

К.И. Усов, Г.Г. Юшков

## ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРЕПАРАТА «ПРОТУБ-3®» ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВВЕДЕНИИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия» (Ангарск)

Было проведено экспериментальное доклиническое исследование комбинированного противотуберкулезного препарата «Протуб-3®». В условиях проведенного исследования препарат «Протуб-3®» в дозе 8 мг/кг не вызвал фармакологического эффекта по всем регистрируемым показателям в эксперименте. Однако установлено, что в дозах, превышающих 8 мг/кг, препарат вызывает ряд дозозависимых фармакологических эффектов. К полученным оценочным эффектам препарата «Протуб-3®» можно отнести повышение ректальной температуры тела, систолического артериального давления, суммационно-порогового показателя, потребление кислорода и одновременное снижение выделяемого углекислого газа, уменьшение продолжительности гексеналового сна, уменьшение ЧСС, подавление спонтанной двигательной активности, исследовательского рефлекса у крыс.

**Ключевые слова:** противотуберкулезный препарат, комбинированный препарат, изониазид, рифампицин, пиразинамид, синтетическое антибактериальное средство, ансамицины, побочные реакции, фармакологический эффект

## PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF COMBINED ANTITUBERCULAR PREPARATION "PROTUB-3®" AT SINGLE INTRODUCTION IN EXPERIMENTAL CONDITIONS

K.I. Usov, G.G. Yushkov

Angarsk State Technical Academy, Angarsk

An experimental preclinical study of combined antitubercular preparation "Protub-3®" was conducted. Under conditions of performed research "Protub-3®" in dose 8 mg/kg didn't cause pharmacological effect in all registered indices in experiment. But it was established that the preparation in doses more than 8 mg/kg caused a number of dose-dependent pharmacological effects. Increase of rectal temperature, systolic arterial pressure, sum-liminal index, consumption of oxygen and simultaneous decrease of carbonic gas emission, decrease of duration of hexenal sleep, decrease of heart rate, suppression of spontaneous motive activity, rats' research reflex can be related to the number of estimation effects of "Protub-3®".

**Key words:** antitubercular preparation, combined preparation, isoniazid, rifampicin, pirazinamid, synthetic antibacterial means, ansamicines, collateral reactions, pharmacological effect

Туберкулез является одной из важнейших проблем современного здравоохранения. В связи с появлением новых штаммов *M. tuberculosis*, на которые стандартные методы лечения монопрепаратами практически не действуют, необходим поиск эффективных комбинаций нескольких фармакологических средств с противотуберкулезной активностью в составе единой лекарственной формы, представляющей комбинированный противотуберкулезный препарат [1, 4].

Проблема эффективности противотуберкулезной терапии постоянно привлекает внимание фтизиатров, фармакологов. Это особенно актуально на современном этапе, когда отмечается рост заболеваемости туберкулезом, увеличение остро прогрессирующих лекарственно устойчивых форм заболевания. При этом снижается эффективность лечения больных туберкулезом и увеличивается смертность от него. Базисом противотуберкулезной терапии являются антибактериальные (противотуберкулезные) препараты (ПТП), оказывающие бактериостатическое, а порой и бактериолитическое действие на микобактерию туберкулеза. По рекомендации ВОЗ в настоящее время для лечения туберкулеза применяются 4–5 ПТП. У больных туберкулезом применение антибактериальных препаратов требуется длительно, в течение многих месяцев и даже лет. В этих условиях

длительного применения ПТП может создаться напряжение некоторых ферментативных систем, функций печени, почек и других органов [1, 6]. Это обуславливает развитие побочных реакций со стороны организма, ограничивает возможности врача в лечении больного. Данные ряда авторов свидетельствуют о нарастании частоты побочных реакций (ПР) на противотуберкулезные препараты [1, 4]. По данным различных авторов, частота ПР на ПТП колеблется в широких пределах – от 7 до 69 % [1]. Следствием развития непереносимости того либо иного ПТП является необходимость его замены, а порой и вовсе изменения всей схемы химиотерапии. Развитие ПР на ПТП снижает репаративные возможности организма, отрицательно влияет на его иммунорезистентность, негативно влияя на результаты терапии [1].

Изучение фармакологических эффектов с выявлением нежелательных, ПР организма на этапе доклинических исследований является очень важной задачей экспериментальной фармакологии. В общем под фармакологическим эффектом следует понимать изменения метаболизма и функции клеток, органов или систем организма, возникающие под влиянием лекарственного средства, результат последовательных изменений в функциях органов и систем организма.

**Целью настоящего исследования** являлось изучение фармакологических эффектов при однократном введении комбинированного ПТП «Протуб-3®» в условиях эксперимента на этапе доклинического исследования этого препарата.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Препарат «Протуб-3®» – это современный комбинированный противотуберкулезный препарат, предназначенный для проведения полихимиотерапии туберкулеза, производства ОАО «Фармасинтез» (г. Иркутск). Состав препарата отражен в таблице 1.

Комбинация изониазида, рифампицина, пиперазида в составе препарата «Протуб-3®» активна в отношении *Mycobacterium tuberculosis* на разных стадиях ее развития. Рифампицин – полусинтетический антибиотик из группы ансамицинов, блокирует ДНК-зависимую РНК-полимеразу. Изониазид угнетает синтез миколовой кислоты клеточной стенки микобактерий туберкулеза. Рифампицин и изониазид активны в отношении быстрорастущих внеклеточных микроорганизмов, оказывают бактерицидное действие на расположенных внутриклеточно возбудителей. Рифампицин активен также в отношении прерывисто-растущих форм *Mycobacterium tuberculosis*. В низких концентрациях действует бактерицидно, помимо микобактерий туберкулеза, на возбудителей бруцеллеза, легионеллеза, сыпного тифа, лепры, трахомы, в высоких концентрациях – на некоторые грамотрицательные микроорганизмы. Пиперазин

мид действует бактерицидно на внутриклеточные микобактерии, а также на *Mycobacterium tuberculosis* на разных стадиях ее развития, хорошо проникает в очаги туберкулезного поражения.

Исследование выполнено на нелинейных крысах М (самцах) и F (самках), подобранных по принципу функционального подобия, с массой 180–190 г, полученных из специализированного вивария (ветеринарное удостоверение 238 № 0019480). Исследование проведено в соответствии с этическими требованиями, изложенными в «Правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977) [3]. Содержание животных соответствовало СанПиН 2.1.2.12-18-2006 «Санитарные правила по обустройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Исследования выполнялись, согласно Правилам лабораторной практики (Приказ Минздравсоцразвития Российской Федерации № 708н от 23 августа 2010 г.). Работы выполнены, согласно рекомендациям Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств [2].

Животные были разделены на группы опыта ( $n = 10$  М;  $n = 10$  F), динамического ( $n = 10$  М;  $n = 10$  F) и фонового контроля (интактные животные). Подопытным крысам препарат «Протуб-3®» вводили внутрижелудочно в трех исследуемых дозах – 8, 50 и 175 мг/кг, однократно, в виде водной взвеси с помощью металлического атравматического зонда. Дозирование препарата вели по изониазиду. Контрольным

Таблица 1

Состав препарата «Протуб-3®»

№ п/п	Вещество	Количество, мг
<b>1.</b>	<b>Активные вещества ядра – фармакологическая группа</b>	
1.1.	Изониазид – синтетическое антибактериальное средство	150,00
1.2.	Рифампицин – ансамицины	225,00
1.3.	Пиперазид – синтетическое антибактериальное средство	750,00
<b>2.</b>	<b>Вспомогательные вещества ядра – назначение</b>	
2.1.	Целлюлоза микрокристаллическая – связующее	55,00
2.2.	Твин-80 (полисорбат 80) – дезинтегратор	0,50
2.3.	Поливинилпирролидон среднемолекулярный (коллодон-25) – связующее	23,90
2.4.	Кремния диоксид коллоидный (аэрозоль) – скользящее	9,20
2.5.	Натрия крахмала гликолат (примогель) – дезинтегратор	40,20
2.6.	Магния стеарат – смазывающее	5,60
2.7.	Магния гидросиликат (тальк) – скользящее	5,40
<b>3.</b>	<b>Вещества оболочки – назначение</b>	
3.1.	Гидроксипропилметилцеллюлоза 15 – пленкообразователь	25,00
3.2.	Полиэтиленгликоль 6000 – пластификатор	5,00
3.3.	Масло касторовое – пластификатор	1,00
3.4.	Магния гидросиликат (тальк) – скользящее	0,80
3.5.	Титана диоксид – краситель	1,20
3.6.	Железа оксид желтый – краситель	1,50
3.7.	Железа оксид красный – краситель	0,50

животным вводили внутривенно дистиллированную воду в эквивалентном объёме введенного количества препарата. Перед началом эксперимента стадии эстрального цикла у крыс-F определялись при исследовании вагинального мазка с выделением стадий эстрального цикла (Becker et al, 2005).

В качестве показателей общего состояния животных были выбраны: масса тела; потребление воды; общий обмен у крыс с использованием прибора «Spirolyt-2»; ректальная температура тела у крыс – с помощью электронного термометра «Омрон»; продолжительность гексеналового сна, введением 2% раствора гексенала в дозе 90 мг/кг внутривенно; спонтанная двигательная активность (СДА) крыс регистрировалась автоматически до и после окончания введения препаратов [3]; деятельность ЦНС оценивали по суммационно-пороговому показателю; оценка двигательной и ориентировочно-исследовательской активности (норковый рефлекс у крыс) проводилась по методу Г.З. Суфиновой (2009); электрокардиографию (ЭКГ) и ЧСС у крыс проводили на ненаркотизированных животных. ЭКГ регистрировали во 2-м стандартном отведении, спустя несколько минут после фиксации животного [3]; систолическое артериальное давление (САД) у крыс измеряли с помощью прибора «Регистратор артериального давления у животных». Обследование животных и регистрацию показателей вели на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е, 21-е сутки от начала введения препарата «Протуб-3®».

Статистический анализ полученных результатов проводили в табличном процессоре Microsoft Office Excel 2013. Статистическую значимость различий данных опыта и контроля оценивали с использованием параметрического t-критерия Стьюдента. Различия между экспериментальными данными, полученными в группах опыта и контроля, считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При введении препарата «Протуб-3®» в дозе 175 мг/кг отмечено снижение прироста массы тела, как у крыс-М (на 3-и сутки –  $154,2 \pm 0,7$  г; на 7-е сутки –  $162,0 \pm 0,6$  г; на 14-е сутки –  $166,8 \pm 0,6$  г; на 21-е сутки –  $175,4 \pm 0,7$  г; в динамическом контроле, соответственно,  $172,4 \pm 0,5$  г,  $173,7 \pm 0,6$  г,  $175,3 \pm 0,6$  г и  $179,6 \pm 0,6$  г;  $p < 0,05$ ), так и у крыс-F (на 3-и сутки –  $151,2 \pm 0,7$  г; на 7-е сутки –  $162,0 \pm 0,7$  г; на 14-е сутки –  $165,1 \pm 0,6$  г; на 21-е сутки –  $178,4 \pm 0,5$  г; в динамическом контроле, соответственно,  $168,9 \pm 0,6$  г,  $169,6 \pm 0,6$  г,  $171,5 \pm 0,5$  г и  $175,4 \pm 0,6$  г;  $p < 0,05$ ) при некотором увеличении потребления воды, с нормализацией показателей к 21-м суткам. При введении препарата в дозе 50 мг/кг

динамика была той же, но изменения величин показателей не выходили за границы тенденций. Препарат в дозе 8 мг/кг не вызывал статистически достоверных отклонений показателей прироста массы тела и потребления воды от аналогичных показателей животных из группы динамического контроля.

Потребление кислорода при введении препарата «Протуб-3®» в дозе 175 мг/кг повысилось на 1–3-и сутки, но к 7-м суткам показатель нормализовался до уровня динамического и фонового контроля. Для крыс-М (на 1-е сутки –  $26,1 \pm 0,15$  %; на 3-и сутки –  $24,6 \pm 0,14$  %; в динамическом контроле, соответственно,  $18,5 \pm 0,10$  % и  $18,5 \pm 0,10$  %;  $p < 0,05$ ), для крыс-F (на 1-е сутки –  $25,8 \pm 0,16$  %; на 3-и сутки –  $24,0 \pm 0,12$  %; в динамическом контроле, соответственно,  $18,2 \pm 0,08$  % и  $18,4 \pm 0,10$  %;  $p < 0,05$ ). Содержание углекислого газа в выдыхаемом воздухе синхронно статистически достоверно при  $p < 0,05$  снижалось до  $1,1 \pm 0,07$  % (крысы-М) и  $1,2 \pm 0,08$  % (крысы-F) на 3-и сутки (в динамическом контроле на тот же срок обследования животных – до  $1,8 \pm 0,04$  % и  $1,7 \pm 0,05$  % соответственно). Некоторое статистически достоверное повышение потребления кислорода при  $p < 0,05$  отмечено и при введении препарата в дозе 50 мг/кг: до  $20,2 \pm 0,1$  % у крыс-М и до  $19,4 \pm 0,08$  % у крыс-F на 1-е сутки обследования, но без отчетливого снижения углекислого газа. Препарат «Протуб-3®» в дозе 8 мг/кг статистически достоверных отклонений от величин динамического и фонового контроля не вызывал.

Ректальная температура у подопытных животных повысилась на 3-и сутки при введении им препарата «Протуб-3®» в дозе 175 мг/кг. Препарат в дозах 50 мг/кг и 8 мг/кг повышения температуры тела не вызывал (табл. 2).

Систолическое артериальное давление при введении препарата в дозе 175 мг/кг повышалось на 1–7-е сутки обследования, но в дальнейшем нормализовалось. Для крыс-М пик пришелся на 3-и сутки –  $134,6 \pm 1,2$  мм рт. ст., в динамическом контроле –  $111,8 \pm 1,0$  мм рт. ст. ( $p < 0,05$ ); для крыс-F – также на 3-и сутки –  $136,7 \pm 1,2$  мм рт. ст., в динамическом контроле –  $112,2 \pm 0,8$  мм рт. ст. ( $p < 0,05$ ). Препарат «Протуб-3®» в дозе 50 мг/кг и 8 мг/кг повышения систолического артериального давления не вызывал. Частота сердечных сокращений на 3-и сутки при дозе 175 мг/кг несколько снижалась: для крыс-М –  $473,6 \pm 7,6$  уд./мин, в динамическом контроле –  $494,8 \pm 2,7$  уд./мин ( $p < 0,05$ ); для крыс-F –  $468,1 \pm 6,6$  уд./мин, в динамическом контроле –  $495,2 \pm 2,8$  уд./мин ( $p < 0,05$ ).

Суммационно-пороговый показатель (СПП) статистически достоверно повышался ( $p < 0,05$ ) при введении препарата «Протуб-3®» в дозах 175 мг/кг и

**Таблица 2**  
Ректальная температура (°C) у крыс при введении препарата «Протуб-3®» на 3-и сутки обследования животных

Доза препарата	Интактные крысы-М	Интактные крысы-F	Подопытные крысы-М	Подопытные крысы-F
175 мг/кг	$36,3 \pm 0,1$	$36,4 \pm 0,1$	$39,6 \pm 0,1^*$	$39,7 \pm 0,1^*$
Динамический контроль (крысы)			$36,3 \pm 0,1$	$36,4 \pm 0,1$

Примечание: \* – статистически достоверно при  $p < 0,05$ .

СПП и время гексеналового сна у крыс на 1-е и 3-и сутки обследования

Регистрируемый показатель, ед. изм.	Доза препарата	Интактные крысы (фон)		Подопытные крысы			
				1-е сутки обследования		3-и сутки обследования	
		М	Ф	М	Ф	М	Ф
СПП, В	175 мг/кг	7,1 ± 0,5	7,3 ± 0,5	9,6 ± 0,8	10,1 ± 0,8	13,6 ± 0,9	12,0 ± 0,8
	50 мг/кг	7,1 ± 0,5	7,1 ± 0,5	8,3 ± 0,4	8,4 ± 0,5	9,5 ± 0,6	9,7 ± 0,7
Динамический контроль	вода	7,1 ± 0,4	7,6 ± 0,4	7,2 ± 0,3	7,5 ± 0,5	7,1 ± 0,4	7,4 ± 0,2
Время гексеналового сна, мин	175 мг/кг	39,3 ± 0,5	38,4 ± 0,5	30,3 ± 0,9	31,0 ± 1,0	33,6 ± 0,8	34,5 ± 0,9
Динамический контроль	вода	39,4 ± 0,5	38,6 ± 0,6	39,2 ± 0,6	38,5 ± 0,4	38,3 ± 0,7	38,0 ± 0,6

50 мг/кг на 1–3-и сутки, но в дальнейшем нормализовался (табл. 3). Препарат «Протуб-3®» в дозе 8 мг/кг не вызывал изменений величин показателя.

Продолжительность гексеналового сна на 1–3-и сутки статистически достоверно снижалась ( $p < 0,05$ ) при дозах 175 и 50 мг/кг (табл. 3). Препарат «Протуб-3®» в дозе 8 мг/кг статистически достоверных отклонений от величин динамического и фонового контроля не вызывал.

Спонтанная двигательная активность подопытных крыс снижалась на 1-е, 3-и сутки обследования при введении препарата «Протуб-3®» в дозе 175 мг/кг: для крыс-М на 1-е сутки – 70,9 ± 10,0 перем./3 мин, на 3-и сутки – 87,2 ± 8,4 перем./3 мин, в динамическом контроле – соответственно, 114,2 ± 6,4 перем./3 мин и 112,6 ± 6,1 перем./3 мин ( $p < 0,05$ ); для крыс-Ф на 1-е сутки – 73,4 ± 9,1 перем./3 мин, на 3-и сутки – 85,8 ± 6,2 перем./3 мин, в динамическом контроле – соответственно, 116,3 ± 4,5 % и 113,5 ± 5,6 % ( $p < 0,05$ ). Исследовательский рефлекс подавлялся при дозах 175 мг/кг (для крыс-М пик на 1-е сутки (2,0 ± 0,7 загл./3 мин), в динамическом контроле – 6,9 ± 0,0 загл./3 мин ( $p < 0,05$ ); для крыс-Ф пик на 1-е сутки – 2,6 ± 0,8 загл./3 мин, в динамическом контроле – 7,7 ± 0,4 загл./3 мин ( $p < 0,05$ )) и 50 мг/кг на 1-е и 3-и сутки обследования. В дальнейшем же показатель приближался к динамическому и фоновому контролю. Препарат «Протуб-3®» в дозе 8 мг/кг статистически достоверных отклонений от величин динамического и фонового контроля не вызывал.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в условиях проведенного исследования препарат «Протуб-3®» в дозе 8 мг/кг (близкой к дозе, которая используется в клинической практике) не вызвал фармакологического эффекта по всем регистрируемым показателям в эксперименте, что свидетельствует о надежности препарата в дозе 8 мг/кг. По нашим данным [5], состояние переживших острую интоксикацию, препаратом «Протуб-3®», животных позволяет сделать заключение о приемлемой переносимости и малотоксичности препарата «Протуб-3®». Подтверждением тому служит и возможность отнесения препарата «Протуб-3®» к малотоксичным по Hodge и Sterner. Положительно характеризует

препарат «Протуб-3®» и отсутствие различий фармакологических эффектов по полу животных.

Однако следует отметить, что в условиях проведенного эксперимента были получены дозозависимые фармакологические эффекты при введении препарата «Протуб-3®» в превышающих дозах 175 мг/кг и 50 мг/кг, пик проявления фармакологических эффектов на введение препарата «Протуб-3®» был отмечен на 3-и сутки обследования подопытных животных. К полученным оценочным эффектам препарата «Протуб-3®» можно отнести повышение ректальной температуры тела, систолического артериального давления, СПП, потребление кислорода и одновременное снижение выделяемого углекислого газа, уменьшение продолжительности гексеналового сна, уменьшение ЧСС, подавление спонтанной двигательной активности, исследовательского рефлекса у крыс.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Вольф С.Б. Нежелательные проявления полихимиотерапии туберкулеза // Журнал ГрГМУ. – 2006. – № 1. – С. 61–63.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
3. Руководство к практическим занятиям по физиологии человека и животных: учеб. пособие / Под ред. И.П. Ашмарина, А.А. Каменского, Г.С. Суховой. – М.: МГУ, 2004. – 256 с.
4. Мишин В.Ю., Васильева И.А., Макеева В.Г. Частота, характер и диагностика побочных реакций у больных туберкулезом легких при химиотерапии основными препаратами // Проблемы туберкулеза. – 2003. – № 7. – С. 24–29.
5. Усов К.И., Юшков Г.Г., Расулов М.М., Гуцин А.С. Острая токсичность противотуберкулезных препаратов содержащих и не содержащих пиридоксина гидрохлорид // Паллиативная медицина и реабилитация. – 2012. – № 2. – С. 30–32.
6. Усов К.И., Юшков Г.Г., Шаура Ю.Ю., Гуцин А.С. Токсикологическая оценка комбинированного противотуберкулезного препарата «Протуб-2®» // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 4. – С. 201–204.

#### Сведения об авторах

**Усов Константин Ильич** – кандидат биологических наук, руководитель отдела токсикологии НИИ биофизики ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия» (665830, Иркутская область, г. Ангарск, ул. Партизанская, д. 2; тел.: 8 (3955) 95-70-68; e-mail: mashan\_rivr@mail.ru).

**Юшков Геннадий Георгиевич** – кандидат медицинских наук, профессор кафедры экологии и безопасности деятельности человека ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия»