

УДК 615.326

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПЕРОРАЛЬНЫХ ФОРМ РАСТВОРА МИНЕРАЛА БИШОФИТ

Сысуев Б.Б., Иежица И.Н., Лебедева С.А.

Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, e-mail: bsb500@yandex.ru

Проведено изучение токсикологических свойств пероральных лекарственных форм на основе очищенного раствора минерала бишофит. Изучение проводилось на лабораторных животных – самках и самцах крыс. Изучение острой токсичности проводили по методу Литчфилда и Уилкоксона. Установлено, что по степени токсичности модельные смеси «Бишоф Плюс» и «Бишоф В₆» можно отнести к малотоксичным средствам, так как при внутрижелудочном введении крысам уровни летальных доз у модельных смесей составили: «Бишоф плюс» – 7,45 мл/кг, «Бишоф В₆» – 3,70 мл/кг. При этом для картины токсического отравления указанными препаратами было характерным наличие седации, прогрессирующей в первые сутки наблюдений и постепенно нивелирующейся на вторые, урежение дыхания, непосредственной гибели животных сопутствовали еще большее угнетение дыхания, боковое положение, клонико-тонические судороги, снижение болевой чувствительности. Данная картина отравления является характерной для препаратов, включающих магний, и в большей степени обусловлена угнетающим его влиянием на центральную нервную систему. При изучении хронической токсичности отмечено, что под действием изученных модельных смесей, вводимых крысам в течение 6 месяцев в терапевтической дозе, общее состояние животных не изменялось. Установлены отличительные свойства у испытуемых препаратов в токсической дозе в поведении крыс: введение препарат «Бишоф В₆» повышало общее состояние крыс в том числе активность и агрессию, в то время как препарат «Бишоф Плюс» таких эффектов не вызывал. Предположительно, этот эффект связан с совместным присутствием витамина В₆ и магния хлорида.

Ключевые слова: очищенный бишофит, пероральные формы «Бишоф В₆» и «Бишоф Плюс», острая токсичность, летальная доза

TOXICITY STUDY OF ORAL FORMS OF MINERAL BISCHOFITE SOLUTION

Sysuev B.B., Iezhitsa I.N., Lebedeva S.A.

The Volgograd state medical university, Volgograd, e-mail: bsb500@yandex.ru

The study of the toxicological properties of oral dosage forms based on refined mineral bischofite solution. The study was conducted on laboratory animals – female and male rats. The study of the acute toxicity carried out by the method of Litchfield J. and Wilcoxon F. It has been established that the degree of toxicity of the model of a solutions of «Bischoff Plus» and «Bischoff В₆» can be attributed to low toxic assets, as within the stomach the rats levels of lethal doses of the model mixtures were: «Bischoff plus» – 7,45 ml/kg, «Bischoff В₆» – 3,70 ml/kg. At the same time for the picture of toxic poisoning the drugs was characterised by the presence of sedation, progressing in the first day of observation and the gradual alignment on the second, sinzhenie breathing, the immediate death of animals accompanied by even more depress respiration, a side position, tonic spasms, reduction of pain sensitivity. This picture of poisoning is common for drugs, including magnesium, and in a greater degree is caused by depressing its influence on the central nervous system. In the study of chronic toxicity noted, that under the action of the studied model mix, input rats during 6 months in a therapeutic dose, the general condition of the animals have not been changed. Set the distinctive properties of the subjects of drugs in the toxic dose in the behavior of rats: the introduction of the drug «Bischoff В₆» increased the overall condition of rats including activity and aggression, while the «Bischoff Plus» such effects did not cause. Presumably this effect associated with the presence of vitamin В₆ and magnesium chloride.

Keywords: purified bishofit, oral forms «Bischoff В₆» and «Bischoff Plus», acute toxicity, lethal dose

В настоящее время в отечественной медицинской практике для компенсации недостатка ионов магния в организме используют различные магнийсодержащие растворы для приёма внутрь, например, такие как «Капли Береш Плюс» фирмы «Beres» (Венгрия), в состав которых входят различные макро- и микроэлементы. В том числе в состав данного препарата входят соединения железа, однако по данным зарубежных исследователей было установлено, что существует связь между обменом железа и сахарным диабетом II типа и диабетом беременных. В частности, доказано, что железо нарушает обмен глюкозы, что, в свою очередь, приводит к периферической гиперинсулинемии [8]. Избыток железа в тканях способствует выработке свободных ради-

калов и усиливает их повреждающее действие, а также влияет на различные этапы развития воспалительного поражения.

Исследованиями, проводимыми в Волгоградском государственном медицинском университете было установлено, что используя в качестве источника ионов магния раствор бишофита, можно добиться значительных результатов. Разработанная методика очистки бишофита [2] позволила уменьшить содержание ионов железа, что позволило предложить его в качестве препаратов источников магния для компенсации дефицита в организме [3, 5, 6].

Но так как раствор минерала бишофит содержит большое количество солей, а также макро- и микроэлементы, он обладает отрицательными органолептическими

свойствами. Следовательно, данные лекарственные формы должны содержать в своем составе дополнительные компоненты – корригенты вкуса.

Поэтому основной целью корригирования стало обеспечение комфортности приёма посредством оптимизации вкуса и запаха. При выборе были учтены принципы отечественного и международного клинического опыта, который рекомендует использовать корригенты, близкие к нейтральным, то есть не привлекающие внимание [5].

В то же время в литературе обсуждается возможность применения магниевых солей и витамина B_6 в неврологической и психиатрической практике. Указанная комбинация более эффективна в восполнении дефицита магния и витамина B_6 в организме, что связано с потенцированием абсорбционных параметров магния в кишечнике витамином B_6 . Магниево-витаминные комбинации с витамином B_6 уменьшают возбудимость нейронов и замедляют нейромышечную передачу, нормализуются многие ферментативные реакции. Также широко обсуждается возможность применения комбинации магниевых солей и витамина B_6 в комплексной терапии таких неврологических состояний, как обратимые неврологические осложнения при гипомagnesемии, синдром хронической усталости, диабетическая нейропатия [7].

Цель работы – изучение острой и хронической токсичности (поведенческая активность) пероральных лекарственных форм на основе очищенного раствора минерала бишофит – «Бишоф B_6 » и «Бишоф Плюс».

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводились на половозрелых крысах обоего пола массой 190–220 г, доставленных из питомника института НИИГТП (г. Волгоград) и прошедших двухнедельный карантин. Испытуемые животные содержались в стандартных пластмассовых клетках по 5 особей, обеспечивались полноценными кормами. Температура воздуха вивария составляла 20...24 °С, освещение было совмещенным (естественное с люминесцентным).

Исследуемые препараты «Бишоф-плюс» и «Бишоф B_6 » вводили подопытным животным металлическим зондом внутрижелудочно, однократно, в токсических концентрациях (4–9 мл/кг). Контрольным крысам вводили физиологический раствор. Наблюдения за животными проводили в течение 14 последующих дней, при этом в первые сутки наблюдения велись непрерывно в течение 8 ч. В период эксперимента у животных измеряли массу тела, отмечали клинику отравления тестируемыми веществами и ее реабилитацию, фиксировали гибель. Расчет LD_{50} проводили по методу Литчфилда и Вилкоксона [1, 4].

При выборе тестируемых доз для изучения хронической токсичности руководствовались данными LD_{50} , кумуляции а также максимальными суточными дозами, в которых раствор минерала бишофит рекомендован для клинического изучения. Введение

высшей дозы предполагало выявление возможных токсических эффектов. Минимальная исследуемая доза соответствовала терапевтической дозе, рекомендуемой в клинической практике. Третья доза являлась промежуточной.

В период проведения исследований у крыс ежедневно отмечали общее состояние. Каждые десять дней проводили взвешивание животных, массу тела фиксировали в граммах, а изменения прироста относительно исходных значений выражали в процентах. В течение всего срока эксперимента после введения раствора минерала бишофит проводили специфические тесты, определенные рекомендациями «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ» [4].

Результаты исследования и их обсуждение

При изучении острой токсичности препарата «Бишоф Плюс» при внутрижелудочном введении крысам в дозах от 4 до 5 мл/кг наблюдали признаки отравления, которые начинали проявляться через 10–15 мин. Отмечалось снижение подвижности, угнетение реакций на внешние раздражители, седация, урежение дыхания.

Обозначенная клиника без признаков ее усугубления наблюдалась в течение первых суток. Погибших животных не зафиксировано. После введения крысам препарата «Бишоф Плюс» в дозах от 6 до 9 мл/кг признаки отравления прослеживались у крыс на 5-й минуте эксперимента. В этот период наблюдалось резкое угнетение подвижности, снижение болевой и тактильной чувствительности, а также реакций на стук и хлопки. Частота дыхания у животных урежалась в среднем на 20–30%, повышались акты уриаций и дефекаций, ректальная температура снижалась на 1,0–1,5 °С. Впоследствии (на 7–10 мин) у крыс начинали фиксироваться редкие тонико-клонические судороги, мышечная атония, резко снижалось дыхание, оно становилось поверхностным, не ритмичным. Гибель отдельных животных отмечалась на 15 мин, а также и в другие периоды времени первых суток наблюдений. У оставшихся в живых особей реабилитация состояния физической активности завершалась лишь на 2–3 сутки.

По результатам расчета у препарата «Бишоф Плюс» установлен уровень летальной дозы $LD_{50} = 7,45$ мл/кг. С учетом данного значения и классификации токсичности веществ по Березовской И.В. препарат «Бишоф плюс» можно отнести к классу малотоксичных веществ.

После перорального введения крысам высоких доз препарата «Бишоф B_6 » наблюдалась картина острой интоксикации, характерной для отравления солями магния. В частности, у животных нарушалась

координация движений, переходящая в адинамию, уменьшалась частота и глубина дыхательных движений, снижалась реакция на внешние раздражители. Гибель животных отмечалась в первые 3 часа. Летальному исходу предшествовали глубокая седация, угнетение сознания, боковое положение, тонические и клонические судороги.

В последующее время наблюдения (с третьего часа и до семи суток) у выживших животных отмечалась постепенная нормализация поведенческой, пищевой и двигательной активности, отсроченной гибели не наблюдалось.

Значение параметра острой токсичности препарата «Бишоф V_6 » при внутрижелудочном введении крысам при LD_{50} составило 3,70 мл/кг.

На основании проведенных исследований и сделанных расчетов LD_{50} препарат «Бишоф V_6 » можно отнести к малотоксичным соединениям.

По результатам наблюдений за подопытными крысами, которым в течение шести месяцев вводили препарат «Бишоф Плюс», не установлено существенных различий с контролем по поведению и общему состоянию в дозе 0,007 мл/кг (1 группа), тогда как при дозах 0,07 и 0,7 мл/кг (2 и 3 группы) отмечены постепенные изменения в поведении (снижение подвижности, седация, а затем к окончанию 5- и 6-месячного хронического эксперимента, наоборот, активация подвижности, наличие агрессий, драк и атак в группах самцов), ухудшение общего состояния (с 3 мес. эксперимента шерстный покров урежался, становился тусклым, неряшливым). При этом тенденция снижения подвижности прослеживалась и у крыс в 1-й группе, однако данные изменения фиксировались в течение первых трех месяцев и практически полностью нивелировались до уровня контроля к окончанию 5- и 6-месячного курса. Пищевая и питьевая активности у крыс в 1 группе была идентична контролю и несколько повышалась у крыс во 2 и 3 группах. При изучении динамики массы тела животных, получавших препарат «Бишоф Плюс» обнаружен относительно ровный прирост во все периоды измерений. Вместе с тем по сравнению с контрольной группой у подопытных крыс в 1 и 2 группах прирост массы тела был выше вплоть до окончания 6-месячного курса введения модельной смеси. При этом первоначально незначимое опережение прироста массы тела у подопытных животных к окончанию курса введения (5–6 месяцы) препарата «Бишоф плюс» становилось статистически значимым. В этот период времени масса тела подопытных крыс была

в среднем на 18% (что составляет приблизительно 50,0 г) больше, чем у контрольных. Такой же положительный прирост массы тела был отмечен и у 2-й группы крыс. Тогда как у крыс, получавших препарат «Бишоф Плюс» в дозе 0,7 мл/кг прирост массы тела в сравнении с контролем был ниже. Через один месяц после отмены введения препарата «Бишоф Плюс» темпы прироста массы тела у подопытных крыс были практически нивелированы до уровня контрольных значений.

При изучении хронической токсичности препарата «Бишоф V_6 » на крысах не зафиксировано повреждающих эффектов его влияния на поведение животных. По результатам измерений массы тела крыс, получавших препарат «Бишоф V_6 », выявлена положительная динамика её прироста. Отмечено, что прирост массы тела опытных животных, получавших «Бишоф V_6 » в терапевтической дозе (дозы аналогичны препарату «Бишоф Плюс»), был более интенсивным, нежели в группе контроля, тогда как у животных в группах с промежуточной и токсической дозой «Бишоф V_6 » соответствовал контролю. В сравнении с контролем в последующие периоды измерений наблюдалось:

– опережение прироста массы тела у животных с терапевтической дозой «Бишоф V_6 » (в среднем на 35–40 г);

– идентичность прироста у животных с промежуточной дозой «Бишоф V_6 »;

– незначительное (на 10–15 г) снижение прироста у животных с токсической дозой «Бишоф V_6 ».

После отмены введения препарата «Бишоф V_6 » динамика прироста массы тела подопытных животных выравнивалась с контрольными значениями. Изменения в приросте, зафиксированные у подопытных животных, вероятно, связаны с включением пиридоксина гидрохлорида в модельную смесь.

Выводы

Из проведенных токсикологических исследований было установлено, что по степени токсичности модельные смеси «Бишоф Плюс» и «Бишоф V_6 » можно отнести к малотоксичным средствам, так как при внутрижелудочном введении крысам уровни летальных доз у модельных смесей составили: «Бишоф Плюс» – 7,45 мл/кг, «Бишоф V_6 » – 3,70 мл/кг. При этом для картины токсического отравления указанными препаратами было характерным наличие седации, прогрессирующей в первые сутки наблюдений и постепенно нивелирующейся на вторые, урежение дыхания, непосред-

ственной гибели животных сопутствовали еще большее угнетение дыхания, боковое положение, клонико-тонические судороги, снижение болевой чувствительности. Данная картина отравления является характерной для препаратов, включающих магний, и в большей степени обусловлена угнетающим его влиянием на центральную нервную систему.

При изучении хронической токсичности отмечено, что под действием изученных препаратов, вводимых крысам в течение 6 месяцев в терапевтической дозе, общее состояние животных не изменялось. Шерстный покров и слизистые оболочки были блестящими, опрятными. Поведение ровное, с незначительными элементами седации в первые 3 месяца эксперимента. Прирост массы тела у всех испытуемых животных был положительным. Отличительными свойствами у испытуемых препаратов в токсической дозе было влияние на поведение крыс. Так, если у крыс, получавших препарат «Бишоф Плюс», было характерным отчетливое угнетение подвижности, снижение эмоциональности, то у крыс, получавших препарат «Бишоф В₆», отмечалось наличие агрессии, повышенной эмоциональности при введении в токсической и промежуточной дозах. Данные эффекты особенно проявлялись на самцах к окончанию 5- и 6-месячного курса, но впоследствии, после отмены введения модельной смеси, нивелировались до значений контроля. Обозначенные особенности в хроническом действии препаратов «Бишоф-плюс» и «Бишоф В₆» на поведение, вероятно, обусловлены сопутствующими компонентами в указанных композициях. Возможно, наличие витамина В₆ в препарате «Бишоф В₆» и предопределило наличие у него психоэнергизирующих свойств, которые не зафиксированы были у препарата «Бишоф Плюс».

Список литературы

1. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Рига: Изд-во АН ЛатвССР, 1959. – 115 с.
2. Патент РФ № 2442593, 29.10.2007 г.
3. Перспективы и проблемы создания на основе минерала бишофит эффективных лекарственных форм /

Б.Б. Сысуйев [и др.] // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – № 6. – С. 218–221.

4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. – М.: Медицина, 2005. – С. 832.

5. Сысуйев Б.Б. Технологические и фармакологические исследования минерала бишофит как источника магнийсодержащих лекарственных средств: дис. ... д-ра фарм. наук. – Волгоград, 2012. – 333 с.

6. Сысуйев Б.Б. Технология изготовления пероральной жидкой лекарственной формы с бишофитом и методы ее анализа // *Вестн. Волгоград. гос. мед. ун-та*. – 2006. – № 4(20). – С. 46–48.

7. Durlach J. Primary mitral valve prolapse: a clinical form of primary magnesium deficit / J. Durlach // *Magnes. Res.* – 1994. – Vol. 7. – P. 339–340.

8. Freeman D.J. C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study / Freeman D.J. [et al.] // *Diabetes*. – 2002. – Vol. 51. – P. 1596–1600.

References

1. Belen'kij M.L. *Jelementy kolichestvennoj ocenki farmakologicheskogo jeffekta*. Riga: Izd-vo ANLatvSSR, 1959. 115 p.

2. Patent RF № 2442593, 29.10.2007.

3. *Perspektivy i problemy sozdaniya na osnove minerala bishofit jeffektivnyh lekarstvennyh form* / B.B. Sysuev [i dr.] // *Fundamental'nye issledovaniya*. 2011. no. 6. pp. 218–221.

4. *Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv* / pod red.R.U. Habrieva. M.: Medicina, 2005. pp. 832.

5. Sysuev B.B. *Tehnologicheskie i farmakologicheskie issledovaniya minerala bishofit kak istochnika magnijsoderzhashhih lekarstvennyh sredstv*: dis. ... d-ra farm. nauk. Volgograd, 2012. 333 p.

6. Sysuev B.B. *Tehnologija izgotovleniya peroral'noj zhidkoj lekarstvennoj formy s bishofitom i metody ee analiza* // *Vestn. Volgograd. gos. med. un-ta*. 2006. no. 4(20). pp. 46–48.

7. Durlach J. Primary mitral valve prolapse: a clinical form of primary magnesium deficit / J. Durlach // *Magnes. Res.* 1994. Vol. 7. pp. 339–340.

8. Freeman D.J. C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study / Freeman, D.J. [et al.] // *Diabetes*. 2002. Vol. 51. pp. 1596–1600.

Рецензенты:

Бугаева Л.С., д.б.н., зам. директора НИР НИИ фармакологии, ВолгГМУ, г. Волгоград;

Озеров А.А., д.х.н., профессор, заведующий лабораторией медицинской химии Волгоградского медицинского научного центра, г. Волгоград.

Работа поступила в редакцию 14.02.2013.