 ± 0,58
Субстанция, 750 мг/кг	22,50 ± 1,15	21,80 ± 1,71	22,30 ± 1,47	23,70 ± 1,39
Субстанция, 1000 мг/кг	23,30 ± 1,23	22,00 ± 1,56	22,70 ± 1,13	23,20 ± 1,13
Субстанция, 1250 мг/кг	23,50 ± 0,76	21,60 ± 1,47 [#]	22,5	23,0
Субстанция, 1500 мг/кг	23,90 ± 0,94	21,4	гибель	гибель

*Представлены данные по группам мышей, выживших в количестве, подлежащем статистической обработке;

**показатели «исходные данные» соответствуют массе тела животных перед началом введения вещества;

[#]результаты статистически значимы относительно исходных данных при $p < 0,05$ (t -критерий Стьюдента).

Таблица 4

Влияние субстанции гидрохлорид 3-фенилглутаминовой кислоты при внутрибрюшинном введении в токсических дозах на массу тела крыс, г ($M \pm m$)*

Группа животных, доза мг/кг	Исходные данные**	1 сутки	7 суток	14 суток
Опыты на крысах самцах				
Контроль	205,0 ± 5,4	204,80 ± 3,68	208,20 ± 2,43	213,00 ± 2,78
Субстанция, 800 мг/кг	202,50 ± 3,76	189,50 ± 2,21 [#]	200,50 ± 3,25	208,10 ± 2,14
Субстанция, 900 мг/кг	209,00 ± 2,06	187,5 ± 1,5 ^{##}	199,00 ± 1,94 [#]	201,80 ± 3,16
Субстанция, 1000 мг/кг	206,10 ± 2,56	181,20 ± 2,45 ^{###}	гибель	гибель
Субстанция, 1100 мг/кг	205,00 ± 3,32	179,0 ± 2,1 ^{###}	гибель	гибель
Опыты на крысах самках				
Контроль	205,00 ± 6,83	203,00 ± 2,28	207,40 ± 2,94	208,90 ± 3,14
Субстанция, 700 мг/кг	207,20 ± 3,18	195,40 ± 1,23	200,00 ± 2,14	205,30 ± 1,39
Субстанция, 800 мг/кг	208,50 ± 3,13	190,00 ± 3,25 [#]	199,5	202,0
Субстанция, 900 мг/кг	203,50 ± 4,16	181,00 ± 4,79 ^{###}	191,3	200,3
Субстанция, 1000 мг/кг	205,00 ± 3,66	178,50 ± 0,53 ^{###}	гибель	гибель

*Представлены данные по группам мышей, выживших в количестве, подлежащем статистической обработке;

**показатели «исходные данные» соответствуют массе тела животных перед началом введения вещества;

[#]результаты статистически значимы относительно исходных данных при $p < 0,05$ (t -критерий Стьюдента);

^{###}результаты статистически значимы относительно исходных данных при $p < 0,01$ (t -критерий Стьюдента).

1029,04 мг/кг (892,12—1186,98), для самок — 950,22 мг/кг (846,26—1066,95), ЛД₅₀ 2-недельная: для самцов — 747,10 мг/кг (563,80—989,99), для самок — 724,13 мг/кг (581,82—901,25).

Согласно классификации токсичности ксено-биотиков И. В. Саноцкого, И. П. Улановой (1975), субстанцию гидрохлорид β-фенилглутаминовой кислоты можно отнести к разряду малотоксичных веществ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что гидрохлорид β-фенилглутаминовой кислоты относится к классу малотоксичных соединений, ЛД₅₀ субстанции при внутрибрюшинном введении мышам самкам составляет 1139,17 (907,16—1430,52) мг/кг (суточная) и 746,09 (398,03—1398,51) мг/кг (2-недельная), мышам самцам — 798,29 (576,49—1105,43) мг/кг (суточная) и 684,13 (448,75—1042,98) мг/кг (2-недельная); крысам самкам — 950,22 (846,26—1066,95) мг/кг (суточная) и 724,13 (581,82—901,25) мг/кг (2-недельная), крысам самцам — 1029,04 (892,12—1186,98) мг/кг (суточная) и 747,10 (563,80—989,99) мг/кг (2-недельная). Отсроченная гибель особей, возможно, обусловлена особенностями всасывания, распределения и выведения субстанции, токсическим воздействием на органы-мишени (сердце, печень).

ЛИТЕРАТУРА

1. Варни Майкл Д., Ромайнз Уильям Х., Памер Синтия Л. Производные глутаминовой кислоты (варианты), фармацевтическая композиция, способ ингибирования роста и пролиферации клеток, производные тиофенкарбоновой кислоты (варианты) // Патент РФ № 2136686, заявл. 28.07.1994, опублик. 10.09.1999.

2. Воронина Т. А., Гарибова Т. Л., Григорьев В. В. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2007. — № 4. — С. 3—6.

3. Галимская Е. В. Влияние производных глутаминовой кислоты на течение экспериментальных аллерги-

ческих реакций: дис. ... к. м. н. — Старая Купавна, 2009. — 113 с.

4. Епишина В. В. Сравнительное изучение психотропной активности гетероциклических производных гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот: автореф. дис. канд. мед. наук. — Волгоград, 2006. — 24 с.

5. Меркушенкова О. В. Спектр психотропного действия новых производных гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот, имеющих сходные ароматические и гетероциклические заместители: автореф. дис. канд. мед. наук. — Волгоград, 2009. — 26 с.

6. Петров В. И., Тюренков И. Н., Багметова В. В., Самотруева М. А., Берестовицкая В. М., Васильева О. С., Остроглядов Е. С. Средство, обладающее антидепрессантным, анксиолитическим, нейропротекторным и иммуностимулирующим действием // Патент РФ № 2429834, заявл. 23.07.2010, опублик. 27.09.2011. — Бюл. 27. — 2011.

7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. — М.: Медицина, 2005. — 832 с.

8. Саноцкий И. В. Методы определения токсичности и опасности химических веществ. (Токсикометрия). — М.: Медицина, 1970. — 343 с.

9. Якимук П. В., Стовбун С. В., Литвин А. А. Одно- и двухвалентные соли N-(5-гидроксиникотиноил)-L-глутаминовой кислоты, обладающие психотропным (антидепрессивным и анксиолитическим), нейропротекторным, герпротекторным и противоинсультным действием // Евразийский патент № 014855, заявл. 06.06.2007, опублик. 28.02.2011. — Бюл. 1. — 2011.

10. Humljan A., M. Kotnik C. // J. Med. Chem. — 2008. — Vol. 51 (23). — P. 7486—7494.

Контактная информация

Багметова Виктория Владимировна — к. м. н., докторант кафедры фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: vvbagmetova@gmail.com