

УДК 615.9

Усов Константин Ильич,

к.б.н., доцент, доцент кафедры «Экология и безопасность деятельности человека»,
ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет»,
e-mail: konstausov@ya.ru»

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРЕПАРАТА «РИФАБУТИН» ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВВЕДЕНИИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

Usov K.I.

TOXICOLOGICAL SAFETY PROFILE ANTI-TUBERCULOSIS DRUG «RIFABUTIN» WITH A SINGLE INJECTION IN EXPERIMENTAL CONDITIONS

Аннотация. Статья посвящена экспериментальному исследованию по определению токсикологического профиля безопасности противотуберкулезного препарата «Рифабутин» при однократном введении линейным и нелинейным животным (мыши, крысы, кролики).

Ключевые слова: рифабутин, токсичность, среднесмертельная доза, образец сравнения, летальность, профиль безопасности препарата.

Abstract. The article is devoted to an experimental study to determine the toxicological safety profile of the anti-tuberculosis drug "Rifabutin" when administered once to linear and nonlinear animals (mice, rats, rabbits).

Keywords: rifabutin, toxicity, average lethal dose, comparison sample, lethality, safety profile of the drug.

Более чем полувековой опыт применения инъекционных лекарственных форм противотуберкулезных препаратов позволяет отнести такой прием введения к весьма целесообразным в силу контролируемости лечения, повышения биодоступности и сокращения сроков бациллоносительства. Химиотерапия туберкулеза препаратами рифамицинового ряда началась именно с инъекционных лекарственных средств, поэтому продвижение на рынок растворимой формы Рифабутина для внутривенного введения кажется вполне естественным, если учесть и, то обстоятельство, что Рифабутин эффективен при полирезистентном туберкулезе легких [1].

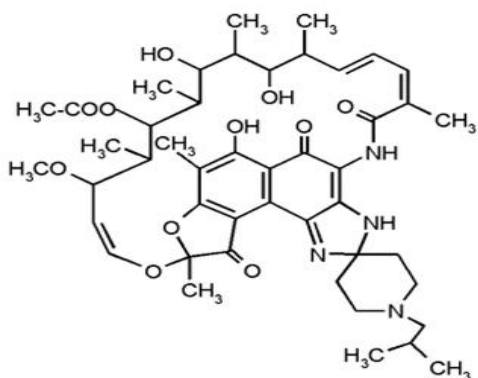


Рисунок 1 – 11,4-дидегидро-1-дезоксидигидро-5-(2-метилпропил)-1-оксорифамицин XIV

Полусинтетический антибиотик группы рифамицина (рисунок 1). Краснофиолетовый порошок, практически нерастворимый в воде, однако в лиофилизированной форме при добавлении воды образует устойчивую коллоидную систему без осадка и видимых агломератов, запаха не имеет. Предназначен для лечения инфекций, вызванных микобактериями туберкулеза и атипичными бактериями, причем на фоне иммунодепрессии, а также туберкулеза, вызванного рифамицинорезистентными штаммами.

В связи с преимущественным применением Рифабутина в составе комбинированных препаратов [2, 3] отчетливой определенности в побочных эффектах, вызываемых именно Рифабутином, в литературе не приводится, тем не менее, указывается на возможность расстройств пищеварительной системы: тошнота, рвота, повышение содержания в сыворотке крови печеночных ферментов, желтуха; на кровь и кроветворение: лейкопения, тромбоцитопения, анемия; на опорно-двигательный аппарат: артралгия, миалгия; на орган зрения: обратимый увеит. Возможны аллергические и иммунопатологические реакции: сыпь, бронхоспазм, анафилактический шок. Вышеотмеченные побочные эффекты свойственны лекарственной форме Рифабутина в капсулах, для растворимой формы препарата в доступной литера-

туре данных нет, найдена лишь отрывочная информация об отсутствии эффекта раздражения слизистой желудочно-кишечного тракта при внутривенном введении Рифабутина в отличие от перорального (в виде капсул) [4].

Внутри Рифабутин назначают один раз в сутки в дозе 300 мг (4,3 мг/кг), в комбинации – 450–600 мг, на срок 6 месяцев. Режим введения растворимого препарата внутривенно в литературе еще не представлен, но, по-видимому, терапевтическая доза будет втрое меньшей – 1,4 мг/кг, т.к. многие активные химические соединения при парентеральном введении по токсическому эффекту, в отличие от внутрижелудочного, соотносятся именно таким образом. Эту же дозу – 1,4 мг/кг сочтено целесообразным выбрать и для данного токсикологического исследования. Ожидаемая токсическая доза – 50 мг/кг, а промежуточная – 5 мг/кг. По-видимому, и длительность лечения пациентов растворимой лекарственной формой препарата будет иной. В условиях эксперимента на животных, возможно ограничиться 12 сутками ежедневных введений кроликам. Сведения о рифабутине в доступной литературе ограничены, поскольку рифабутин чаще встречается в составе комбинированных препаратов, однако некоторые сведения о токсичности рифабутина представлены в некоторых источниках информации [7, 8]. Установление параметров острой токсичности при внутрибрюшинном введении растворимой формы Рифабутина осуществлялось с использованием мышей линии BALB/с и нелинейных, а также крыс линии Вистар и нелинейных. В качестве модели многократного внутривенного воздействия той же формой Рифабутина использованы кролики серой масти (самцы и самки отдельно). В процессе установления параметров острой токсичности при внутрибрюшинном введении растворимой формы Рифабутина учитывалось время наступления гибели животных, характер клинических проявлений острой интоксикации, у погибших и выживших – морфология внутренних органов. Производился расчет среднесмертельной дозы. В экспериментах использованы мыши и крысы.

В условиях установления параметров острой токсичности [5, 6] растворимая форма Рифабутина вводилась мышам и крысам внутрибрюшинно в виде устойчивой коллоидной системы (растворитель – вода для

инъекций) в диапазоне доз от 1000 мг/кг до 2500 мг/кг. Способ растворения рекомендован изготовителем: серии с содержанием Рифабутина во флаконе 56,4 мг; 52,1; 54,7; 57,6; 57,3 растворяли в 10 мл воды; с содержанием 23,3 мг – в 4 мл воды. Исходя из полученного объема производили расчет доз. Дозирование проводили по активному веществу. Объемы вводимого раствора составили: от 1 мл до 3,1 мл/мышь и от 5 до 11 мл/крыса. В условиях многократного внутривенного введения кроликам были выбраны следующие дозы: 50 мг/кг; 5 мг/кг; 1,4 мг/кг. Срок введения: 12 дней ежедневно. Обследование животных на 1,3,7,11 сутки. Морфология на 12 сутки с усыплением животных.

Растворимая форма Рифабутина для внутривенного введения (образец РБ – 687). Активное вещество – Рифабутин. Внешний вид: лиофилизат для приготовления раствора. Цвет: от розового с фиолетовым оттенком до темно-фиолетового. Запах: без запаха. Размер частиц при разбавлении в 50 раз – $13,5 \pm 0,4$ нм. Растворимость – при добавлении воды образует устойчивую коллоидную систему без осадка и видимых агломератов. Препарат сравнения – Рифабутин, капсулы, 150 мг, производства «Люпин ЛТД» (Индия). Подлинность подтверждена ВЭЖХ. Манипуляции с препаратами выполнялись в соответствии со стандартными утвержденными правилами.

Для установления параметров острой токсичности препарат в виде свежеприготовленной коллоидной системы вводили мышам и крысам внутрибрюшинно.

При совпадении максимально допустимого объема введения и испытуемых доз препарата проводили расчет средних смертельных доз. Дозирование проводили по активному компоненту. В полной мере получить параметры острой токсичности удалось только на мышах, как линии BALB/с, так и нелинейных. Было принято решение ввести препарат и крысам, даже и в недопустимом объеме, с тем чтобы попытаться выявить органы-мишени морфологическими приемами.

ЛД₅₀ = 1567 ± 150 мг/кг (мыши–самцы BALB/с);

ЛД₅₀ = 1500 ± 150 мг/кг (мыши–самки BALB/с);

ЛД₅₀ = 1633 ± 150 мг/кг (нелинейные мыши–самцы);

ЛД₅₀ = 1567 ± 150 мг/кг (нелинейные мыши–самки).

Принципиальных отличий между линейными и нелинейными животными, между самцами и самками не установлено.

Параметров острой токсичности на крысах установить не удалось из-за необходимости введения значительного количества объема жидкости в полость брюшины, однако было принято решение выполнить эксперимент с использованием крыс для установления характера возможного токсического действия Рифабутина с учетом стрессового эффекта (таблица 1).

Таблица 1

Летальность крыс-самцов линии Вистар при внутрибрюшинном введении растворимой формы Рифабутина в различных дозах (масса тела 235–240 г)

Доза, мг/кг	500	800	1100
«←» гибели нет*, «→» гибель есть*	–	+	+

Примечание. * -при объеме введения 9,5–10 мл жидкости внутрибрюшинно

Использование животных с минимальной допустимой массой – 150 г позволило снизить объем вводимой жидкости до 6,2 мл, что существенно не повлияло на летальность крыс. Сохранилась и прежняя клиника острого отравления. Введение капсульной формы Рифабутина крысам внутрижелудочно (в дозах 3000–5000 мг/кг дискретно – в два приема с интервалом в 2 часа) дали возможность получить диапазон доз, пригодных для расчета DL50, и использовать классификацию для оценки степени токсичности (таблица 2).

Эксперимент позволил определить ЛД50 = 2917 ± 217 мг/кг (крысы-самцы линии Вистар). В результате проведенных экспериментов, как с использованием мышей, так и крыс, удалось выявить характерные проявления острой токсичности растворимой формы Рифабутина: через 30–40 мин от времени введения препарата резко снижалась двигательная активность, появлялась одышка (при допустимом и недопустимом введении жидкости, кстати при введении в полость брюшины физраствора даже в количестве 23 мл на крысу одышка не возникала). Через 1,5–2 часа у животных (как линии Вистар, так и у нелинейных) появлялась шаткая походка, некоторые животные принимали боковое положение и погибали от остановки дыхания в течение первых суток (доза 2500 мг/кг). У

животных, переживших этот период, в течение последующих двух суток оставалась характерная поза, затем наступало постепенное восстановление общего состояния – животные начинали принимать корм и воду.

Таблица 2

Степень токсичности (по Hodge и Sterner)

Степень токсичности	Оценочное понятие	ЛД50 однократно, через рот, крысы (мг/кг)
1	Чрезвычайно токсично	<1
2	Высокотоксично	1–50
3	Умеренно токсично	50–500
4	Малотоксично	500–5000
5	Практически нетоксично	5000–15000
6	Относительно безвредно	>15000

При внутрижелудочном введении Рифабутина в капсульной форме гибель животных наступала после поступления в организм препарата в диапазоне доз от 2000 до 5000 мг/кг при сходной клинической картине интоксикации, как правило, на 1–2 сутки. При нанесении на конъюнктиву глаза кроликов коллоидной системы из расчета 58,2 мг в 10 мл воды никаких признаков раздражения слизистой не обнаружено ни в ранние сроки после аппликации, ни в последующие (в течение 14 дней). При нанесении на конъюнктиву глаза нерастворимой формы Рифабутина (в виде содержимого капсулы) через 20–30 мин – инъекция сосудов без отека, со слезотечением продолжающимся 1–1,5 часа. Восстановление наступало в течение первых суток без морфологических последствий. Закапывание на конъюнктиву отфильтрованной взвеси – 0,3 мл в концентрации 100 г/л вызвало инъекцию сосудов до 2 баллов без выраженного слезотечения. Восстановление наступало в течение первых суток.

Экспериментальные исследования показали, что при совпадении максимально допустимого объема внутрибрюшинного введения и испытуемых доз растворимой формы Рифабутина мышам среднесмертельная доза составила 1567 ± 150 мг/кг (самцы) и 1500 ± 150 мг/кг (самки). Добиться аналогичного совпадения на крысах, к сожалению, не удалось, однако по клинике острого отравления, да и по ожидаемому уровню летальности, ре-

зультаты, в целом, совпадают, что позволяет отнести растворимую форму Рифабутина к пятой степени токсичности (практически нетоксичные), учитывая то, что степень токсичности при введении многих химических веществ в желудок, по сравнению с внутривнутрибрюшинным, как правило, в три раза ниже. Внутривнутрибрюшинное введение крысам капсульной формы препарата в нарастающих дозах дало возможность получить средне-смертельную – 2917 ± 217 мг/кг (четвертая степень – малотоксичные, по классификации опасности – 3 класс – умеренно опасные). При введении в высоких дозах (выше 600 мг/кг) клиника отравления развивается быстро: уже через 20–30 мин. наступает угнетение двигательной активности, одышка, крысы принимают характерную позу. Гибель наступает в течение первых двух суток – на вскрытии нарушение гемодинамики, парез кишечника. У выживших животных через 3–

5 суток явления интоксикации в значительной степени исчезают, но у некоторых крыс еще в течение последующей недели сохраняется снижение двигательной активности, снижение прироста массы тела. Препарат в дозах ниже 300 мг/кг практически не вызвал у крыс и мышей явлений ответной реакции на воздействие.

Не отмечено и признаков раздражения тканей, как в месте введения препарата, так и слизистых, в отличие от капсульной формы, вызывающей деструкцию эпителия желудка при внутривнутрибрюшинном введении крысам и кроликам, что подтверждено и морфологически. Результаты исследования однократного воздействия растворимой формой Рифабутина при его внутривнутрибрюшинном введении позволили отнести препарат к приемлемо переносимым в дозах ниже 300 мг/кг и сделать заключение о малотоксичности препарата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Усов, К.И.** Современная фармакотерапия туберкулеза легких с множественной лекарственной устойчивостью / К. И. Усов // Современные технологии и научно-технический прогресс. – 2022. – № 9. – С. 285-286.

2. **Усов, К.И.** О недостатках современных комбинированных противотуберкулезных препаратов / К. И. Усов // Современные технологии и научно-технический прогресс. – 2022. – № 9. – С. 281-282.

3. К проблеме экспериментального токсикологического исследования современных комбинированных противотуберкулезных препаратов / К. И. Усов, Г. Г. Юшков, Т. М. Филиппова, В. В. Бенеманский // IV Съезд токсикологов России : Сборник трудов, Москва, 06–08 ноября 2013 года / Под редакцией Г.Г.Онищенко и Б.А.Курляндский. – Москва: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ, 2013. – С. 491-493.

4. **Усов, К.И.** Разработка новых подходов к снижению нежелательных побочных эффектов противотуберкулезных препаратов / К. И. Усов, Т. А. Гуськова, К. А. Дударева // Перспективы развития биомедицинских тех-

нологий в Байкальском регионе: сборник тезисов Международной научной конференции, Иркутск, 05–07 февраля 2019 года. – Иркутск: Институт географии им. В.Б. Сочавы Сибирского отделения Российской академии наук, 2019. – С. 108-113.

5. **Усов, К.И.** Острая токсичность противотуберкулезных препаратов, содержащих и не содержащих пиридоксина гидрохлорид (экспериментальное исследование) / К. И. Усов, Г. Г. Юшков, А. В. Машанов // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 12. – С. 76-82.

6. **Усов, К.И.** Антиоксидантные эффекты адеметионина при введении крысам противотуберкулезных препаратов в токсических дозах / К. И. Усов, Т. А. Гуськова, Г. Г. Юшков // Токсикологический вестник. – 2019. – № 6(159). – С. 28-32.

7. Bruglera M., Scampini Q., Newman A. et all. Overview of toxicological data on rifabutin / Exp.Toxicol Pathol, 1995 jan:47(1): P.1–9.

8. Furet J. Hepatite mixte a la rifamycine SV. A propos d'un CAS // Therapie. –1986 – Vol.41, №5.–P.405–406.