

### ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ПРАЗИКВАНТЕЛУ ЗА РІЗНИХ ШЛЯХІВ ВВЕДЕННЯ

**Ключові слова:** празиквантел, демодекоз, токсичність, мазь, супозиторії

Дослідження, спрямовані на розробку нових високоефективних лікарських засобів для терапії акнеподібних дерматозів (розацеа, періоральний дерматит, розацеа-подібний дерматит, себорейний дерматит та ін.) є одними з пріоритетних у дерматології. Це пов'язано зі значним поширенням цієї патології, її тривалістю і схильністю до рецидивів [1]. При цьому нерідко течія акнеподібних дерматозів ускладнюється наявністю демодекозу – кліщової інфекції, що є одним з основних провокуючих чинників захворювання, сприяє більшій вираженості його клінічних симптомів і збільшує терміни терапії [2]. Окрім того, супроводження акнеподібних дерматозів демодекозом утрудняє проведення фармакотерапії, що пов'язано з особливостями будови покривів кліщів, захищаючих демодецид від зовнішніх впливів і великих молекул екзогенних речовин, що утрудняють проходження зокрема акарицидних препаратів контактної дії [3].

Для місцевого етіотропного лікування акнеподібних дерматозів сучасна дерматологія використовує лікарські засоби, що містять перметрин, есдепалетрин, івермектин [4]. Але кількість антидемодексних лікарських засобів невелика і найефективніші з них практично всі імпортуються [5].

Вітчизняна хіміко-фармацевтична промисловість робить досить застарілі антипаразитарні засоби для зовнішнього застосування на основі бензилбензоату, антидемодекозна активність яких дуже невисока [6].

Празиквантел – речовина, що виявляє антипаразитарний ефект відносно трематод, цестод. Підвищує проникність мембран клітин гельмінтів для іонів кальцію, що спричинює генералізоване скорочення мускулатури паразитів, а також гальмує захоплення глюкози клітинами гельмінтів. У результаті в них знижується рівень глікогену і стимулюється вивільнення з'єднань молочної кислоти, що призводить до загибелі паразита [7]. Дослідження, проведені вітчизняними дослідниками, виявили наявність у празиквантелу антидемодексного ефекту [8]. В Україні празиквантел зареєстровано у формі пероральних таблеток 600 мг під найменуванням «Більтрицид» (Bayer Shering Pharma AG, Німеччина) [5].

Лікування демодекозу є тривалим процесом, який потребує тривалого прийому етіотропних лікарських засобів. Рекомендований же курс прийому препарату Більтрицид становить до 3 днів. Це пов'язано з побічними явищами з боку шлунково-кишкового тракту за його тривалішого перорального застосування.

У зв'язку з цим викликає інтерес використання альтернативного трансмукозного шляху введення лікарської речовини, зокрема ректального, у відповідних лікарських формах (супозиторіях).

Також перспективним видається розроблення м'якої лікарської форми для зовнішнього застосування з празиквантелом – мазі для місцевої терапії акнеподіб-

них дерматозів, ускладнених демодекозом. Відомо, що ефективність антидемодексної терапії значно підвищується у разі комбінування системного і місцевого лікування [1, 9].

Створення м'яких лікарських форм празиквантелу потребує науково обґрунтованого підходу, початковим етапом якого є вивчення нешкідливості лікарської речовини за різних шляхах його введення, оскільки дані про це в літературі відсутні.

**Метою** цієї роботи є вивчення гострої токсичності празиквантелу у разі внутрішньоочеревиного, перорального, ректального і нашкірно введення.

### **Матеріали та методи дослідження**

Як діючу речовину використовували субстанцію празиквантелу (*RS*)-2-(циклогексилкарбоніл)-1,2,3,6,7,11b-гексагідро-4H-піразино-[2,1-a]-ізохінолін-4-он) виробництва «Jinan Xukang Biotechnology Co., Ltd.» (Shandong, КНР).

Токсиметричні дослідження виконували згідно з порядком проведення доклінічного вивчення і експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів відповідно до статті 6 Закону України «Про лікарські засоби» (123/96-ВР), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (3447-15), постанови «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика», затвердженою наказом МОЗ України від 16. 02. 2009 № 95 (v0095282-09) «Про затвердження документів з питань забезпечення якості лікарських засобів» і з урахуванням норм, що застосовують у міжнародній практиці з дотриманням принципів гуманності, викладених в директиві Європейської Спільноти (86/009/ЄС). Це положення задекларовано Хельсінкської декларації про обіг лікарських речовин і викладено Управлінням по санітарному нагляду за якістю продуктів і медикаментів Міністерства охорони здоров'я, освіти і соціального забезпечення США в 1979 р. у керівництві по GLP.

Експериментальні тварини – білі безпородні щури (самці) масою 150–210 г (185,0 +/-38,60 г), вік тварин – 3,5–5 міс. Тварини отримані з розплідника лабораторних тварин «Албіз» (м. Київ). В експериментах використано клінічно здорові тварини, що знаходилися в однакових умовах утримання і годування. Тварини до початку експерименту витримано на карантині упродовж 30 днів на стандартному кормі (пшениця, буряк, морква) і питві в умовах сертифікованого віварію Запорізького державного медичного університету. За час карантину тварин щодня оглядали і зважували 1 раз на тиждень.

Перед початком дослідження тварини випадковим чином було розподілено по серіям і вміщено в стандартні клітини (400 x 320 x 160 мм). Використовували 4 серії тварин по 3 особини в кожній. Клітини розміщували в приміщенні зі світловим режимом 12/12 год світла і темряви, за відносної вологості повітря в межах 50–70%. Температуру в приміщенні підтримували в межах 20–25 °С.

Визначення гострої токсичності субстанції празиквантелу здійснювали за допомогою експрес-методу В. Б. Прозоровського і співавт. [10].

Після затравки тварин визначали ефективну дозу ( $ED_{50}$ ) і розмах коливань її середньої помилки табличним методом. Розрахунок  $ED_{50}$  проведено з використанням методу найменших квадратів Чебишева і методики «пробіт-аналіз». Помилки обчислено по методу Miller і Tainte [11]. Кількість тварин (4 серії по 3 спостереження в кожній) відповідає принципам токсикологічної статистики, де відсутність ефекту у 3 тварин із 3 прийнято рівним 8%, а наявність – 92%. Для отримання довірчих меж помилки при рівні вірогідності 0,95 і 8 серіях дослідження дані множаться на 2,36.

Статистичну обробку результатів і планування експериментів проводили з використанням параметричних і непараметричних методів статистичного оброблення результатів експериментальних досліджень. Дані наведено у вигляді середнього

арифметичного ( $\pm$ ) стандартна помилка середнього значення. При нормальному розподілі варіант для виявлення статистичних відмінностей використовували t-критерій Стьюдента для малих вибірок, при асиметричному розподілі варіант у статистичному ряду – U критерій Вілкоксона.

### **Результати дослідження та обговорення**

Згідно із загальноприйнятою методикою на першому етапі досліджень під час визначення гострої токсичності досліджуваної субстанції празиквантелу за внутрішньоочеревинного введення 8 тваринам встановлена орієнтовна токсична доза  $ED_{50} = 500$  мг/кг [12]. Далі тваринам, згідно з таблицею Б. В. Прозоровського, вводили 4 послідовних дози з числа приведених у першому рядку таблиці: 398, 501, 631 і 793 мг/кг. Після разового введення в першій і другій групах загинув тварин не відзначалося, отже, результат дорівнював 00, у третій і четвертій дослідних групах загинуло по 2 тварини.

Таким чином, послідовність реакцій, згідно з таблицею Б. В. Прозоровського, становила 0022. Оцінку  $ED_{50}$  проводили по другому 0, перший не враховували (його визначення потрібне для відмінності від результату 0220). Ця послідовність знаходиться в 3-му рядку таблиці. На перетині цього рядка з колонкою, відповідною для першої з випробуваних доз, а саме — 398 мг/кг, отримали шукану дозу (у нашому випадку це  $ED_{50} = LD_{50}$ ), яка становить 564 мг/кг з довірчим інтервалом 490–640 мг/кг (зміщення середнього від центру між довірчими межами визначається використанням логарифмічної шкали) [10].

Аналогічно вищенаведеному, по методиці В. Б. Прозоровського, визначали  $ED_{50}$  у щурів за разового внутрішньошлункового введення водної суспензії субстанції празиквантелу. За допомогою шприцевого зонда з оливою на кінці подаючої голки внутрішньошлунково вводили водну суспензію празиквантелу в дозах 794, 1 000, 1 260 мг/кг. Встановлена послідовність загинув експериментальних тварин у разі введення в шлунок субстанції в дозі 794 мг/кг становила 0122.  $ED_{50}$  згідно з таблицею в цьому випадку становить 1 030 (880–1 180) мг/кг маси тварини. У цьому випадку  $ED_{50} = LD_{50}$  для перорального введення субстанції празиквантелу білим щурам [13].

Таким чином, за результатами проведених досліджень можливо зробити прогноз міри небезпеки субстанції празиквантелу згідно з класифікацією токсичності хімічних речовин І. І. Березовської [14].  $LD_{50}$  за внутрішньоочеревинного введення празиквантелу становить 564 мг/кг, що відповідає 3 класу токсичності (40–1 250 мг/кг); за внутрішньошлункового введення  $LD_{50} = 1 030$  мг/кг, що відповідає також 3 класу токсичності (151–5 000 мг/кг) [15]. Терапевтична доза для внутрішньошлункового введення празиквантелу ( $1/20$  від  $LD_{50}$ ) становить  $1 030 : 20 = 51,5$  мг/кг. З урахуванням коефіцієнта перерахунку 5,9 для людини терапевтична доза празиквантелу становить 8,73 мг/кг [14].

За середньої маси тіла людини 60–80 кг така доза для внутрішньошлункового введення становить 524–697 мг (3 клас токсичності), що практично відповідає рекомендованій дозі для зареєстрованого в Україні перорального препарату празиквантелу Більтрицид (Німеччина), в пігулці якого знаходиться 600 мг лікарської речовини.

На підставі одержаних результатів досліджень гострої токсичності празиквантелу за внутрішньоочеревинного введення ( $LD_{50} = 564$  мг/кг) і середньої маси лабораторних щурів (200 г) проведено розрахунок дози празиквантелу в зовнішній і ректальній лікарських формах для вивчення її нешкідливості, яка становить 12%. З урахуванням одержаних даних для подальших досліджень нами використана 12%-ва мазь празиквантелу на модельній вазелін–ланоліновій основі. Результати наведено в табл. 1.

**Результати визначення гострої токсичності 12%-ї мазі з  
празиквантелом за нашкірної разової аплікації**

Максимально допустимий об'єм мазі, мл	Доза празиквантелу в мазі, мг	Кількість щурів			Летальність, %
		загальна	загиблих	що вижили	
3 мл	360	8	0	8	0

Як випливає з наведених результатів, одноразова нашкірна аплікація 3 мл мазі для зовнішнього застосування з празиквантелом щурам масою 180–200 г у дозі 1 200 мг/кг не викликає загибелі ні однієї з шести тварин групи протягом доби.

У табл. 2 подано результати вивчення гострої токсичності ректальних супозиторіїв з празиквантелом на модельній ліпофільній (масло какао) основі.

**Результати визначення гострої токсичності ректальних  
супозиторіїв з празиквантелом у дозі 120 мг (12%)**

Максимально допустимий об'єм, мл	Доза празиквантелу в 1 супозиторії, мг	Кількість щурів			Летальність, %
		загальна	загиблих	що вижили	
0,5	60	6	0	6	0

Дані табл. 2 свідчать, що одноразове ректальне введення максимально допустимого об'єму 0,5 мл 12%-го розплавленого супозиторія щурам масою 180 г у дозі 564 мг/кг не спричинює загибелі ні однієї з 6 тварин групи протягом доби.

Також слід зазначити, що видимих патологічних змін зовнішнього вигляду і поведінки експериментальних тварин на 1, 7 і 14-ту добу після одноразового ректального і нашкірного введення празиквантелу у формі супозиторіїв і мазі не зареєстровано.

Результати динаміки зміни маси тіла тварин в експерименті подано в табл. 3.

**Динаміка зміни маси тіла щурів після одноразового  
введення аплікаційних м'яких лікарських форм празиквантелу**

Вид лікарської форми празиквантелу	Маса тіла лабораторних щурів, г		
	початковий стан, г (M ± m)	7-ма доба, г (M ± m)	14-та доба, г (M ± m)
Супозиторії ректальні	180,7 ± 2,3	183,12 ± 4,23	166,2 ± 4,15
Мазь для зовнішнього застосування	181,4 ± 3,6	184,86 ± 4,82	181,0 ± 4,16

Результати досліджень свідчать, що динаміка зміни маси тіла лабораторних тварин після одноразового введення аплікаційних лікарських форм празиквантелу знаходиться у межах фізіологічної норми.

У рамках дослідження вивчали вплив мазі й ректальних супозиторіїв із празиквантелом на ректальну температуру, електрокардіограму (реєстрація голчастими електродами за допомогою одноканального переносного електрокардіографа), біохімічні показники крові (аланінамінотрансфераза АЛТ, тимолова проба, загальний білок, креатинін), електролітний склад плазми крові (K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>) і морфологічні показники периферичної крові (еритроцити, гемоглобін, швидкість осідання еритроцитів). Після забою передозуванням ефіру здійснювали скрінігове патоморфологічне дослідження основних органів і систем дослідних лабораторних тварин. Статистично значущої різниці порівнянно з контрольною групою, яка отримувала за аналогічною методикою ректальні й зовнішні лікарські форми-плацебо, не виявлено.

## Висновки

1. Встановлено, що празиквантел за внутрішньоочеревиного ( $LD_{50} = 564$  мг/кг) і внутрішньошлункового ( $LD_{50} = 1\,030$  мг/кг) введення білим щурам по мірі токсичності субстанції належить до речовин малонебезпечних (3 клас токсичності).

2. Вивчення гострої токсичності модельних м'яких аплікаційних лікарських засобів празиквантелу в субтоксичних дозах виявило, що одноразове нанесення мазі для зовнішнього застосування і введення супозиторіїв ректальних із цією лікарською речовиною в максимально допустимих об'ємах не призводить до загибелі лабораторних тварин і не чинить негативного впливу на параметри їхнього гомеостазу.

3. Виявлено, що лікарські форми празиквантелу для зовнішнього і ректального використання менш токсичні, чим пероральні таблетки і належать до практично нетоксичних речовин.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Юцковская Я. А., Кусая Н. В., Ключник С. Б. Обоснование патогенетической терапии при акнеподобных дерматозах, осложненных клещевой инвазией *Demodex folliculorum* // Клин. дерматол. венерол. – 2010. – № 3. – С. 60–63.
2. Коган Б. Г., Головченко Д. Я. Современные подходы в комплексном лечении пациентов с демодекозом и розовыми угрями // Клин. иммунология. Аллергология. Инфектология: Вид. для врача-практика. – 2011. – № 1. – С. 38–43.
3. Хилькевич Н. Д., Качук М. В., Музыченко А. П. и др. Демодекоз как дерматологическая проблема // Военная медицина. – 2012. – № 3. – С. 151–153.
4. Малярчук А. П., Соколова Т. В., Лопатина Ю. В., Киселева А. В. Противочесоточные препараты: критерии выбора // Клин. дерматол. венерол. – 2011. – № 2. – С. 53–59.
5. Компендиум 2013 – лекарственные препараты / Под ред. В. Н. Коваленко. – К.: Морион, 2012. – 2573 с.
6. Елистратова Л. Л., Потатуркина-Нестерова Н. И., Нестеров А. С. Современное состояние проблемы демодекоза // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 9. – С. 67–69.
7. Максименя Г. Г. Основные современные антипротозойные и антигельминтные средства // Военная медицина. – 2012. – № 2. – С. 30–34.
8. Сулим А. Г. Празиквантел у лікуванні хворих на розацеа, демодекоз та періоральний дерматит // Вісн. Сумського держ. ун-ту. Серія Медицина. – 2010. – № 1. – С. 158–161.
9. Музыченко А. П. Роль клещей *Demodex folliculorum* в патогенезе розацеа // Мед. панорама. – 2012. – № 1. – С. 23–25.
10. Прозоровский В. Б., Прозоровская М. П., Демченко В. М. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки // Фармакол. токсикол. – 1978. – № 4. – С. 497–502.
11. Hayes A. W. Principles and Methods of toxicology. – New York: Raven Press, 1987. – P. 17–19.
12. Терёшкина О. И. Особенности доклинической оценки безопасности вспомогательных веществ в составе лекарственного препарата // Токсикол. вестн. – 2010. – № 5. – С. 23–26.
13. Наказ МОЗ України № 944 від 2009 року «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» (зареєстровано в Міністерстві юстиції України 19. 01. 2010 р. за № 53/17348) / МОЗ України. – Офіц. вид. – К. – Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/z0053-10>
14. Березовская И. В. Прогноз безопасности лекарственных средств в доклинических токсикологических исследованиях // Токсикол. вестн. – 2010. – № 5. – С. 17–22.
15. Березовская И. В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения // Хим. фарм. журн. – 2003. – № 3. – С. 32–34.

Надійшла до редакції 17. 09. 2015.

И. Л. Кечин<sup>1</sup>, Д. М. Романина<sup>1</sup>, В. В. Гладышев<sup>2</sup>, А. Д. Дюдюн<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Запорожский государственный медицинский университет

<sup>2</sup> ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

## ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРАЗИКВАНТЕЛА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПУТЯХ ВВЕДЕНИЯ

**Ключевые слова:** празиквантел, демодекоз, токсичность, мазь, суппозитории

### АННОТАЦИЯ

При наличии демодекоза у больных акнеподобными дерматозами течение заболевания характеризуется большей выраженностью клинических симптомов и достоверным увеличением частоты рецидивов. Празиквантел – вещество, проявляющее антипаразитарный эффект в отношении трематод, цестод. Исследования, проведенные отечественными исследователями, выявили наличие у празиквантела антидемодексного эффекта.

В Украине празиквантел зарегистрирован в форме пероральных таблеток, длительный прием которых вызывает выраженные побочные явления со стороны желудочно-кишечного тракта. В связи с этим вызывает интерес использование альтернативных путей введения празиквантела.

Целью настоящей работы является изучение острой токсичности празиквантела при внутрибрюшинном, пероральном, ректальном и накожном введении.

Токсиметрические исследования проводили согласно порядка проведения доклинического изучения и экспертизы материалов доклинического изучения лекарственных средств.

Установлено, что празиквантел при внутрибрюшинном ( $LD_{50} = 564$  мг/кг) и внутривентральном ( $LD_{50} = 1030$  мг/кг) введении белым крысам по степени токсичности субстанции относится к веществам малоопасным (3 класс токсичности). Изучение острой токсичности модельных мягких аппликационных лекарственных средств празиквантела в субтоксических дозах свидетельствует, что однократное нанесение мази для наружного применения и введение суппозитория ректальных с этим лекарственным веществом в максимально допустимых объемах не приводит к гибели лабораторных животных и не оказывает негативного влияния на изучаемые параметры их гомеостаза. Выявлено, что лекарственные формы празиквантела для наружного и ректального использования менее токсичны, чем пероральные таблетки и относятся к практически нетоксичным веществам.

*I. L. Kechin<sup>1</sup>, D. M. Romanina<sup>1</sup>, V. V. Gladyshev<sup>1</sup>, A. D. Dudun<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Zaporizhzhia State Medical University

<sup>2</sup> Public Institution is the «Dnipropetrovsk Medical Academy of Ministry of Health of Ukraine»

## STUDY OF THE ACUTE TOXICITY OF THE PRAZIQUANTEL USING DIFFERENT ROUTS OF ADMINISTRATION

**Key words:** praziquantel, demodicosis, toxicity, ointment, suppositories

### ABSTRACT

Patients with similar to acne dermatosis have more strongly pronounced clinical symptoms and significant increase of relapses rate in case of the demodicosis presence. Praziquantel is an antiparasitic substance with activity regarding to flukes and cestodes. Investigations carried out by the domestic scientists exposed also a presence of the antidemodicotic effect.

In Ukraine praziquantel is registered in the form of the oral tablets long using of which provokes gastrointestinal side effects. In view of this fact usage of alternative praziquantel routs of administration draws interest.

The aim of this work is study of the acute toxicity of the praziquantel using intraperitoneal, oral, rectal and topical administration.

Investigations of the toxicity were carried out according to the order of preclinical study and data examination of the preclinical study of drugs.

It was established that praziquantel intraperitoneal ( $LD_{50} = 564$  mg/kg) and intragastric ( $LD_{50} = 1030$  mg/kg) administration in white rats by the extent of toxicity is a slightly dangerous substance (3 toxicity class). Study of the acute toxicity of the model semisolid application dosage forms in subtoxic dose for external administration showed that single applying of the external ointment and rectal suppository with this active substance in the maximum allowable volume doesn't lead to the laboratory animal's death and doesn't negative influence on the examining parameters of their homeostasis. It is determined that praziquantel dosage forms for the external and rectal administration less toxic than oral tablets and are practically nontoxic substances.

*Электронна адреса для листування з авторами: gladishevvy@gmail.com*