

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ И ВЛИЯНИЕ НА ФИЗИЧЕСКУЮ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ЭТИЛТИОБЕНЗИМИДАЗОЛА ПРИ ОДНОКРАТНОМ И КУРСОВОМ ВВЕДЕНИИ

Дулупов А. Д., Радько С. В.

Санкт-Петербургская Государственная Химико-Фармацевтическая Академия,
кафедра фармакологии и клинической фармакологии,
г. Санкт-Петербург.

Ключевые слова: *этилтиобензимидазол, однократное введение, курсовое введение, острая токсичность, физическая работоспособность.*

Резюме: *В данной работе была проведена оценка влияния однократного и курсового введения этилтиобензимидазола фумарата на физическую работоспособность, а также рассмотрена его острая токсичность.*

Resume: *In this work, the effect of a single and course administration of ethylthio benzimidazole fumarate on physical performance was assessed, and its acute toxicity was examined.*

Актуальность. Исследуемое вещество – этилтиобензимидазола фумарат – относится к классу синтетических адаптогенов - стимуляторов работоспособности неистощающего типа, обеспечивающих повышение физической работоспособности и ускоряющих процессы восстановления после истощающих нагрузок в обычных и осложненных условиях [3]. Исходя из его назначения, он может применяться в различных сферах человеческой деятельности, где необходимо проявление физической силы или выносливости, например: в спорте, при спасательных операциях, при выполнении тяжелого физического труда и т.д. Это соединение позволит проще и быстрее адаптироваться к повышенным нагрузкам за счёт актопротекторного действия, минимизируя возможные эффекты перетренированности и повышенной усталости, а также способствует повышению собственных физических показателей.

На сегодняшнем фармацевтическом рынке практически отсутствуют препараты, которые достоверно способны повысить физические показатели. Этилтиобензимидазола гидробромид (Бемитил, Метапрот) и 5-этилтиоэтомерзол, которые доказали свою эффективность в способности повышать устойчивость организма к физическим нагрузкам [4,5], исчезли с российского рынка, тем самым ограничив доступ к современным синтетическим актопротекторным средствам.

Цель: изучить и сравнить активность нового производного этилтиобензимидазола с его аналогом и определить его острую токсичность.

Задачи: 1. Провести исследование активности после курсового применения препарата 2. Провести исследование активности после однократного применения препарата 3. Провести исследование острой токсичности исследуемого препарата.

Материалы и методы. Всего было проведено 3 эксперимента: исследование острой токсичности этилтиобензимидазола фумарата и его эффект на физическую

работоспособность от однократного и курсового применения.

Исследования проводили на беспородных мышах - самцах массой 22-24 г в соответствии с Национальным стандартом РФ ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», приказом Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», согласно утвержденному письменному протоколу. Животные были получены из питомника «Рапполово» (Ленинградская область), прошли необходимый карантин и содержались в стандартных условиях сертифицированного вивария на обычном пищевом рационе, со свободным доступом к воде.

Испытание на острую токсичность было проведено в соответствии с ГОСТом 32296-2013 [1]. Исследовали дозы 2 г/кг, 1,5 г/кг, 1,28 г/кг, 1 г/кг при внутрижелудочном введении.

Тесты по оценке физической работоспособности осуществляли в плавательной установке, представляющей собой 200-литровый бассейн высотой 40 см, шириной 35 см и длиной 80 см, заполняемый водой до половины. Внутри него располагался внутренний контур из оргстекла высотой 30 см, шириной 30 см и длиной 75 см, разделенный на 10 отсеков (15x15 см каждый). Бассейн заполняли до половины десатурированной водой температуры 22-24°C. Десатурацию воды проводили путем предварительного отстаивания воды в течение суток. Во время теста животных помещали в соответствующий отсек бассейна и сразу включали секундомер. Критерием окончания тренировки являлось погружение животного с носом под воду при неудачной попытке всплыть более трех секунд, после чего его извлекали из бассейна, обсушивали мягкой тканью и помещали в стандартную клетку. Утяжеляющий груз фиксировали в области подреберья с помощью специального приспособления [6].

Перед рандомизацией проводили оценку максимального времени вынужденного плавания животных с грузом 10% от массы тела, соответствующему анаэробному уровню нагрузки [2].

Для оценки эффекта изучаемых соединений при однократном введении животные были разделены на 6 групп по 13 животных в каждой. Препараты вводили внутрижелудочно в виде раствора за 30 минут до проведения эксперимента. 1- группа получала исследуемое вещество - ЭТБИФ в дозе 25 мг/кг. 2-я группа (контрольная) получала 0,9% раствор NaCl в эквивалентном объеме. 3-группа получала препарат сравнения – этилтиобензимидазола гидрохлорид (ЭТБИХ) в дозе 25 мг/кг. 4-группа получала отдельно фумарат натрия в дозе 11,72 мг/кг. После введения провели оценочный тест вынужденного плавания с грузом в 10% от массы тела.

При испытании курсового введения все животные были разделены на 3 группы по 8 животных в каждой: 1-я (контрольная), получала 0,9% раствор NaCl, 2-я - ЭТБИФ в дозе 25 мг/кг, 3-я группа - референсный препарат – ЭТБИХ в дозе 25 мг/кг. Все препараты вводились внутрижелудочно в течение 5-ти дней в неделю в течении 4-х недель. Оценочный тест вынужденного плавания с грузом в 10% от массы тела проводили каждую неделю и через неделю после окончания введения для оценки последствия.

Результаты исследования и их обсуждение. В испытании курсового введения исследуемый препарат – ЭТБИФ сравнивался по выраженности повышения физической работоспособности с ЭТБИХ (эталонный актопротектор) (табл.2).

Таблица 1. Длительность плавания мышей в тесте вынужденного плавания при курсовом введении

Группа	Время, сек					
	Исходно	Промежуточные тесты			Итоговый тест	Оценка последствий
		1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя	5 неделя
ЭТБИФ	264,3±49,25	447,11±105,01 ^{1,2,3}	472±140 ^{1,2}	557±261 ^{1,2}	567,3±208,3 ^{1,2,3}	797,33±368,16 ^{1,2,3}
ЭТБИХ	262,75±53,87	300,25±67,07 ¹	344±116 ¹	452±184 ^{1,2}	363,25±92,56 ¹	346,25±106,56
Контроль	261,4±67,92	196±68,8	206±89,6	241±75,6	215,2±77,84	219±62,4

Примечание: 1- достоверные различия ($p < 0,05$) относительно исходных значений;

2 - достоверные различия ($p < 0,05$) относительно итоговых значений контрольной группы;

3 - достоверные различия ($p < 0,05$) относительно итоговых значений группы препарата сравнения.

При оценке влияния курсового применения на протяжении 4-х недель в контрольной группе отсутствовали изменения в работоспособности. В группе, получавшей ЭТБИФ, после 1-й недели максимальное время плавания возросло в 1,69 раза относительно исходных значений, оказалось больше в 1,49 раза относительно препарата сравнения и в 2,28 раза относительно контрольной группы. В конце 2-й недели показатель достиг плато, превысив в 1,79 раза исходные значения, в 1,37 раза препарат сравнения и в 2,29 раза группу контроля. По прошествии 3-й недели повышение показателя активности исследуемого вещества относительно исходного результата было в 2,11 выше, относительно препарата сравнения в 1,23 раза, контрольной группы в 2,31 раза. После итоговой 4-й недели введений в группе получавшей ЭТБИФ не произошло значительных изменений результатов, в итоге относительно исходных данных время плавания было в 2,15 раза выше, относительно группы сравнения в 1,56 раза, относительно группы контроля в 2,64 раза. При оценке последствий, которую провели через неделю после итогового теста, ЭТБИФ продемонстрировал наибольшую активность превысив исходные данные по времени плавания в 3,02 раза, препарат сравнения, у которого произошло некоторое снижение активности, в 2,3 раза и контрольную группу в 3,64 раза.

Также был проведен эксперимент с однократным введением, где в качестве препаратов сравнения использовали как ЭТБИХ (этилтиобензимидазол), так и фумарат отдельно.

Таблица 2. Длительность плавания мышей в тесте вынужденного плавания при однократном введении

	Группа			
	ЭСБИФ	ЭСБИХ	Фумарат натрия	Контроль

Время, сек	440±53 ,19 ^{1,2}	410,77±65, 72 ^{1,2}	232,69±31, 70	250±27,09
---------------	------------------------------	---------------------------------	------------------	-----------

Примечание: 1 - достоверные различия ($p < 0,05$) относительно значений контрольной группы;

2 - достоверные различия ($p < 0,05$) относительно значения группы фумарата;

3 - достоверные различия ($p < 0,05$) относительно значения группы препарата сравнения.

ЭТБИФ показал достоверно более высокую активность по сравнению с фумаратом натрия и группой контроля, при этом активность относительно референсного препарата оказалась сопоставимо выше. По нашим предположениям фумарат натрия показал низкую активность на уровне с контролем по нескольким причинам. В данном испытании использовалась дозировка фумарата эквимоллярная той, которая содержится в ЭТБИФ, для того, чтобы оценить какой вклад в конечный эффект самого фумарата, если бы он не был в виде соли с этилтиобензимидазолом. Однако стоит отметить, что данная дозировка довольно низка для того чтобы проявить выраженный эффект.

В ходе проведенного исследования на острую токсичность было установлено, что смертность в 1-ой (2 г/кг) и 2-ой (1,5 г/кг) группах составила 100% , в 3-ей (1,28 г/кг) 20%, в 4-ой (1 г/кг) 0%. На основании ГОСТа № 32296-2013 «Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Основные требования к проведению испытаний по оценке острой токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы» исследуемый препарат причислен к 4 классу острой токсической опасности по классификации СГС и является малотоксичным.

Выводы. Из полученных результатов можно сделать следующие выводы:

- 1) Исследуемый препарат относится к 4 классу токсической опасности и является малотоксичным.
- 2) Этилтиобензимидазола фумарат повышает физическую работоспособность при курсовом и однократном введениях, увеличивая максимальное время плавания с грузом.
- 3) Курсовое применение этилтиобензимидазола фумарата приводит к развитию феномена последействия, превосходящему по эффекту референсный препарат, и сохраняющемуся как минимум 1 неделю после прекращения применения препарата.
- 4) Повышение работоспособности при применении этилтиобензимидазола фумарата достоверно выше при курсовом применении и сопоставимо выше при однократном в сравнении с эталонным синтетического адаптогеном с выраженным актопротекторным действием – этилтиоб-ензимидазола гидрохлоридом.
- 5) Исследуемое вещество действует как целая молекула, так как её отдельные компоненты вводимые животным по отдельности, такие как этилтиобензимидазол и фумарат, показали более низкую активность.

Литература

[1] - Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Основные требования к проведению испытаний по оценке острой токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы: ГОСТ 32296-2013.

[2] - Очерки спортивной фармакологии. Том 1. Векторы экстраполяции / Каркищенко Н.Н., Уйба В.В., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Под ред. Н.Н. Каркищенко и В.В. Уйба. - М., СПб: Айсинг, 2013. - 288 с.

[3] - Очерки спортивной фармакологии. Том 2. Векторы фармакопротекции / Каркищенко Н.Н., Уйба В.В., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Котенко К.В., Оковитый С.В. Под ред. Н.Н. Каркищенко и В.В. Уйба. - М., СПб: Айсинг, 2013. - 448 с.

[4] - Смирнов А.В., Шустов Е.Б., Сумина Э.Н., Шамов В.А., Катков В.Ф. Повышение работоспособности и устойчивости к экстремальным воздействиям с помощью актопротекторов и фармакологических рецептов // Экстремальная физиология, гигиена и средства индивидуальной защиты человека: тезисы докладов 3 Всероссийской конференции 25-27 сентября 1990 г.. - М.: Ордена Ленина Институт биофизики МЗ СССР, 1990. - С. 437-438.

[5] - Сосюкин А.Е., Смирнов А.В., Шустов Е.Б., Аксенов И.В. Экспериментальное изучение влияния бемитила и этомерзола на физическую работоспособность и функциональное состояние организма в условиях острого утомления // Морской медицинский журнал . - 1996. - №4. - С. 20-24.

[6] - Устройство для крепления груза к мелким лабораторным животным : пат. 172475 Российская Федерация : МПК51 А61D 3/00 (2006.01). / Радько С.В., Гусев К.А., Краснова М.В., Оковитый С.В.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПХФА Минздрава России. - № 2017111119; заявл. 03.04.17; опубл. 11.07.17, Бюл. № 20.

Репозиторий БИГУ