

## ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ЦИТРАТУ МІДІ ЯК ПЕРСПЕКТИВНОГО СКЛАДНИКА АНТИМІКРОБНОГО ЗАСОБУ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

**Вступ.** Мідь проявляє значну бактеріостатичну та бактерицидну активність. Деякі сполуки міді не викликають селекцію резистентних штамів мікроорганізмів, що дозволяє розглядати цей метал, як перспективну складову антимікробних засобів. Мідь, навіть в мінімальних дозах, значно підсилює властивості срібла. Це вказує на каталітичні властивості міді по відношенню до срібла в біохімічних реакціях, де ці метали виступають як синергісти. Їх сумісна дія на мікроорганізми значно вища, ніж у срібла і міді окремо, що є визначним фактором при виборі активних фармацевтичних інгредієнтів для наукового пошуку щодо розробки препаратів антимікробної дії з цитратами металів.

**Мета.** Дослідження гострої токсичності цитрату міді в експерименті на щурах.

**Матеріали і методи.** Гостру токсичність цитрату міді з метою визначення ЛД<sub>50</sub> досліджували за загальноприйнятною методикою для даного класу фармацевтичних препаратів шляхом одноразового внутрішньо шлункового введення.

**Результати.** Симптоми інтоксикації спостерігалися після введення препарату у дозах вищих 130 мг Cu / кг маси тіла. Вираження симптомів інтоксикації зростало із збільшенням дози препарату. Летальність тварин наступала протягом двох діб від початку введення препарату. Через 3-4 доби стан тварин, які вижили не відрізнявся від фізіологічно здорових щурів.

**Висновки.** В ході проведеного експерименту було встановлено летальну дозу препарату, яка становить 553,4 мг цитрату міді /кг маси тіла, а також було визначено токсичну дозу, що зумовлює загибель 50 % цих щурів (DL<sub>50</sub>), яка становить 173,4 мг цитрату міді /кг маси тіла щура.

**Ключові слова:** гостра токсичність, цитрат міді.

**Вступ.** Розробка нових фармацевтичних препаратів можлива лише після ретельного вивчення всіх складових даного процесу. Інформація, одержана при дослідженнях в ході фармацевтичної розробки, може служити основою для управління ризиками для якості. Адже якість не може бути перевірена в препаратах; тобто, якість має бути закладена при розробці. Важливим етапом вивчення активних фармацевтичних інгредієнтів є визначення їх токсичності. На кафедрі аптечної та промислової технології ліків НМУ ім.О.О.Богомольця у співпраці з кафедрою технології ліків ДВНЗ «Тернопільським державним медичним університетом імені І.Я. Горбачевського» проводиться науковий пошук щодо розробки препаратів антимікробної дії з цитратами металів срібла та міді.

Мідь, навіть в мінімальних дозах, значно підсилює властивості срібла. Це вказує на каталітичні властивості міді по відношенню до срібла в біохімічних реакціях, де ці метали виступають як синергісти. Їх сумісна дія на мікроорганізми значно вища, ніж у срібла і міді окремо. Сумісне використання срібла і міді для отримання бактерицидних водних розчинів відоме з давніх часів. Наприклад, дослідниками шумерської культури знайдені металеві посудини, виготовлені з комбінації металів - срібла і міді, які використовувалися для лікувальної мети [1,3].

Мідь проявляє значну бактериостатичну та бактерицидну активність завдяки ушкодженню плазматичних мембран, нуклеїнових кислот та деструкції сульфгідрильних груп протеїнів [4]. Деякі сполуки міді не викликають селекцію резистентних штамів мікроорганізмів, що дозволяє розглядати цей метал, як перспективну складову антимікробних засобів.

**Мета.** Дослідження гострої токсичності цитрату міді в експерименті на тваринах.

**Матеріали і методи.** Дослідження гострої токсичності цитрату міді проводили в Інституті біології тварин НААН під керівництвом професора, член-кореспондента НААН Федорука Р.С. Експерименти, в яких використовували тварин проводили у відповідності до Міжнародних вимог про гуманне ставлення до тварин та виконанням вимог Директиви 86/609/ЄЕС щодо питання захисту тварин. Усіх дослідних тварин утримували у стандартних санітарних умовах. Під час експерименту тварини знаходилися у віварії при температурі 19-24оС, вологості не більше 50%, природному світловому режимі «день-ніч», у стандартних клітках, на збалансованому харчовому раціоні. Дослідження проведено на 5 групах тварин по 6 щурів у кожній, віком 3 місяці з вагою 121-128 г. Розчин цитрату міді (1,8 г Cu/л) вводили внутрішньошлунково з допомогою зонду згідно до методики описаної Коцюмбасом І. Я. У зв'язку з низькою токсичністю розчину, цитрат міді вводили кількаразово з інтервалом між введеннями 1,5 год. Розрахунок DL50 проводили за методом, що описаний Г. Кербером.

Для вираховування DL50 (DE50) використовуються безпосередні результати експерименту. У кожній групі повинно бути однакове число тварин. Кожна група має складатися із 6 тварин. Достатньо, щоб було досліджено всього 4-5 доз, які включають, з одного боку, дозу, що не викликає загибелі (ефекту) ні в одній тварині в групі, та, з другого — дозу, яка викликає загибель (ефект) у всіх тварин групи. Визначення DL50 (DE50) проводять за формулою:

$$DL50 (DE50) = DL100 (DE100) - \Sigma(zd)/m,$$

де: DL100 (DE100) – доза речовини, яка вивчається, і викликає загибель (ефект, який вираховується) у всій групі тварин;

d – інтервал між кожними двома суміжними дозами;

z – середньоарифметичне з числа тварин, які загинули, або у котрих спостерігалася врахована реакція під впливом двох суміжних доз;

m – число тварин у кожній групі.

Статистичні висновки при порівнянні рядів експериментальних даних отримували на основі однофакторного дисперсійного аналізу [2].

**Результати та їх обговорення.** Симптоми інтоксикації у вигляді настовбурчення та матовість шерсті, пригнічення рухливості, підвищення частоти дихання спостерігалися після введення препарату у дозах вищих 130 мг Cu/kg маси тіла. Вираження симптомів інтоксикації зростало із збільшенням дози препарату. Летальність тварин наступала протягом двох діб від початку введення препарату. Через 3-4 доби стан тварин, які вижили не відрізнявся від фізіологічно здорових щурів. Спостереження проводились протягом 14 діб після введення препарату(табл.1).

Протокол дослідження гострої токсичності цитрату міді (1,8 г/л)

Дата	Група	№	Вага щура	Доза мг/кг	Час загибелі (дата)	Кількість щурів, які вижили/ кількість щурів, які загинули
24.02.2015	I	1	124	86,9		6/0
		2	125			
		3	121			
		4	126			
		5	123			
		6	127			
24.02.2015	II	7	128	127,0		4/2
		8	124		19 <sup>00</sup> (24.02)	
		9	127			
		10	129			
		11	128		15 <sup>00</sup> (25.02)	
		12	126			
24.02.2015	III	13	124	172,6	16 <sup>00</sup> (24.02)	3/3
		14	126			
		15	128		16 <sup>30</sup> (25.02)	
		16	125			
		17	125			
		18	122		17 <sup>31</sup> (26.02)	
12.02.2015	IV	19	124	216,4	15 <sup>00</sup> (12.02)	2/4
		20	123			
		21	126			
		22	125		12 <sup>30</sup> (13.02)	
		23	125		17 <sup>00</sup> (13.02)	
		24	123		14 <sup>00</sup> (12.02)	
12.02.2015	V	25	122	265,6	10 <sup>00</sup> (13.02)	0/6

Розрахунок DL50 проводили за методом, що описаний Г. Кербером (табл. 2)

Розрахунок DL50 за методом Г. Кербера

Група	I	II	III	IV	V
Доза, мг/кг	86,9	127,0	172,6	216,4	265,6
Вижило	6	4	3	2	0
Загинуло	0	2	3	4	6
z (середнє з тварин, що загинули від суміжних доз)	1	2,5	3,5	5,0	
d (інтервал між суміжними введеннями, мг)	40,1	45,6	43,8	49,2	
zd	40,1	114,0	153,3	246,0	

M=6

DL100=265,6 мг/кг;  $\sum(zd)=553,4$ ;

**Висновки.** В ході проведеного експерименту було встановлено летальну дозу препарату, яка становить 553,4 мг цитрату міді /кг маси тіла, а також було визначено токсичну дозу, що зумовлює загибель 50 % цих щурів (DL50), яка становить 173,4 мг цитрату міді /кг маси тіла щура.

#### Література

1. Бабушкина И.В., Бородулин В.Б., Коршунов Г.В. и соавт. Изучение антибактериального действия наночастиц меди и железа на клинические штаммы *Staphylococcus aureus* // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2010. – Т. 6, №1. – С. 11–14.
2. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов / В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: Ремедиум, 2000. – С. 349.
3. Borkow G., Gabbay J. Copper as a biocidal tool // *Curr. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 12, №18. – P. 2163–2175.
4. Metallic Copper as an Antimicrobial Surface. *Appl Environ Microbiol.* 2011 Mar. X / Gregor Grass / Gregor Grass, Christopher Rensing, Marc Solioz / Published online. - 2010 Dec. 30 –Vol. 77(5). - P. 1541–1547.

#### Ж.Н. Полова

### Исследование острой токсичности цитрата меди как перспективной составляющей антимикробного средства

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца

**Введение.** Медь проявляет значительное бактериостатическое и бактерицидное действие. Некоторые соединения меди не вызывают селекцию резистентных штаммов микроорганизмов, что позволяет рассматривать этот металл, как

перспективную составляющую антимикробных средств. Медь, даже в минимальных дозах, значительно усиливает свойства серебра. Это указывает на каталитические свойства меди по отношению к серебру в биохимических реакциях, где эти металлы выступают как синергисты. Их совместное действие на микроорганизмы значительно выше, чем у серебра и меди отдельно, что является определяющим фактором при выборе активных фармацевтических ингредиентов для научного поиска по разработке препаратов антимикробного действия с цитратами металлов.

**Цель.** Исследование острой токсичности цитрата меди в эксперименте на животных.

**Материалы и методы.** Острую токсичность цитрата меди с целью определения ЛД<sub>50</sub> исследовали по общепринятой методике для данного класса лекарственных препаратов путем однократного внутривидового введения.

**Результаты.** Симптомы интоксикации наблюдались после введения препарата в дозах выше 130 мг Cu / кг массы тела. Выраженность симптомов интоксикации усиливалась с увеличением дозы препарата. Летальность животных наступала в течение двух суток от начала введения препарата. Через 3-4 суток состояние выживших животных, не отличалось от физиологически здоровых крыс.

**Выводы.** В ходе проведенного эксперимента было установлено летальную дозу препарата, составляет 553,4 мг цитрата меди / кг массы тела, а также были определены токсическую дозу, что приводит к гибели 50% этих крыс (DL<sub>50</sub>), которая составляет 173,4 мг цитрата меди / кг крысы.

**Ключевые слова:** острая токсичность, цитрат меди.

*Z.N. Polova*

## **The research toxicological properties of silver citrate as an active pharmaceutical ingredient**

**O. O. Bogomolets National Medical University**

**Introduction.** Copper shows significant bacteriostatic and bactericidal activity. Some copper compounds do not cause selection of resistant strains of microorganisms, which can be considered the metal as a perspective component of antimicrobial agents. Copper, even in minimal doses, significantly enhances the properties of silver. This indicates the catalytic properties of copper relative to silver in biochemical reactions where these metals act as synergists. Their combined effect on microorganisms is significantly higher than silver and copper alone, which is an important factor when choosing active pharmaceutical ingredients for scientific research to develop drugs antimicrobial action of citrate metals.

**Purpose.** Study of acute toxicity of copper citrate in experimental animals.

**Materials and methods.** Acute toxicity of copper citrate to determine the LD<sub>50</sub> examined by the standard technique for this class of pharmaceuticals by a single intragastric administration.

**Results.** Symptoms of intoxication were observed after administration of the drug in higher doses of 130 mg Cu / kg body weight. Expression of intoxication symptoms increased with increasing dose. Mortality animals was advancing within two days from the start of administration. After 3-4 days of animal survivors did not differ physiologically from healthy rats.

**Conclusions.** During the experiment it was found lethal dose, which is 553.4 mg of copper citrate / kg body weight, as well as defined toxic dose that causes death in 50% of rats (DL<sub>50</sub>), which is 173.4 mg of copper citrate / kg rat.

**Key words:** acute toxicity, copper citrate.

**Відомості про автора:**

**Полова Жанна Миколаївна** - к.фарм.н., доцент кафедри аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Адреса: м. Київ, вул. Пушкінська 22, тел.: (044) 235-90-66.