

РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ХРОНІЧНОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТАБЛЕТОК «ДОЛОСАН ФОРТЕ®»

© С. І. Трутаєв, С. Ю. Штриголь, Ю. Б. Лар'яновська

Національний фармацевтичний університет, Харків
OFBLSERG@gmail.com

Мета роботи. Визначити ступінь безпечності нового комбінованого спазмоанальгетика – таблеток «Долосан Форте®» – за хронічного введення.

Матеріали і методи. Таблетки «Долосан Форте®», розроблені ПАТ «Червона Зірка», є комбінацією зирілону (2,4-дихлорбензойної кислоти калієва сіль із вираженою анальгетичною та протизапальною дією), пітофенону гідрохлориду (міотропний спазмолітик), фенпіверинію броміду (М-холінолітик із додатковими міотропними та анальгетичними властивостями). Хронічну токсичність препарату досліджено за стандартними протоколами при 30-денному введенні щурам у дозах 2,3 та 23 мг/кг; кролям у дозах 1 та 10 мг/кг.

Результати й обговорення. Встановлено відсутність ознак інтоксикації, грубих порушень метаболічних процесів, зсувів гематологічних параметрів, біохімічних показників крові і сечі, функціонального стану ЦНС (за тестом «відкритого поля»), нирок (в умовах водного діурезу) та міокарда (за даними ЕКГ). За даними гістологічних досліджень, не зареєстровано ознак кардіотоксичної, нефротоксичної та гепатотоксичної дії препарату, його подразнювального впливу на слизові оболонки ШКТ, не виявлено порушень морфофункціонального стану легень, селезінки, щитоподібної залози, тимусу, наднирників.

Висновки. Доведено відсутність токсичної дії «Долосану Форте®» при 30-денному внутрішньошлунковому введенні щурам і кролям в умовнотерапевтичній дозі та десятиразово збільшеній умовнотерапевтичній дозі.

Ключові слова: хронічна токсичність; зирілон (2,4-дихлорбензойної кислоти калієва сіль); пітофенону гідрохлорид; фенпіверинію бромід; комбінований лікарський препарат; щури; кролі.

Вступ. Із огляду на погіршення якості життя та працездатності, біль є однією з найбільш суттєвих проблем сучасної медицини та стабільно посідає перші місця серед скарг, із якими хворі звертаються за медичною допомогою. Ефективність лікування хронічного болю залишається недостатньою, проблематичною є безпечність терапії з огляду на численні побічні ефекти, що також спричиняє надлишкові витрати і зменшує доступність лікування [1]. Отже, є актуальним створення нових лікарських препаратів із високим рівнем безпечності, оскільки традиційно вживані анальгетики, як-от метамізол натрію, спроможні чинити гематотоксичний вплив та інші побічні ефекти, їх застосування на сьогодні обмежують [2]. У цьому аспекті перспективною речовиною є зирілон (2,4-дихлорбензойної кислоти калієва сіль), який виявляє виражену анальгетичну та протизапальну дію та перевершує за терапевтичним індексом метамізол натрію та диклофенак натрію [3]. Поряд із запаленням, спазм є поширеною причиною болю, до того ж, спазм долучається до патогенезу багатьох захворювань. Тому доцільно поєднати зирілон із спазмолітиками, що мають різні механізми дії, а саме пітофенону гідрохлоридом (міотропний спазмолітик), фенпіверинію бромід (М-холінолітик із додатковими міо-

тропними та анальгетичними властивостями). Така комбінація – таблетки «Долосан Форте®» – створена на ПАТ «Червона Зірка», за виразністю фармакологічних ефектів вона не поступається препарату порівняння «Спазмалгон®» і виявляє суттєві переваги над останнім за величиною ефективних доз та відсутністю пригнічувального впливу на перистальтику кишечника за умов норми [4]. Синергічна анальгетична дія пітофенону та фенпіверинію за поєднання із диклофенаком натрію клінічно підтверджена в умовах печінкової, ниркової, кишкової коліки [5].

Отже, доцільне подальше вивчення комбінації зирілону, пітофенону та фенпіверинію. Водночас невід'ємною частиною доклінічних досліджень комбінованих препаратів є підтвердження безпечності. Тому мета даної роботи – дослідження хронічної токсичності таблеток «Долосан Форте®».

Матеріали і методи. Визначення хронічної токсичності проведено на двох видах тварин: щурах (ряд гризунів) як добре вивченому виді лабораторних тварин, що узгоджується з вимогами [6, 7] і кролях (ряд зайцеподібних) [8], з використанням шляху введення, який передбачається застосовувати в клінічній практиці. Оскільки відповідно до спектра фармакологічної дії не планується тривале застосування,

тривалість введень визначено як 1 міс. (відповідно до чинних методичних рекомендацій [6], при передбачуваних повторних уведеннях до 7 діб тривалість повторних введень при вивченні токсичності становить 28 діб).

Рандомбредні щури (із вихідною масою тіла 145–180 г у самців та 135–165 г у самок та віком 3–3,5 міс.) та кролі (самці із вихідною масою тіла 2,8–3,1 кг, віком 12 міс.) знаходилися в стандартних контрольованих умовах віварію ЦНДЛ НФаУ, згідно з правилами гуманного поводження з тваринами Директиви Ради ЄС із питань захисту тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей. Щурів рандомізували на три групи по 12 тварин у кожній (6 самців, 6 самок): інтактний контроль (ІК) та групи тварин, які отримували досліджуваний препарат у двох дозах, для вивчення показників до початку дослідження (вихідні дані) була використана додаткова група 12 щурів (6 самців, 6 самок). Кролів розподілили на 3 групи по 3 тварини в кожній (ІК та групи тварин, які отримували препарат у двох дозах). Таблетки «Долосан Форте®» (тест-зразки серії 00031.4 та 021014) суспендували у воді та вводили внутрішньошлунково один раз на добу протягом 30 діб (об'єм суспензії становив 10 мл/кг). Умовнотерапевтичну дозу для щурів визначали на моделі карагенінового набряку, вона склала 2,3 мг/кг; шляхом перерахунку встановлена умовнотерапевтична доза для кролів – 1 мг/кг. Друга використана доза є 10-разово збільшеною умовнотерапевтичною [6]. Для розрахунку індивідуальних доз масу щурів визначали щотижня, кролів – 1 раз на 2 тижні.

Впродовж усього періоду дослідження щоденно оцінювали поведінкові реакції тварин (активність, локомоція, емоційні реакції), їх зовнішній вигляд (стан шерстного покриву, очей, а також придатків, вух, кінцівок, зубів, наявність патологічних змін, як-от ран, пухлин, кровотеч та ін.), споживання корму та води, функції дихання, слиновиділення, сечовипускання, екскрети. Реєстрували виживаність та динаміку маси тіла (щотижня – для щурів, наприкінці терміну дослідження – для кролів).

Через 30 діб оцінювали функціональний стан органів і систем згідно з методичними рекомендаціями [6]. Визначали поведінкові реакції тварин за стандартною методикою «відкрите поле». Функціональний стан серця оцінювали за даними ЕКГ-дослідження в умовах легкого хлороформного наркозу із розрахунком інтервалів RR, PQ, QRS, Q–T; вольтажу зубців Р, Т та R. Визначали частоту серцевих скорочень (ЧСС, уд/хв) як співвідношення часу (60 с) до тривалості серцевого циклу RR та систолічний показник (СП) як співвідношення тривалості інтервалу QT до тривалості серцевого циклу RR (QT/RR, %). Оцінювали показники видільної функції нирок в умовах водного навантаження (2,5% маси тіла). У 3-годинних пробах сечі, отриманих в індивідуальних обмін-

них клітках, визначали рН, щільність, концентрацію сечовини (уреазним методом), креатиніну (за реакцією Яффе), хлоридів (титриметричним методом) [9].

Після нічного (14–15-годинного) голодування здійснювали забір крові (у щурів – із хвостової вени, у кролів – із ушної вени). Згідно з [9–11] у цільній крові визначали час згортання за методом Альтгаузена, кількість еритроцитів – колориметричним методом, вміст лейкоцитів – у камері Горяєва, концентрацію гемоглобіну – гемоглобінціанідним методом. За допомогою мікроскопа Micros 400 вивчали лейкоцитарну формулу. Після виведення наркотизованих тварин із дослідів одержували також плазму крові (антикоагулянт – тринатрійцитрат), у якій визначали фібриноген (повітряно-ваговим методом) та протромбіновий час з використанням тромбін-кальцієвої суміші («НПО РЕНАМ», РФ), а також сироватку крові, у якій вимірювали активність АлАТ і АсАТ за Райтманом–Френкелем, лужної фосфатази (ЛФ) – кінетичним методом, концентрацію загального білка – біуретовим методом, глюкози – глюкозооксидазним методом, сечовини – уреазним методом, креатиніну – за реакцією Яффе, холестеролу – ферментативним методом.

Біохімічні дослідження проведено за допомогою спектрофотометра СФ-46, фотометра КФК-3, коагулометричного аналізатора RT-2204С, використано діагностичні набори виробництва «Філісіт-Діагностика» (Україна), «PLIVA-Lachema Diagnostica sro» (Чехія), «BioSystem» (Іспанія).

Згідно з [7], макроскопічні дослідження включали зовнішній огляд, внутрішніх органів грудної, черевинної, тазової порожнин, визначення коефіцієнтів маси органів. Для гістологічних досліджень внутрішніх органів (печінка, нирки, серце, надниркові залози, селезінки, тимус, сім'яники/яєчники та місце контакту з досліджуваним препаратом: шлунок, стравохід, порожня та пряма кишка) були використані всі експериментальні групи щурів, по 5 самців і самок із кожної групи. У кролів, які одержували препарат у дозі 10 мг/кг, вивчено гістоструктуру печінки, нирок, серцевого м'яза, легень, тимуса, селезінки, підшлункової залози, надниркових залоз, сім'яників/яєчників, стравоходу, шлунка, дванадцятипалої та прямої кишки, щитоподібної залози порівняно з ІК.

Зразки органів фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [12]. Перегляд і фотографування препаратів здійснено на мікроскопі «Granum L3000» із цифровою камерою.

Із використанням пакета програм Statistica 6.0 обрховано середні арифметичні вибірки та їх стандартні похибки. Перевірку на нормальність розподілу виконували з допомогою тесту на однорідність. Для порівняння вибірок, які підпорядковуються нормальному розподілу, використано однофакторний дисперсійний аналіз із використанням критерію Даннет-

та для множинних порівнянь, для непараметричних даних – критерії Крускала–Уолліса та Манна–Уїтні (в останньому випадку рівень значущості визначено із урахуванням поправки Бонферроні). Обробку результатів з повторними вимірюваннями проводили за допомогою дисперсійного аналізу ANOVA RM з використанням критерію Даннетта.

Результати й обговорення. 1. Результати досліджень препарату «Долосан Форте®» на щурах

Впродовж терміну дослідження ознак інтоксикації, а також летальності щурів обох статей, які внутрішньошлунково отримували таблетки «Долосан Форте®» у дозах 2,3 та 23 мг/кг, не було. Значущих порушень зовнішнього вигляду, загального стану, поведінкових реакцій також не відзначалося. На тлі обох доз реєстрували додатну динаміку маси тіла без відмінностей від даних ІК, що свідчить про відсутність різних зсувів метаболічних процесів у тварин обох статей.

За результатами тесту «відкрите поле» не спостерігали міжгрупових відмінностей, за винятком зниження кількості уринацій у самців щурів на тлі таблеток у дозі 23 мг/кг, при цьому кількість фекальних болюсів не змінювалася, кількість активів грумінгу зменшувалася тенденційно і за сумою емоційних та вегетативних реакцій ці тварини не відрізнялися від інтактних. Коливання деяких показників відбувалося в межах вихідних даних та групи відповідного контролю. Отже, таблетки «Долосан Форте®» у використаних дозах суттєво не змінюють локомоторні, дослідницькі, емоційні та вегетативні реакції щурів обох статей.

За результатами ЕКГ виявлено відсутність кардіотоксичного впливу досліджуваного препарату в обох дозах, без міжстатевих особливостей. У всіх піддослідних тварин не змінювалася ЧСС, зберігався правильний синусовий ритм, у II стандартному відведенні був постійно присутній позитивний зубець Р перед характерним шлуночковим комплексом QRS, ознак порушення внутрішньосерцевої провідності не спостерігали.

Гематологічні показники у самок щурів міжгрупових розбіжностей не мали, у самців реєстрували достовірне зниження кількості паличкоядерних нейтрофілів стосовно групи ІК (однак показник не виходив за межі значень вихідних даних), а також деяке підвищення кількості моноцитів при незмінній кількості решти складових лейкоцитарної формули, загальному вмісту лейкоцитів та еритроцитів, рівня гемоглобіну. Можна констатувати відсутність суттєвого негативного впливу препарату в дозах 2,3 та 23 мг/кг на еритро- та лейкопоез щурів.

У самок щурів також не виявлявся достовірний вплив «Долосану Форте®» на усі досліджені біохімічні показники крові. В усіх групах самців через 30 діб спостереження достовірно підвищився рівень загального білка відносно вихідного рівня, що може

бути пов'язано із відомим збільшенням цього показника в онтогенезі щурів [13] або виявленням хроноритмічних змін. При цьому показники тварин, які одержували досліджуваний препарат, не відрізнялися від даних ІК і були у межах фізіологічних норм. Також у самців на тлі вищої дози «Долосану Форте®» спостерігали зниження активності ЛФ, зміни були достовірними відносно вихідного стану, але не відносно синхронного показника ІК. Інші біохімічні показники крові щурів самців після 30 діб були в межах вихідних даних та даних групи ІК. Отже, не встановлено впливу препарату «Долосан Форте®» в досліджених дозах на метаболічні процеси щурів обох статей за показниками глікемії, азотемії, вмісту хлоридів та загального білка, а також ферментемію (за винятком розглянутого вище зниження активності ЛФ).

Визначення інтегрального показника коагуляційного гомеостазу – часу згортання крові – у поєднанні із дослідженням кількості фібриногену та протромбінового часу надає можливість передбачити тенденцію до гіпер- або гіпокоагуляції у цілому. Показано, що при 30-денному введенні «Долосан Форте®» у використаних дозах не виявляв суттєвого впливу на гомеостаз – в усіх групах щурів обох статей всі ці показники залишалися у межах фізіологічних коливань, без достовірних відмінностей між групами.

Не виявлено вірогідних міжгрупових відмінностей функціонального стану нирок у тварин обох статей. Креатинінемія та екскреція креатиніну не змінювалися, процеси сечоутворення не порушувались. Об'єм сечовиділення закономірно не зазнавав коливань. Не змінювалися також рН і щільність сечі, екскреція сечовини і хлоридів, як і їх вміст в сироватці крові. Відсутність нефротоксичності за дослідженими показниками у використаних дозах (мінімальна із яких є умовнотерапевтичною за протизапальною дією) є позитивною ознакою, зважаючи на загальновідомий токсичний вплив НПЗЗ (до яких можна віднести зирілон) на нирки [14], і непрямо вказує на те, що розглянуте вище зниження кількості уринацій у самців щурів у тесті «відкрите поле» на тлі препарату в дозі 23 мг/кг є функціональним зсувом, але не ознакою нефротоксичності.

При макроскопічному дослідженні у щурів, яким вводили «Долосан Форте®» в обох дозах, не виявлено змін шерстного покриву, слизових оболонок, стану анусу, входу до вагіни/яєчок, поверхневих лімфовузлів. При розтині не зареєстровано видимих змін внутрішніх органів грудної, очеревинної, тазової порожнин. Коефіцієнти маси печінки, нирок, серця, легень, селезінки, надниркових залоз, тимуса, гонад у самок не зазнавали змін, у самців виявлялося лише тенденційне збільшення коефіцієнта маси легень. Втім при подальшому мікроскопічному дослідженні не встановлено змін гістоструктури легень (рис. 1). З огляду на ризик гастротоксичної та нефротоксичної дії важливо, що на тлі обох доз досліджуваних таблеток не

відбувалося виражених змін гістоструктури нирок та шлунка (рис. 2, рис. 3). У слизовій та підслизовій оболонках шлунка у дослідних щурів часто реєстрували

поширені, повнокровні кровonosні судини, однак дистрофічні та деструктивні зміни в поверхнево-ямковому епітелії, реактивні зміни у стромі були відсутні, а

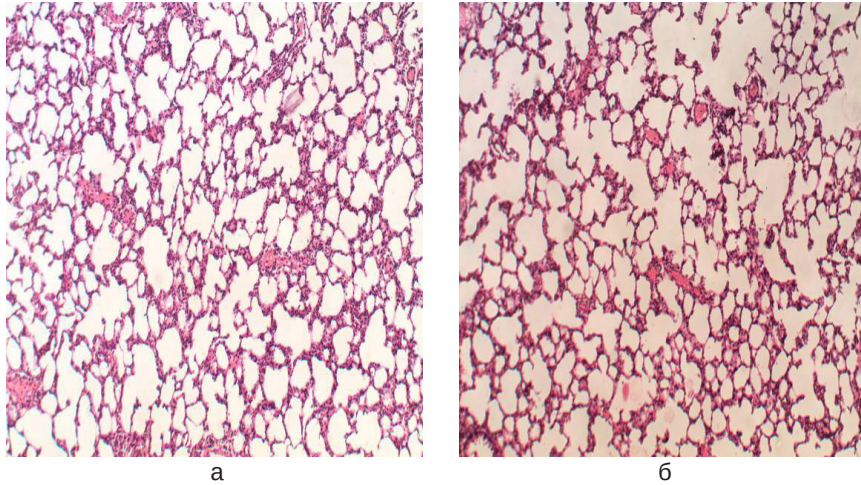


Рис. 1. Респіраторний відділ легень щурів після внутрішньошлункового введення таблеток «Долосан Форте®» протягом 30 діб у дозах 2,3 мг/кг (а) та 23 мг/кг (б). Гістоархітектоніка альвеолярних ходів та мішечків не порушена. Фарбування гематоксиліном та еозином. $\times 100$.

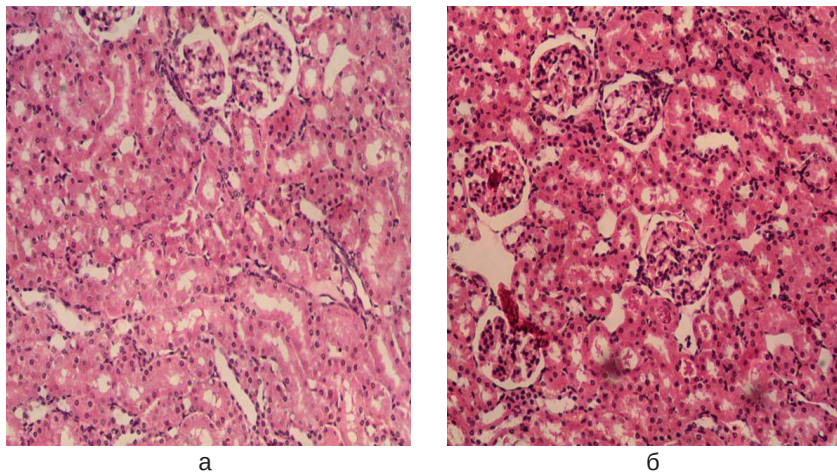


Рис. 2. Нирка щурів після внутрішньошлункового введення таблеток «Долосан Форте®» протягом 30 діб у дозах 2,3 мг/кг (а) та 23 мг/кг (б). Клубочки та канальцевий апарат відповідають нормі. Фарбування гематоксиліном та еозином. $\times 250$.

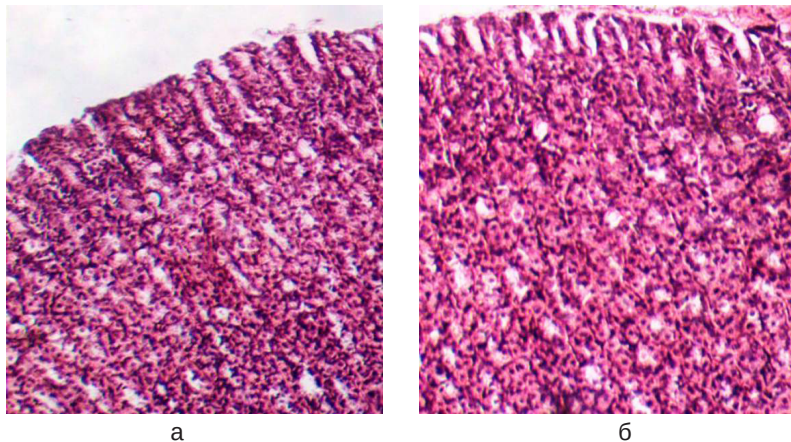


Рис. 3. Слизова оболонка ділянки дна шлунка щурів після внутрішньошлункового введення таблеток «Долосан Форте®» протягом 30 діб у дозах 2,3 мг/кг (а) та 23 мг/кг (б). Поверхнево-ямковий епітелій збережено, залозисті клітини головних залоз відповідають нормі. Фарбування гематоксиліном та еозином. $\times 100$.

стан та співвідношення головних, парієтальних та слизових клітин у залозистих трубках – на рівні ІК. Крім того, не реєстрували змін слизової оболонки тонкої (порожньої) та прямої кишки, стравоходу. Отже, обидві дози «Долосану Форте®» не чинять суттєвого токсичного впливу на ШКТ та нирки, що узгоджується з розглянутими вище результатами функціональних та біохімічних досліджень та спостережень за загальним станом щурів та динамікою маси тіла. Змін гістоструктури печінки, міокарда, селезінки, тимуса, підшлункової залози, надниркових залоз, гонад не реєстрували в усіх групах.

2. Результати досліджень препарату «Долосан Форте®» на кролях

Тривале внутрішньошлункове введення таблеток «Долосан Форте®» не викликало змін зовнішнього вигляду, загального стану, поведінкових реакцій кролів, не спричиняло ознак інтоксикації та летальності. Приріст маси тіла в дослідних групах достовірно не відрізнявся від показника ІК.

За даними ЕКГ не спостерігали кардіотоксичного ефекту досліджуваних таблеток в обох дозах. ЧСС істотно не змінювалась і не виходила за межі фізіологічних значень, зберігався правильний синусовий ритм, у II стандартному відведенні був постійно присутній позитивний зубець Р перед характерним шлуночковим комплексом QRS, ознак порушення внутрішньосерцевої провідності не виявлено.

Після 30 днів уведення препарату не реєстрували змін вмісту еритроцитів та гемоглобіну в крові, кількості лейкоцитів та лейкоцитарної формули. Протромбінний час тенденційно збільшувався на тлі меншої дози препарату відносно синхронного показника ІК (однак не мав суттєвих відмінностей від вихідних даних) за фактично незмінного часу згортання крові та вмісту фібриногену. Отже, у кролів, як і у щурів, «Долосан Форте®» у досліджених дозах не чинить токсичного впливу на еритро- та лейкоцитоз, а також коагуляційний гемостаз.

Порушень метаболічних процесів або ознак органотоксичної дії за критеріями глікемії, азотемії, ферментемії, вмісту хлоридів та загального протеїну в сироватці крові у кролів, як і у щурів, не встановлено. Усі досліджені показники відповідали фізіологічній нормі та практично не відрізнялись від даних ІК (як вихідних, так і синхронних).

При макроскопічному дослідженні у всіх групах кролів не реєстрували змін стану шерстного покриву, слизових оболонок, ануса, яєчок, поверхневих лімфовузлів. При розтині не виявлено видимих змін внутрішніх органів грудної, очеревинної, тазової порожнин. Коефіцієнти маси печінки, нирок, серця, легень, селезінки, надниркових залоз, тимуса не мали міжгрупових відмінностей. Мікроскопічне дослідження підтвердило відсутність патологічного впливу «Долосану Форте®» у досліджених дозах на гістоструктуру внутрішніх органів, а саме печінки, серця,

підшлункової залози, селезінки, тимуса, надниркових залоз, щитоподібної залози, яєчок. Особливу увагу привертає збереження нормальної гістоструктури нирок та ШКТ (слизової оболонки стравоходу, дна шлунка, дванадцятипалої кишки, прямої кишки), що додатково верифікує відсутність вираженої нефро- та гастротоксичної дії.

Як показано в попередніх досліджах [4], комбінація зирлону, пітофенону гідрохлориду, фенпіверинію броміду (таблетки «Долосан Форте®») забезпечує виразну протизапальну та анальгетичну дію. За терапевтичним індексом зирлон проявляє суттєві переваги над метамізолом натрію як при введенні *per se* [3], так і у складі вищезазначеної комбінації (при порівнянні з препаратом «Спазмалгон®», що містить метамізол натрію, пітофенону гідрохлорид та фенпіверинію бромід) [4]. Більш того, «Долосан Форте®» якісно відрізняється від «Спазмалгону®» відсутністю впливу на нормальну перистальтику кишечника [4]. Отже, викладені вище результати токсикологічних досліджень доповнюють дані щодо фармакодинаміки «Долосану Форте®» і свідчать про відсутність зростання токсичності при поєднаному застосуванні зирлону, пітофенону гідрохлориду, фенпіверинію броміду. За даними [3], зирлон при внутрішньошлунковому введенні мишам можна віднести до малотоксичних речовин (IV клас токсичності, цит. за [6]). Даних щодо токсичності індивідуальних речовин зирлону, пітофенону гідрохлориду, фенпіверинію броміду за тривалого введення в доступній літературі не знайдено, однак поєднане застосування пітофенону гідрохлориду та фенпіверинію броміду із анальгетиками або НПЗЗ є розповсюдженим у клінічній практиці [5, 15], що можливо лише за умови достатнього рівня безпечності цієї комбінації. З іншого боку, доведено, що 2,4-дихлорбензойна кислота (калієвою сіллю якої є зирлон) не збільшує токсичність кофеїну та карбамазепіну, але в такій комбінації здійснюється потенціювання анальгетичної дії [16]. Водночас зирлон за результатами даного дослідження не проявляв гематотоксичної дії, що додатково вказує на його переваги над метамізолом натрію, негативний вплив якого на систему крові добре відомий і став підставою для вилучення цього препарату з деяких фармацевтичних ринків [2, 14, 17]. Протизапальна дія зирлону в діапазоні досліджених доз не обтяжується токсичною дією на ШКТ, нефротоксичністю та зсувами гемостазу, яких можна очікувати, виходячи зі спектра властивостей класичних НПЗЗ [14].

Висновки. Таблетки «Долосан Форте®» при 30-денному введенні в дозах 2,3 та 23 мг/кг (для щурів); 1 та 10 мг/кг (для кролів) не викликають ознак інтоксикації, не впливають на загальнотрофічні процеси, гематологічні параметри, біохімічні показники крові і сечі, функціональний стан ЦНС (за тестом «відкритого поля»), нирок і міокарда (за даними ЕКГ). Окремі незначні коливання перебувають у межах фі-

зіологічної норми і не можуть бути причинно пов'язані з дією препарату. За даними гістологічних досліджень, на тлі «Долосану Форте®» не зареєстровано ознак кардіотоксичної, нефротоксичної та гепатотоксичної дії, порушень гістоструктури легень, органів імуногенезу – селезінки й тимуса, ендокринної системи – надниркових залоз та щитоподібної залози, а також гонад. Внутрішньошлункове введення табле-

ток «Долосан Форте®» не спричиняє подразнювальної дії на слизову оболонку стравоходу і шлунка тварин, що підтверджено гістологічно. Отже, можна стверджувати про відсутність токсичної дії таблеток «Долосан Форте®» при тривалому (30 діб) внутрішньошлунковому введенні щурам і кролям в умовнотерапевтичній дозі та десятикратно збільшеній умовнотерапевтичній дозі.

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ТАБЛЕТОК «ДОЛОСАН ФОРТЕ®»

С. И. Трутаев, С. Ю. Штрыголь, Ю. Б. Ларьяновская

Национальный фармацевтический университет, Харьков
OFBLSERG@gmail.com

Цель работы. Определить степень безопасности нового комбинированного спазмоанальгетика – таблеток «Долосан Форте®» – при хроническом введении.

Материалы и методы. Таблетки «Долосан Форте®», разработанные ПАО «Красная Звезда», представляют собой комбинацию зирилон (2,4-дихлорбензойной кислоты калиевая соль с выраженным анальгетическим и противовоспалительным действием), питофенона гидрохлорида (миотропный спазмолитик), фенпивериния бромид (М-холинолитик с дополнительными миотропными и анальгетическими свойствами). Хроническая токсичность этого препарата исследована по стандартным протоколам при 30-дневном введении крысам в дозах 2,3 и 23 мг/кг; кроликам в дозах 1 и 10 мг/кг.

Результаты и их обсуждение. Не выявлено признаков интоксикации, нарушений общетрофических процессов, гематологических параметров, биохимических показателей крови и мочи, функционального состояния ЦНС (в тесте «открытого поля»), почек (в условиях водного диуреза) и миокарда (по данным ЭКГ). Согласно результатам гистологических исследований, не зарегистрировано признаков кардиотоксического, нефротоксического и гепатотоксического действия препарата, его раздражающего влияния на слизистые оболочки ЖКТ, не выявлено нарушений морфофункционального состояния легких, селезенки, тимуса, надпочечников, щитовидной железы.

Выводы. Доказано отсутствие токсического действия «Долосана Форте®» при 30-дневном внутривнутреннем введении крысам и кроликам в условнотерапевтической дозе и десятикратно увеличенной условнотерапевтической дозе.

Ключевые слова: хроническая токсичность; зирилон (2,4-дихлорбензойной кислоты калиевая соль); питофенона гидрохлорид; фенпивериния бромид; комбинированный лекарственный препарат; крысы; кролики.

THE RESULTS OF THE CHRONIC TOXICITY STUDIES OF «DOLOSAN FORTE®» TABLETS

S. I. Trutaev, S. Yu. Shtrygol', Yu. B. Laryanovska

National University of Pharmacy, Kharkiv
OFBLSERG@gmail.com

The aim of the work. Evaluation of the safety level of new combined spasmolytic tablets «Dolosan Forte®» in chronic administration.

Materials and Methods. The tablets «Dolosan Forte®» were worked out by PJSC «Red Star,» their composition includes zirilone (2,4-dichlorobenzoic acid potassium salt possessing a significant analgesic and anti-inflammatory action), pitofenone hydrochloride (myotropic spasmolytic), and fempiverinium bromide (M-cholinolytic with additional myotropic and analgesic properties). The chronic toxicity of this drug was studied using the standard protocol presupposing the 30-day course of administration to rats at doses of 2.3 and 23 mg/kg; and rabbits at doses of 1 and 10 mg/kg.

Results and Discussion. There was no evidence of intoxication, disturbance of the processes of growth and development, as well as hematological parameters, biochemical parameters of blood and urine, functional state of central nervous system (in the «open field» test), the kidneys (under the conditions of water diuresis), and myocardium (according to electrocardiogram). According to data obtained in the histological studies, no signs of cardiotoxic, hepatotoxic, and nephrotoxic action of the drug, neither symptoms of the irritating effect on the mucous membranes of the gastrointestinal

tract were registered. Also, there was no evidence of the disturbance of the morphofunctional state of the lungs, spleen, thymus, adrenal glands, thyroid gland.

Conclusions. The study confirmed the absence of toxic effects of «Dolosan Forte®» after 30-day course of intragastric administration to rats and rabbits at a conventional therapeutic dose and at a conventional increased tenfold therapeutic dose.

Key words: chronic toxicity; zirilon (2,4-dichlorobenzoic acid potassium salt); pitofenone hydrochloride; fempiverinium bromide; combination; rats; rabbits.

Список літератури

1. Turk D. C. Treatment of chronic non-cancer pain / D. C. Turk, H. D. Wilson, A. Cahana // *Lancet*. – 2011. – Vol. 377. – P. 2226.
2. Hedenmalm K. Agranulocytosis and other blood dyscrasias associated with dipyrone (metamizole) / K. Hedenmalm, O. Spigset // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 58, №4. – P. 265–274.
3. Яковлева Л. В. Порівняльна характеристика фармакологічної дії в ряді похідних бензойної кислоти / Л. В. Яковлева, О. М. Шаповал, Є. Я. Левітін // *Вісник фармації*. – 2001. – № 3(27). – С. 172–173.
4. Експериментальне вивчення анальгетичної, протизапальної та спазмолітичної активності таблеток «Долосан Форте» / С. І. Трутаєв, С. Ю. Штриголь, Є. О. Ковальова, Ю. Ю. Штриголь // *Фармаком*. – 2016. – № 2. – С. 50–54.
5. Golhar K. B. Open labelled evaluation of injection Manyana (a combination of diclofenac + pitofenone + fempiverinium) in ureteric, biliary and intestinal spasm--a preliminary report / K. B. Golhar, R. L. Gupta // *J. Indian Med. Assoc.* – 1999. – Vol. 97, №9. – P. 398–400.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. : чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 90–97.
7. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика. – К. : МОЗ України, 2009. – 27с.
8. Animal use in toxicity studies. In: *The ethics of research involving animals*. – London: Nuffield Council on Bioethics, 2005. – P. 153–168.
9. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. – Минск : Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с., Т. 2. – 463 с
10. Лабораторные исследования в клинике / Под ред. В. В. Меньшикова – М. : Мед., 1987. – 365 с.
11. Альтгаузен А. Я. Лабораторные клинические исследования / А. Я. Альтгаузен. – М. : Мед., 1951. – С. 158.
12. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – М. : Мед., 1969. – 424 с.
13. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., Западнюк Б. В. – К. : Вища школа, 1983. – С. 249.
14. Побочное действие лекарств / Дрогвозов С. М., Гудзенко А. П., Бутко Я. А. и др. – Х. : «СІМ», 2010. – 480 с.
15. Пересада О. А. Концепция дисменореи и современные лечебные подходы: опыт применения спазмалгона / О. А. Пересада // *Репродуктивное здоровье: Восточная Европа*. – 2016. – № 3(45). – С. 403–410.
16. Сирова Г. О. Експериментальне та квантово-хімічне обґрунтування створення комбінованого протизапального препарату / Г. О. Сирова : автореф. дис. ... д-ра фармац. наук. – Х., 2011. – 40 с.
17. Табеева Г. Р. Непростые простые анальгетики, или о чем надо помнить при выборе анальгетика / Г. Р. Табеева // *РМЖ*. – 2013. – Т. 21, № 10. – С. 470–475.

References

1. Turk DC, Wilson HD, Cahana A. Treatment of chronic non-cancer pain. *Lancet*. 2011;377:2226. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60402-9
2. Hedenmalm K, Spigset O. Agranulocytosis and other blood dyscrasias associated with dipyrone (metamizole). *Eur J Clin Pharmacol*. 2002;58(4):265–4. DOI: 10.1007/s00228-002-0465-2
3. Yakovleva LV, Shapoval OM, Levitin Iela. [Comparative characteristics of the pharmacological action of a series of benzoic acid derivatives]. *Visnyk farmatsii*. 2001;3(27):172–3. Ukrainian.
4. Trutaev SI, Shtrygol SYu, Kovalova IO, Shtrygol YuYu. [An experimental study of “Dolosan Forte®” tablets analgesic, anti-inflammatory and antispasmodic activity]. *Pharmacom* (Kharkiv). 2016;2:50–4. Ukrainian.
5. Golhar KB, Gupta RL. Open labelled evaluation of injection Manyana (a combination of diclofenac + pitofenone + fempiverinium) in ureteric, biliary and intestinal spasm – a preliminary report. *J Indian Med Assoc*. 1999;97(9):398–400.
6. Preclinical studies of drugs. Ed. O.V. Stefanov. Kyiv: Avicenna; 2001: 90–7. Ukrainian.
7. Drug discovery. Good laboratory practice. [Належна лабораторна практика] Kyiv: Ministry of Health of Ukraine; 2001. Ukrainian.
8. Animal use in toxicity studies. In: *The ethics of research involving animals*. – London: Nuffield Council on Bioethics, 2005:153–68.
9. Kamyshnikov VS. Handbook of clinical and biochemical laboratory diagnostics. [Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике]. Minsk: Belarus; 2000. Russian.
10. Laboratory tests in the clinic. Ed. V.V. Menshikov. Moscow: Medicine; 1987. Russian.
11. Altgauzen AJa. Clinical laboratory studies. [Лабораторные клинические исследования] Moscow:

Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин
Pharmacological researches of biologically active substances

Medicine; 1987:158. Russian.

12. Merkulov GA. Course of histological techniques. [Курс патологистологической техники] Moscow: Medicine; 1969. Russian.

13. Zapadniuk IP, Zapadniuk VI, Zahariia EA, Zapadniuk BV. Laboratory animals. Breeding, maintenance, use in the experiment. [Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте] Kyiv: High School; 1983:249. Russian.

14. Side effects of drugs. Eds. Drogovoz SM, Gudzenko AP, Butko YaA. Kharkiv:«SIM»; 2010. Russian.

15. Peresada OA. The concept of dysmenorrhea and modern therapeutic approaches: experience of Spazmalgon. *Reproduktivnoe zdorove Vostochnaya Evropa*. 2016;3(45):403–10. Russian.

16. Syrovaya AO. Experimental and quantum – chemical ground of combined anti-inflammatory drug creation. Extended abstract of doctor's thesis. Kharkiv; 2011. Ukrainian.

17. Tabeeva GR. Intricate simple analgesics, or what is necessary to keep in mind when choosing an analgesic. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2013;21(10):470–5. Russian.

Отримано 06.02.2017