

Рекомендована д. біол. наук, проф. Л. С. Фірою
 УДК 615.1 : 546.284'161-32 : 547.82
 DOI 10.11603/2312-0967.2018.3.9319

ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ 4-КАРБОКСИМЕТИЛПІРИДИНІЮ ГЕКСАФТОРОСИЛІКАТУ

©І. О. Шишкін, О. Л. Тимчишин, В. О. Гельмбольдт

Одеський національний медичний університет
 vgelmboldt@te.net.ua

Мета роботи. Вивчення токсикометричних характеристик 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікату як потенційного антикарієсного препарату в гострому експерименті на щурах при пероральному введенні.

Матеріали і методи. Проведено дослідження гострої токсичності 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікату на 48 щурах-самцях лінії Вістар масою 180–200 г. Основним критерієм кількісної характеристики токсичності 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікату була LD_{50} , яка визначалася з використанням методу найменших квадратів. Розраховано такі показники небезпеки: $1/LD_{50}$ – обернена величина середньосмертельної дози (абсолютна токсичність), LD_{84}/LD_{16} – діапазон смертельних доз (зона гострої токсичної дії), $1/(LD_{50} - S)$ – сумарний показник токсичності та S – функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз). Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми «StatPlus 2009» (компанія AnalystSoft, США, 2009).

Результати й обговорення. Результати визначення гострої токсичності 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікату показують, що ця сполука при пероральному шляху введення належить до III класу токсичності (помірно токсичні сполуки). З огляду на варіабельність смертельних доз, вивчений гексафторосилікат можна зарахувати до сполук, які не становлять високої потенційної небезпеки виникнення та розвитку отруєння. Розрахункові показники токсичності та небезпеки 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікату показують, що він не становить особливої небезпеки і для людини.

Висновки. Гостра токсичність 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікату в експерименті на щурах при пероральному шляху введення становить 481,28 мг/кг, що дозволяє віднести це похідне до III класу токсичності (помірно токсичні сполуки).

Ключові слова: карієспрофілактичні агенти; 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікат; гостра токсичність.

Вступ. Однією з головних цілей сучасної фармації є розробка та дослідження нових ефективних і безпечних лікарських засобів. Якщо субстанція має виражену біологічну активність, то найбільш вірогідно виникає, поряд з очікуваною активністю, негативна побічна дія на організм. За даними [1, 2], з кожним роком спостерігається збільшення кількостей небажаних ефектів при використанні лікарських засобів, а в окремих випадках – смертей. Різноманітність проявів цих ефектів при застосуванні ліків зумовлена сукупністю різних причин, починаючи від токсичності синтетичних препаратів до несприятливої дії комплексу факторів зовнішнього середовища, а також особливостей взаємодії ліків при спільному прийомі. Тому важливим завданням при створенні нових лікарських засобів є вивчення нешкідливості самої біологічно активної речовини в умовах її одно- або багаторазового введення в організм [3].

На сьогодні як потенційні засоби профілактики та лікування карієсу активно вивчають амонію гексафторосилікат [4–7] та гексафторосилікати органічних амонієвих катіонів [8–11], які мають певні переваги над традиційними фторидними препаратами. У середовищі слини зазначені сполуки піддаються гідро-

лізу з утворенням розчинної форми діоксиду кремнію, який каталізує процес утворення осаду фториду кальцію і фторапатиту [4, 5] та забезпечує пролонговану оклюзію тубул дентину. Раніше ми синтезували і описали різні методи 2-, 3-, 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікати. В експерименті на щурах ці сполуки демонструють високу карієспрофілактичну дію, особливо в разі солі 4-карбоксиметилпіридинію [12].

Мета роботи – вивчення на щурах токсикометричних характеристик 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікату в гострому експерименті при пероральному шляху введення.

Матеріали і методи. Вивчення гострої токсичності 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікату (4-КМП ГФС) проведено на 48 щурах-самцях лінії Вістар масою 180–200 г. Експериментальні дослідження виконано на тваринах, розведених у віварію ОНМедУ МОЗ України. Тварин утримували на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі *ad libitum*. Досліди проводили відповідно до вимог GLP, методичних рекомендацій Державного фармакологічного центру МОЗ України [3], загальних етичних принципів експериментів на твари-

нах (ухвалено Першим національним конгресом з біоетики 20 вересня 2001р., Київ, Україна).

Експерименти виконано у два етапи: 1-й етап – «пристрілювальна» серія (12 тварин); 2-й етап – основна серія (36), де тварини були розділені на окремі групи (n = 6). Для дослідження нешкідливості водний розчин 4-КМП ГФС вводили одноразово перорально (п/о) за допомогою спеціальної голки-насадки з оливою з дотриманням правил залежності його об'єму від шляху введення і виду тварин [3].

Основним критерієм кількісної характеристики гострої токсичності 4-КМП ГФС була LD_{50} , яку визначали за допомогою методу найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності за В. Б. Прозоровським [13]. Крім того, для всебічної токсикометричної оцінки БАР було враховано показники небезпеки: $1/LD_{50}$ – обернена величина середньосмертельної дози (абсолютна токсичність), LD_{84}/LD_{16} – діапазон смертельних доз (зона гострої токсичної дії), $1/(LD_{50} - S)$ – сумарний показник токсичності та S – функція кута нахилу варіабельності смертельних доз за формулою:

$$S = (LD_{84}/LD_{50} + LD_{50}/LD_{16})/2.$$

Екстраполяцію токсикометричних параметрів на людину проводили методом [14] з використання констант біологічної активності. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми «StatPlus 2009» (компанія AnalystSoft, США, 2009).

Результати й обговорення. Для визначення летального ефекту у 100 % випадків або його відсутності спочатку проведено «пристрілювання» серія дослідів при однократному введенні 4-КМП ГФС п/о.

Клінічну картину отруєння можна було поділити на чіткі фази: збудження, пригнічення з явищами парезів, паралічів, судом і летальним результатом. Збудження, після п/о введення, розвивалось через 5–10 хв. У цей час щури активніше пересувалися по камері, частіше змінювали позу, підстрибували, яскравіше проявляли інтерес до навколишнього оточення, їхні рухи були координованими. У тварин прискорювалось дихання, з'являлося незначне почервоніння вух і мордочки. Фаза збудження була нетривалою – 3–5 хв. Потім спостерігали другу фазу з виразною загальмованістю, різким пригніченням дихання (до 20–30 в хв), акроціанозом, частим сечовипускан-

ням та дефекацією. Виникали фібрилярні сипання м'язів, тремор і, нарешті, тоніко-клонічні судоми. Друга фаза, як правило, тривала до самої смерті. Тварини гинули від різкого пригнічення дихання і судом. Як правило, у більшості тварин смерть наставала через 12–24 год після введення токсичних доз 4-КМП ГФС. Для виключення з експерименту тварин, загиблих від поранення голкою кровоносних судин з подальшою кровотечею, поранення стравоходу або дихальних шляхів, проводили розтин усіх загиблих тварин.

За результатами «пристрілювальної» серії досліджень зроблено висновок про нижні (100 % летальності) та верхні (0 % летальності) межі, в яких знаходиться LD_{50} . Діапазон летальних доз 4-КМП ГФС (мг/кг маси) у «пристрілювальній» серії дослідів на щурах шляхом перорального введення знаходяться у інтервалі від 391 до 571 мг/кг маси.

Після «пристрілювальної» серії дослідів було проведено другий етап експерименту з визначенням гострої токсичності 4-КМП ГФС у щурів шляхом п/о введення. Залежність загибелі тварин від дози відображено на рисунку 1, а токсикометричні показники – у таблиці 1.

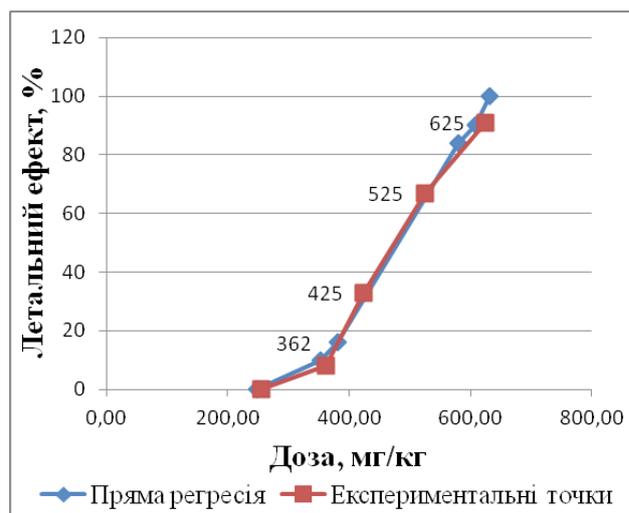


Рис. 1. Залежність між випробуваними дозами 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікату і летальним ефектом у щурів при пероральному шляху введення.

Таблиця 1. Гостра токсичність 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікату в щурів при пероральному шляху введення та екстраполяція цих даних на людину

| Показник гострої токсичності | Щури | Людина |
|------------------------------|--------|--------|
| 1 | 2 | 3 |
| LD_{50} | 481,28 | 114,59 |
| Стандартна похибка LD_{50} | 40,83 | 9,72 |
| Нижня межа LD_{50} | 391,40 | 93,19 |
| Верхня межа LD_{50} | 571,16 | 135,99 |
| LD_{10} | 353,07 | 84,06 |

| 1 | 2 | 3 |
|--|--------|--------|
| LD ₁₆ | 381,25 | 90,77 |
| LD ₈₄ | 581,31 | 138,41 |
| LD ₁₀₀ | 631,32 | 150,31 |
| Абсолютна токсичність (1/LD ₅₀) | 0,0021 | 0,0087 |
| Зона гострої токсичної дії (LD ₈₄ /LD ₁₆) | 1,525 | 1,524 |
| Функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз, S) | 1,235 | 1,235 |

Екстраполяцію на людей параметрів гострої токсичності, одержаних на тваринах, визначали за допомогою коефіцієнта видової стійкості і складала 114,59 мг/кг маси [3].

Аналіз результатів вивчення токсичності 4-КМП ГФС у щурів в умовах гострої токсичності підтверджує, що, відповідно до класифікації К. К. Сидорова [15], при п/о шляху введення ця сполука належить до III класу токсичності, тобто до помірно токсичних сполук.

За варіабельністю смертельних доз (функція кута нахилу), яка становить 1,23, 4-КМП ГФС мож-

на зарахувати до сполук, які не становлять високої потенційної небезпеки виникнення і розвитку отруєння.

Висновки. Нова синтезована сполука – 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікат належить до помірно токсичних сполук при пероральному введенні на щурах.

Достатньо помірна токсичність 4-карбоксиметилпіридинію гексафторосилікату свідчить про перспективність даної сполуки як потенційного лікарського засобу.

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ 4-КАРБОКСИМЕТИЛПИРИДИНИЯ ГЕКСАФТОРОСИЛИКАТА

И. О. Шишкин, О. Л. Тымчишин, В. О. Гельмбольдт

Одесский национальный медицинский университет
vgelmboldt@te.net.ua

Цель работы. Изучение токсикометрических характеристик 4-карбоксиметилпиридиния гексафторосиликата как потенциального антикариесного препарата в остром эксперименте на крысах при пероральном введении.

Материалы и методы. Исследование острой токсичности 4-карбоксиметилпиридиния гексафторосиликата было проведено на 48 крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г. Основным критерием количественной характеристики токсичности 4-карбоксиметилпиридиния гексафторосиликата была LD₅₀, которая определялась с использованием метода наименьших квадратов. Также были рассчитаны такие показатели опасности: 1/LD₅₀ – обратная величина среднесмертельной дозы (абсолютная токсичность), LD₈₄/LD₁₆ – диапазон смертельных доз (зона острого токсического действия), 1/(LD₅₀ – S) – суммарный показатель токсичности и S – функция угла наклона (вариабельность смертельных доз). Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы StatPlus 2009 (компания AnalystSoft, США, 2009).

Результаты и обсуждение. Результаты определения острой токсичности 4-карбоксиметилпиридиния гексафторосиликата показывают, что это соединение при пероральном пути введения относится к III классу токсичности (умеренно токсические соединения). Исходя из вариабельности смертельных доз, изученный гексафторосиликат можно отнести к соединениям, которые не представляют высокой потенциальной опасности возникновения и развития отравления. Расчетные показатели токсичности и опасности 4-карбоксиметилпиридиния гексафторосиликата показывают, что он не представляет особой опасности и для человека.

Ключевые слова: кариеспрофилактические агенты; 4-карбоксиметилпиридиния гексафторосиликат; острая токсичность.

ACUTE TOXICITY OF 4-CARBOXYMETHYLPYRIDINIUM HEXAFLUOROSILICATE

I. O. Shyshkin, O. L. Tymchyshyn, V. O. Gelmboldt

Odesa National Medical University
vgelmboldt@te.net.ua

The aim of the work. Study of the toxicometric characteristics of 4-carboxymethylpyridinium hexafluorosilicate as a potential anti-caries preparation in an acute experiment on rats with oral administration.

Materials and Methods. A study of the acute toxicity of hexafluorosilicate 4-carboxymethylpyridinium was carried out on 27 male Wistar rats weighing 180–200 grams. The main criterion for quantifying the toxicity of 4-carboxymethylpyridinium hexafluorosilicate was LD_{50} , which was determined using the least squares method. Also, the following hazard indicators were calculated: $1 / LD_{50}$ – median lethal dose (absolute toxicity), LD_{84} / LD_{16} – the range of lethal doses (zone of acute toxic effect), $1 / (LD_{50} - S)$ – the total toxicity index and the S-function angle of inclination (variability of lethal doses). Statistical processing of the results was carried out using the «StatPlus 2009» software (AnalystSoft, USA, 2009).

Results and Discussion. The results of the acute toxicity determination of 4-carboxymethylpyridinium hexafluorosilicate show that this compound, in the oral route of administration, belongs to the III class of toxicity (slightly hazardous). Based on the variability of lethal doses, the studied hexafluorosilicate can be attributed to compounds that do not pose a high potential risk of the onset and development of poisoning. The calculated toxicity and hazard values of 4-carboxymethylpyridinium hexafluorosilicate show that it does not pose a particular danger to humans.

Conclusions. The acute toxicity of 4-carboxymethylpyridinium hexafluorosilicate in an experiment in rats at the oral route is 481.28 mg / kg, which allows the classification of this derivative to grade III toxicity (moderate toxic compounds).

Key words: caries prophylactic agents; 4-carboxymethylpyridinium hexafluorosilicate; acute toxicity.

Список літератури

1. Принципові підходи до оцінки співвідношення користь/ризик при виборі лікарського засобу / О. П. Вікторов, В. І. Мальцев, Ж. А. Хоменко [та ін.] // Сучасні проблеми токсикології. – 2006. – № 2. – С. 21–28.
2. Вікторов О. П. Побічна дія при взаємодії ліків: аналізуємо наслідки / О. П. Вікторов, М. П. Шараєва // Вісн. фармакології та фармацевції. – 2003. – № 10. – С. 22–23.
3. Доклиническое исследование лекарственных средств: метод, рекомендации / под ред. чл-кор. АМН Украины А. В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2002. – 567 с.
4. Ammonium hexafluorosilicate elicits calcium phosphate precipitation and shows continuous dentin tubule occlusion / T. Suge, A. Kawasaki, K. Ishikawa [et al.] // Dent. Mater. – 2008. – Vol. 24, № 2. – P. 192–198.
5. Effects of ammonium hexafluorosilicate concentration on dentin tubule occlusion and composition of the precipitate / T. Suge, A. Kawasaki, K. Ishikawa [et al.] // Dent. Mater. – 2010. – Vol. 26, No 1. – P. 29–34.
6. Effects of different antibacterial agents on enamel in a biofilm caries model / S. Savas, E. Kucukyilmaz, E.U. Celik, M. Ates // J. Oral Science. – 2015. – Vol. 57, No 4. – P. 367–372.
7. Fluoride activity of antibacterial ammonium hexafluorosilicate solution for the prevention of dentin caries / T. Suge, S. Shibata, K. Ishikawa, T. Matsuo // Am. J. Dent. – 2018. – Vol. 31, No 2. – P. 103–106.
8. Preparation, structure and properties of pyridinium/bipyridinium hexafluorosilicates / V. O. Gelmboldt, Ed. V. Ganin, M. M. Botoshansky [et al.] // J. Fluorine Chem. – 2014. – Vol. 160, No 4. – P. 57–63.
9. Gelmboldt V. O. Synthesis and characterization of cetylpyridinium hexafluorosilicate as new potential caries protecting agent / V. O. Gelmboldt, O. V. Prodan, V. Yu. Anisimov // Am. J. Pharm. Tech. Res. – 2014. – Vol. 4, No 6. – P. 513–521.
10. Оценка кариеспрофилактической эффективности «ониевых» гексафторосиликатов в эксперименте / В. В. Лепский, В. Ю. Анисимов, О. В. Продан, В. О. Гельмбольдт // Вісник стоматології. – 2015. – № 2. – С. 10–13.
11. Кариеспрофилактические и пародонтопротекторные свойства гелей, содержащих гексафторосиликаты пиридинкарбоновых кислот / В. Ю. Анисимов, И. О. Шишкин, В. О. Гельмбольдт, А. П. Левицкий // Вестник фармации. – 2017. – № 4(78). – С. 75–83.
12. Synthesis, crystal structures, properties and caries prevention efficiency of 2-, 3-, 4-carboxymethylpyridinium hexafluorosilicates / V. O. Gelmboldt, V. Yu. Anisimov, I. O. Shyshkin [et al.] // J. Fluorine Chem. – 2018. – Vol. 205, No. 1. – P. 15–21.
13. Прозоровский В. Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности / В. Б. Прозоровский // Фармакология и токсикология. – 1962. – Т. 23, № 1 – С. 115–120.
14. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Журнал АМН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6 – С. 1513–1516.
15. Сидоров К. К. Токсикология новых промышленных химических веществ / К. К. Сидоров. – М. : Медицина, 1973. – Вып. 3. – 47–51.

References

1. Viktorov OP, Maltsev VI, Chomenko IA, Lohvina IO, Kashuba OV. [The principle ways to the valuation of the benefit/risk correlation during the drug selection]. *Suchasni problemy toksykologhii*. 2006;2: 21-8. Ukrainian.
2. Viktorov OP, Sharaieva MP. [Side effects of drug interaction: an analysis of effects]. *Visnyk farmakologhii i famatsii*. 2003;10: 22-3. Ukrainian.
3. Stefanov AV. Preclinical studies of drugs: Guidelines. [Доклиническое исследование лекарственных средств: метод. Рекомендации] Kyiv: Avitsena, 2002. Russian.
4. Suge T, Kawasaki A, Ishikawa K, Matsuo T, Ebisu S. Ammonium hexafluorosilicate elicits calcium phosphate precipitation and shows continuous dentin tubule occlusion. *Dent Mater*. 2008;24(2): 192-8.
5. Suge T, Kawasaki A, Ishikawa K, Matsuo T, Ebisu S. Effects of ammonium hexafluorosilicate concentration on dentin tubule occlusion and composition of the precipitate. *Dent. Mater*. 2010;26(1): 29-34.
6. Savas S, Kucukyilmaz E, Celik EU, Ates M. Effects of different antibacterial agents on enamel in a biofilm caries model. *J Oral Science*. 2015;57(4): 367-72.
7. Suge T, Shibata S, Ishikawa K, Matsuo T. Fluoride activity of antibacterial ammonium hexafluorosilicate solution for the prevention of dentin caries. *Am J Dent*. 2018;31(2): 103-6.
8. Gelmboldt VCh, Fonari MS. Preparation, structure and properties of pyridinium/bipyridinium hexafluorosilicates. *J Fluorine Chem*. 2014;160(4): 57-63.
9. Gelmboldt VO, Prodan OV, Anisimov VYu. Synthesis and characterization of cetylpyridinium hexafluorosilicate as new potential caries protecting agent. *Am J Pharm Tech Res*. 2014;4(6): 513-21.
10. Lepskiy VV, Anisimov VYu, Prodan OV, Gelmboldt VO. [Experimental evaluation of caries preventive efficiently "onium" hexafluorosilicates]. *Visnyk stomatologhii*. 2015;2: 10-3. Russian.
11. Anisimov VYu, Shyshkin IO, Gelmboldt VO, Levitskiy AP. Caries-preventive and periodontal protective properties of gels containing hexafluorosilicates of pyridine carboxylic acids. *Visnyk farmatsii*. 2017;4: 75-83. Russian.
12. Gelmboldt VO, Anisimov VYu, Shyshkin IO, Fonari MS, Kravtsov VCh. Synthesis, crystal structures, properties and caries prevention efficiency of 2-, 3-, 4-carboxymethylpyridinium hexafluorosilicates. *J. Fluorine Chem*. 2018; 205(1): 15-21.
13. Prozorovskiy VB. [Using the method of least squares for probit analysis of mortality curves]. *Farmakologiya i toksikologiya*. 1962;23(1): 115-20. Russian.
14. Rybolovlev YuR, Rybolovlev RS. Dosing agents for mammalian constant biological activity. *Zhurnal AMN SSSR*. 1979;247(6): 1513-6. Russian.
15. Sidorov KK. Toxicology of new industrial chemicals. [Токсикология новых промышленных химических веществ] Moscow: Meditsina; 1973. Russian.

Отримано 08.05.2018