

РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ПРЕПАРАТОВ РЕАМБЕРИН И РЕМАКСОЛ

Т. Н. Саватеева-Любимова¹, Е. Е. Лесиовская¹, К. В. Сивак¹, К. И. Стосман¹, М. К. Шевчук¹, С. Г. Дагаев¹, А. В. Саватеев¹, А. Л. Коваленко², А. Ю. Петров², Д. С. Суханов²

Проведено доклиническое изучение безопасности препаратов янтарной кислоты реамберина, используемого для лечения шоковых состояний различного генеза, и ремаксоло, применяемого для терапии нарушений функции печени при острых отравлениях. Препараты отнесены к 5 классу практически нетоксичных лекарственных средств. Их введение экспериментальным животным в течение 30 дней не оказывает токсического воздействия на функциональное и морфологическое состояние основных органов и систем. Препараты не влияют на специфический (гуморальный и клеточный) и неспецифический иммунный ответ и не обладают сенсibiliзирующими и мутагенными свойствами, не вызывают эмбриотоксического и тератогенного действия, не приводят к изменениям показателей репродуктивной способности крыс.

Ключевые слова: реамберин, ремаксол, острая токсичность, хроническая токсичность, аллергия, иммунотоксичность, эмбриотоксичность, репродуктивная функция, мутагенность

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные препараты реамберин и ремаксол созданы в ООО “НТФФ “ПОЛИСАН”. Реамберин обладает антигипоксическим и антиоксидантным действием, оказывая положительный эффект на аэробные процессы в клетке, уменьшая продукцию свободных радикалов и восстанавливая энергетический потенциал клеток. Используется в качестве антигипоксического и дезинтоксикационного средства при интоксикациях различной этиологии, в том числе в практике медицины критических состояний. Ремаксол обладает гепатопротекторным действием, улучшает энергетическое обеспечение гепатоцитов, повышает устойчивость мембран гепатоцитов к перекисному окислению липидов, восстанавливает активность ферментов антиоксидантной защиты. Используется при нарушении функции печени вследствие острого или хронического ее повреждения, в комплексном лечении вирусных гепатитов.

Целью настоящей работы явилось доклиническое изучение безопасности препаратов янтарной кислоты — реамберина и ремаксоло.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Раствор для инфузий “реамберин” имеет в составе следующие активные компоненты: N-(1-дезок-

си-D-глюцитол-1-ил)-N-метиламмония натрия сукцината — 15 г; вспомогательные вещества: натрия хлорида — 6 г, калия хлорида — 0,3 г, магния хлорида — 0,12 г, воды для инъекций до 1 л. Активные компоненты препарата ремаксоло: янтарная кислота — 5,28 г, N-метилглюкамин (меглумин) — 8,725 г, рибоксин (инозин) — 2 г, метионин — 0,75 г, никотинамид — 0,25 г. Вспомогательные вещества: натрия хлорид — 6 г, калия хлорид — 0,3 г, магния хлорид (в пересчете на безводный) — 0,12 г, натрия гидроксид — 1,788 г, воды для инъекций до 1 л.

Общетоксическое действие препаратов изучено в остром и хроническом экспериментах на беспородных животных обоего пола: крысах и собаках. Для определения показателей острой токсичности препараты вводили беспородным крысам внутривенно медленно в возрастающих дозах по Литчфилду-Уилкоксона. Реамберин вводили в объемах от 0,5 до 2,5 мл/100 г массы тела, что соответствует 75 мг/кг — 375 мг/кг по содержанию активного начала. Большие дозы (объемы) инъекцировали в несколько приемов с интервалом 60 мин. Для определения показателей острой токсичности ремаксоло использовали 20- и 50-кратно концентрированный стерильный раствор. Введение осуществляли дважды в течение 8 часов. Контрольным животным вводили воду для инъекций в тех же объемах.

Хроническую токсичность исследовали на 180 крысах (90 самцов и 90 самок) и 36 собаках (18 самцов и 18 самок). Изучаемые препараты вводили внутривенно в течение 30 дней. Реамберин — в дозах 85,5 и 343 мг/кг — крысам, 171.4 и 1714 мг/кг — собакам;

¹ Лаборатория лекарственной токсикологии (зав. — Т. Н. Саватеева-Любимова) Федеральное государственное учреждение науки “Институт токсикологии” федерального медико-биологического агентства, 192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1.

² ООО “Научно-технологическая фармацевтическая фирма “ПОЛИСАН”, 191119, Санкт-Петербург, Лиговский пр. 112.

ремаксол — в дозах 5044 и 12610 мг/кг — крысам, 576,5 и 5765 мг/кг — собакам. Животным контрольных групп инъектировали физиологический раствор. По окончании введения препаратов была проведена оценка функционального состояния сердечно-сосудистой системы, показателей, характеризующих основной обмен, морфологического состава периферической крови и костного мозга, патоморфологических и гистологических показателей [2, 5, 7, 9]. Биохимические исследования были проведены с использованием наборов фирмы “Ольвекс Диагностикум” (Россия). Кровь для исследований брали у животных после мгновенной декапитации.

Изучение иммунотоксических и аллергенных свойств было проведено на 72 морских свинок (36 самцов и 36 самок) и 180 мышах линии СВА (90 самцов и 90 самок). Препараты вводили в течение 30 дней: реамберин — внутривенно (морским свинкам) и внутривенно (мышам) в дозах 857 и 171,4 мг/кг. Введение ремаксоло осуществлялось с использованием стандартного и 10-кратно концентрированного раствора в объемах 0,23 мл/10 г мышам (внутривенно) и 2,3 мл/100 г морским свинкам (внутрибрюшинно) или 576,5 и 5765 мг/кг, соответственно. Для оценки иммунотоксических свойств исследовали показатели неспецифического и специфического иммунитета мышей [9]. При изучении аллергенных свойств препаратов применяли регистрацию реакции анафилактического шока и непрямо реакции дегрануляции тучных клеток [9].

Эмбриотоксическое и тератогенное действие изучено на 240 крысах самках [9]. Реамберин вводили внутривенно с 1-ого по 6-й, с 6-ого по 16-й и с 16-ого по 19-й день беременности в дозе 343 мг/кг. Ремаксол в первые 10 дней беременности вводили внутривенно в дозе 5765 мг/кг. В дальнейшем с целью уменьшения стресс-травматизации беременных животных препарат вводили внутрь в дозе, равной 28825 мг/кг (четыре раза в течение дня по 5 мл раствора/100 г). Для исследования влияния препаратов на репродуктивную функцию нелинейных белых крыс реамберин вводили

внутривенно в дозе 343 мг/кг самцам в течение 60 дней и самкам — в течение 15 дней до спаривания, ремаксол — в дозе 5765 мг/кг. Эксперименты были выполнены на 160 самцах и 240 самках крыс [9].

Мутагенные свойства препаратов были оценены при анализе хромосомных aberrаций клеток костного мозга и учете доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей [9]. Данное исследование было проведено на 100 мышах самцах линии СВА.

Полученные результаты обработаны с помощью пакетов программ BIOSTAT 4.03 для биомедицинских исследований с использованием критерия *t*-Стьюдента, критерия U Уилкоксона-Манна-Уитни, критерия χ^2 , модифицированного для относительных частот, критерия ϕ -Фишера [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При определении острой токсичности препаратов реамберина и ремаксоло в максимально возможных дозах (объемах) крысам обоего пола летальных эффектов достичь не удалось. Таким образом, полученные результаты позволяют отнести изучаемые препараты к 5 классу практически нетоксичных лекарственных веществ [10].

В хроническом эксперименте введение препаратов не вызвало видимых патологических изменений поведения и общего состояния животных, массовых коэффициентов органов, макроскопических изменений головного мозга, внутренних и эндокринных органов. Введение препаратов не оказало токсического воздействия на сердечно-сосудистую деятельность: не влияло на ЭКГ животных, на сократительную способность сердца и уровень артериального давления, не изменяло автоматизма, возбудимости и проводимости сердца.

Исследование биохимических показателей, морфологического состава периферической крови и костного мозга, функционального состояния печени и почек, белкового, углеводного и жирового видов обмена веществ не выявило никаких изменений. Изучаемые параметры соответствовали по количественному и качественному составу видовой физиологической норме [4].

Изучение аллергенного действия препаратов показало, что реамберин и ремаксол не обладают аллергенными свойствами, выявляемыми в реакциях общей анафилаксии и дегрануляции тучных клеток. Введение реамберина в течение 30 дней не оказало влияния на основные показатели иммунной системы экспериментальных животных: не привело к изменению фагоцитарной активности макрофагов, не повлияло на антителообразование и выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа у мышей обоего пола. Применение ремаксоло у самок в терапевтической дозе снижало фагоцитарную активность (на 6,4 %) и повышало этот показатель на 17 % при введении максимальной дозы препарата по сравнению с контролем.

Показатели фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов мышей СВА после применения ремаксоло

Экспериментальные группы, $n = 10$	Пол животных	Доза, мг/кг	Оптическая плотность, ед. изм., ($M \pm m$)
Контроль (физиологический раствор)	самцы	0	0,302 \pm 0,01
	самки	0	0,316 \pm 0,007
Ремаксол	самцы	576,5	0,394 \pm 0,07*
	самки	576,5	0,296 \pm 0,004*
	самцы	5765	0,352 \pm 0,009
	самки	5765	0,372 \pm 0,01 *

Примечание. Различия значимы по сравнению с контрольной группой животных: * — $p < 0,05$.

У самцов имело место недостоверное увеличение фагоцитарной активности макрофагов при применении терапевтической дозы препарата и статистически значимое повышение показателя этой активности при применении максимальной дозы препарата (таблица). Изучение иммуотоксических эффектов раствора для инфузий “ремаксол” показало, что препарат оказывает модулирующее действие на активность неспецифического клеточного иммунитета. В то же время введение ремаксола не приводило к изменениям в выраженности реакции гиперчувствительности замедленного типа у особей обоего пола. Не было выявлено значимых изменений гуморального иммунного ответа на эритроциты барана при введении ремаксола.

Полученные результаты позволили заключить, что ремаксол не обладает иммуотоксическими свойствами, а выявленные изменения обусловлены иммуномодулирующим действием препарата.

Введение растворов для инфузий “реамберин” и “ремаксол” в доимплантационный период, а также периоды плацентации и органогенеза не вызывало эмбриотоксического и тератогенного действия. Изучение влияния препаратов на репродуктивную функцию показало, что в период их введения не отмечалось снижения темпов прироста массы тела, изменений в поведении, гибели животных ни в одной из изучаемых групп самцов или самок. Индекс беременности значимо не различался во всех экспериментальных группах.

Изучение мутагенных свойств показало, что однократное внутривенное введение в дозах, равных максимальной разовой и превышающей максимальную суточную в 2 раза, и при пятидневном введении в дозе, равной максимальной разовой, не увеличивало числа хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей линии СВА. Введение препаратов в дозе, превышающей максимальную суточную в 2 раза, не индуцировало доминантные летальные мутации в зрелых спермиях, поздних и ранних сперматидеях мышей. По результатам проведенных исследований реамберин и ремаксол не обладают мутагенным действием.

ВЫВОДЫ

1. Реамберин и ремаксол относятся к 5 классу практически нетоксичных лекарственных веществ.
2. Ведение препаратов в течение 30 дней не вызывает патологических изменений со стороны основных органов и систем организма.
3. Препараты не обладают аллергенными и иммуотоксическими свойствами.
4. Препараты не оказывают эмбриотоксического и тератогенного действия, не приводят к нарушению репродуктивной функции самцов и самок крыс.
5. Препараты не обладают мутагенным действием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Бейли, *Статистические методы в биологии*, “Мир”, Москва (1963).
2. Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон, *Материалы и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, “Высшая школа”, Москва (1991).
3. *Биохимические методы исследования в клинике*, А. А. Покровский (ред.), Москва (1969).
4. Г. Б. Кигель, Я. Харабад Жах-ЯН, *Показатели биологической нормы для лабораторных животных*, Ростов-на-Дону (1978).
5. *Лабораторные методы исследования в клинике*, В. В. Меньшиков (ред.), Москва (1987).
6. *Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнения кожи (методические указания)*, № 2162 – 79, Москва (1980).
7. *Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP)*, РД 64-126-91, Москва (1992).
8. *Проблемы нормы в токсикологии*, И. М. Трахтенберг (ред.), Москва (1991).
9. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Москва (2005).
10. И. В. Саноцкий, И. П. Уланова, *Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений*, Медицина, Москва (1975).

Поступила 25.08.10

PRECLINICAL STUDY OF REAMBERIN® AND REMAXOL® SAFETY

T. N. Savateeva-Lyubimova¹, E. E. Lesiovskaya¹, K. V. Sivak¹, K. I. Stosman¹, M. K. Shevchuk¹, S. G. Dagaev¹, A. V. Savateev¹, A. L. Kovalenko², A. Yu. Petrov², D. S. Sukhanov²

¹ Institute of Toxicology, Ministry of Public Health of the Russian Federation, ul. Bekhtereva 1, St. Petersburg, 192019 Russia

² POLISAN Research and Technology Company, Ligovskii prosp. 112, St. Petersburg, 191119, Russia

Preclinical safety of reamberin, a preparation of succinic acid intended for the treatment of patients with shock conditions of different etiology, and remaxol a drug intended for the treatment of patients with liver dysfunction caused by acute intoxication was performed. Both medicines belong to the 5th class of practically non-toxic drugs. Their administration to experimental animals for 30 days did not cause toxic effects on the functional and morphological state of main systems and organs. Both medicines do not affect specific (humoral and cellular) and non-specific immune response and do not cause sensitization, mutagenic, embryotoxic and teratogenic effects, and also do not alter parameters of reproductive functions of rats.

Key words: Reamberin, remaxol, acute toxicity, chronic toxicity, allergenicity, immunotoxicity, embryotoxicity, reproductive function, mutagenicity