

# Исследование хронической токсичности готовой лекарственной формы ГБ-115

Сорокина А. В., Алексеева С. В., Мирошкина И. А., Забродина В. В.,  
Колик Л. Г., Дурнев А. Д.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Аннотация.** Представлены результаты исследования хронической токсичности пептидного анксиолитика ГБ-115 в готовой лекарственной форме. Препарат в виде таблетированной массы вводили ежедневно перорально в течение 6 мес. аутбредным крысам и кроликам породы шиншилла в дозе 1 мг/кг, соответствующей терапевтической, и 50 мг/кг, превышающей терапевтическую дозу в 50 раз. Клинико-лабораторные и патогистологические исследования, выполненные в соответствии с общим протоколом, продемонстрировали отсутствие токсических эффектов готовой лекарственной формы ГБ-115. Исключение составили обратимые изменения показателей коагуляционной активности у крыс и кроликов, которые не были связаны с дозой готовой лекарственной формы ГБ-115.

**Ключевые слова:** ГБ-115; готовая лекарственная форма; хроническая токсичность; крысы; кролики

## Для цитирования:

Сорокина А.В., Алексеева С.В., Мирошкина И.А., Забродина В.В., Колик Л.Г., Дурнев А.Д. Исследование хронической токсичности готовой лекарственной формы ГБ-115 // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2019. – № 4. – С. 37–44. DOI: 10.37489/2587-7836-2019-4-37-44

## Study of chronic toxicity of the GB-115 drug formulation

Sorokina AV, Alekseeva SV, Miroshkina IA, Zabrodina VV, Kolik LG, Durnev AD  
FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

**Abstract.** The results of the study of chronic toxicity of the drug formulation of anxiolytic GB-115 are presented. The novel dipeptide in the form of a tablet mass was administered daily orally for 6 months to outbred rats and rabbits of the chinchilla breed at a dose of 1 mg/kg corresponding to the therapeutic and 50 mg/kg exceeding the therapeutic dose by 50 times. Clinical, laboratory and pathohistological studies performed in accordance with the General Protocol demonstrated the absence of toxic effects of the GB-115 drug formulation. The exception was the reversible changes in the coagulation activity in rats and rabbits, which were not associated with the dose of the GB-115 solid dosage form.

**Keywords:** GB-115; solid dosage form (tablets); chronic toxicity; rats; rabbits

## For citations:

Sorokina AV, Alekseeva SV, Miroshkina IA, Zabrodina VV, Kolik LG, Durnev AD. Study of chronic toxicity of the GB-115 drug formulation. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2019;4:37–44. (In Russ). DOI: 10.37489/2587-7836-2019-4-37-44

## Введение

Анксиолитики — одна из распространённых групп нейротропных препаратов, которые применяются в условиях как стационарного, так и амбулаторного лечения. В этих условиях большое значение приобретают вопросы безопасного использования лекарственных препаратов данной группы.

В последние годы активно ведутся исследования, направленные на разработку эффективных и безопасных анксиолитиков. Разработанное на основе эндогенного тетрапептида холецистокинина и фармакологически изученное в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» дипептидное соединение ГБ-115 (амид N-фенилгексаноил-глицил-L-триптофана) обладает выраженным анксиолитическим действием и проявляет антагонистические свойства по отношению к центральным холецистокининовым рецепторам в опытах *in vitro* и *in vivo* [1–3].

Исследование хронической токсичности является обязательной ступенью в доклинической оценке безопасности нового лекарственного средства [4]. Ранее, в соответствии с требованиями нормативных документов, было проведено доклиническое изучение безопасности фармакологической субстанции ГБ-115 [5]. С разработкой таблетированной формы ГБ-115

возникла необходимость доклинического изучения её безопасности.

Исследование хронической токсичности готовой лекарственной формы (ГЛФ) нового дипептидного соединения ГБ-115 явилось целью настоящей работы.

## Цель исследования

Целью данной работы стало изучение хронической токсичности ГЛФ ГБ-115.

Задачами работы стали выявление токсических эффектов ГЛФ ГБ-115 при ежедневном пероральном введении течение 6 мес. аутбредным крысам и кроликам породы шиншилла в дозе 1 мг/кг (соответствует терапевтической дозе) и 50 мг/кг (превышает терапевтическую дозу в 50 раз). Важно также было установить возможные органы-мишени токсического действия, оценить степень местнораздражающего действия при пероральном введении таблеточной массы, а также выявить возможность обратимости искомых токсических эффектов ГЛФ ГБ-115.

## Материалы и методы

При проведении исследования использовали таблеточную массу ГБ-115 серии № 010614, произве-

дённую Опытно-технологическим Отделом ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» 25.06.2014. Состав на одну таблетку: ГБ-115 — 0,001 г; лактозы — 0,067 г; микрокристаллической целлюлозы 102 — 0,029 г; гидроксипропилметилцеллюлозы 6 — 0,0015 г; магния стеарата — 0,0015 г. Расчёт дозы препарата вели по активному веществу [6].

Хроническую токсичность ГЛФ ГБ-115 оценивали на беспородных белых крысах обоего пола начальной массой 180–200 г и кроликах породы шиншилла обоего пола начальной массой 1,5–2 кг.

Все экспериментальные животные были получены из сертифицированных питомников и содержались в условиях вивария ФГБНУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова в соответствии с ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Работы с крысами и кроликами выполняли в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными [7] на основе стандартных операционных процедур, принятых в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», соответствующих правилам Европейской Конвенции ETS 123.

В исследование введено 64 крысы и 36 кроликов. ГЛФ ГБ-115 вводили крысам и кроликам перорально ежедневно в течение 6 мес. в дозе, соответствующей терапевтической — 1 мг/кг (2-я группа крыс и кроликов), а также в дозе, превышающей её в 50 раз — 50 мг/кг (3-я группа крыс и кроликов и 4-я «отставленная» группа крыс). Животным контрольных групп (1-я группа крыс и кроликов) перорально вводили 1 % раствор крахмала в тех же объёмах, что и при изучении субтоксической дозы.

Объём и продолжительность исследования, набор использованных методов, регистрируемых параметров и другие условия проведения исследования регламентировались соответствующими Руководствами [4, 8–10]. Забор биоматериала и его исследование выполнялось до начала эксперимента, через 3 мес. и 6 мес., не позже 24 ч после заключительного введения препарата. Исключение составили крысы «отставленной» группы, в которой забор материала и измерения выполняли также спустя 30 дней после заключительного введения ГЛФ ГБ-115.

Массу экспериментальных животных определяли еженедельно с помощью электронных весов SPU 601 (OHAUS Corp., США).

Изучение поведенческих реакций у крыс проводили по тесту «Открытое поле». Оценивали следующие характеристики: ориентировочно-исследовательские реакции (локомоторная или горизонтально-двигательная активность), количество пересечённых периферических секторов, вертикальная двигательная активность (количество вертикальных стоек), исследовательская активность «норковый рефлекс», а также эмоциональное состояние животных (количество фекальных болюсов, числа уринаций, груминговой активности, выходов в центр, время замирания).

Электрокардиографическое исследование проводили у крыс с использованием беспроводной системы Физиобелт (Нейроботикс, Россия) во втором стандартном отведении. Данные анализировали с использованием программного обеспечения LabChart (Австралия). На нефиксированное животное надевали жилетку с беспроводным усилителем и электродами.

Измерения ректальной температуры у крыс осуществляли с использованием ректального датчика на оборудовании производства компании ADInstrumentsLtd (Австралия).

Клиническое исследование крови у крыс и кроликов осуществляли с помощью автоматического гематологического анализатора «AbacusUniorvet», Австрия (крысы), автоматического гематологического анализатора «MINDRAY», Германия (кролики), компьютеризированной микроскопической системы «МЕКОС-Ц1». Определяли следующие гематологические показатели периферической крови: количество гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гематокрит, тромбокрит, средний объём эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, средняя концентрация гемоглобина в эритроците [11].

Исследование гемостаза у крыс и кроликов проводили с использованием коагулометра TS 4000 (США). Определяли активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), протромбиновое время (ПВ), количество фибриногена.

Биохимические исследования крови у крыс и кроликов осуществляли с помощью автоматического биохимического и иммуноферментного анализатора «ChemWell 2910 Combi» (США). Определяли содержание глюкозы, общего белка, альбумина, креатинина, мочевины, активность аланин- и аспартатамино-трансферазы.

Биохимические исследования мочи у крыс проводили с помощью анализатора мочи «HandUReader» (Венгрия) и автоматического биохимического и иммуноферментного анализатора «ChemWell 2910 Combi», США, используя наборы реагентов для диагностики «*in vitro*» производства компании «SPINREACTS.A.» (Испания). Определяли удельный вес, кислотность, содержание глюкозы, белка.

По завершении эксперимента всех животных вскрывали. В ходе патологоанатомического вскрытия, макроскопической оценки состояния важнейших органов и систем организма, а также после определения массовых коэффициентов наиболее реактивных внутренних органов были отобраны и зафиксированы в 10 % забуференном растворе формалина фрагменты внутренних органов (сердца, лёгких, трахеи, пищевода, желудка, тонкого и толстого кишечника, печени, поджелудочной железы, почек, мочевого пузыря, надпочечников, щитовидной железы, парашитовидной железы, тимуса, селезёнки, семенников и придатков семенников самцов, яичников и маточных труб самок крыс и кроликов). Головной мозг крыс фиксировали в

96 % этаноле. После окончания фиксации и стандартной гистологической проводки (автоматизированный тканевой процессор Leica TP1020, Германия) образцы заливали в парафиновые блоки (система заливки тканей с графическим дисплеем Tissue-Tek®ТЕК™, США). Готовили гистологические срезы толщиной 5 мкм (микротом ротационный Accu-Cut®SPM™, США), которые помещали на стекло с полилизинным покрытием (Menzel). Окрашивали галлоцианин-хромовыми квасцами с последующей докраской 1 % водным раствором эозина [12–14]. Срезы микрофотографировали (микроскоп Nikon eclipse 55i,) в проходящем свете.

Возможное местное раздражающее действие ГЛФ ГБ-115 при пероральном введении оценивали клинически, затем макроскопически при проведении патологоанатомического вскрытия и микроскопически при исследовании гистологических срезов пищевода, желудка, тонкой и толстой кишки.

Статистический анализ полученных данных проводили следующим образом. Нормальность распределения определяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. В случае нормального или близкого к нему распределения для определения значимости изменений использовали *t*-критерий Стьюдента, однофакторный дисперсионный анализ (в случае множественных сравнений) с последующей обработкой с помощью критерия Даннета. Полученные результаты описывали с помощью средних арифметических и их стандартных ошибок. В случае значительного отклонения распределения от нормального использовали непараметрические методы статистики: критерий Манна–Уитни, аналог дисперсионного анализа по Краскеллу–Уоллису с последующей обработкой методом множественных сравнений по Данну. Полученные результаты описывали с помощью медиан, нижнего и верхнего квартилей.

Статистическую значимость различий качественных признаков определяли с помощью метода точной вероятности Фишера с учётом множественных сравнений.

Результаты считались статистически значимыми, если значение *p* оказывалось меньшим или равным 0,05 [15, 16].

### Результаты и обсуждение

В результате проведённого исследования установлено, что длительное пероральное введение ГЛФ ГБ-115 крысам и кроликам обоего пола в дозах 1 и 50 мг/кг не вызывает изменений общего состояния и внешнего вида. В ходе эксперимента не погибло ни одно животное.

При наблюдении за динамикой массы тела экспериментальных крыс и кроликов, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозе 1 мг/кг, установлено, что она не отличалась от таковой у контрольных животных. При введении

ГЛФ ГБ-115 в дозе 50 мг/кг у крыс 3-й и 4-й групп не выявлено значимых различий в динамике массы и её прироста с животными контрольной группы, за исключением более низких (на 31 %) показателей прироста у самок 3-й группы на 4- и 5-м месяцах эксперимента. К окончанию эксперимента прирост массы тела крыс этой группы восстанавливался, а через месяц после отмены ГБ-115 (4-я группа) фиксировали значительное увеличение прироста массы в среднем на 62 % у самок, и на 97 % у самцов по сравнению с исходными данными. Наблюдение в течение 6 мес. за динамикой массы тела кроликов, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозе 50 мг/кг, не выявило значимых различий в массе тела и её приросте с контрольными животными.

Длительное пероральное введение ГЛФ ГБ-115 снижает потребление корма опытными крысами самками и, напротив, вызывает полифагию у опытных самцов. Препарат ГБ-115 не влияет на потребление воды опытными крысами.

ГБ-115 при ежедневном введении крысам в дозах 1 и 50 мг/кг не вызывает выраженных изменений поведения экспериментальных животных в тесте «открытое поле». Отмечалось повышение исследовательской активности у опытных крыс, ежедневно получавших готовую лекарственную форму препарата ГБ-115 в дозе 1 мг/кг через три месяца введения препарата, и угнетение вертикальной двигательной активности у животных после шестимесячного введения ГБ-115 в дозе 50 мг/кг. Через месяц после отмены препарата в дозе 50 мг/кг поведенческие реакции крыс отставленной группы не имели значимых различий с поведением контрольных животных.

Исследование фонового ЭКГ во втором стандартном отведении показало, что у всех крыс в начале эксперимента наблюдался нормальный синусовый ритм сокращений сердца (500–550 ударов/мин.). Изучение ЭКГ крыс экспериментальных групп, проведённое через 3,6 мес. от начала эксперимента, а также 7 мес. (только «отставленная» группа), позволило заключить, что ГЛФ ГБ-115 в обеих исследуемых дозах не вызывает значительных изменений электрокардиограмм. Установленные показатели не отличались от таковых у крыс контрольной группы.

Исследование ректальной температуры в начале эксперимента показало, что у всех крыс контрольной и экспериментальных групп, которым впоследствии вводили ГЛФ ГБ-115 в дозах 1 и 50 мг/кг, исследуемый показатель находился в пределах физиологической нормы, характерной для данного вида животных. В течение шести месяцев введения ГЛФ ГБ-115 у крыс экспериментальных групп не выявлено значимых различий по сравнению с таковыми показателями контрольных животных.

При изучении периферической крови крыс, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозе 1 мг/кг, у самцов через три месяца, а также у крыс обоего пола через 6 мес., регистрировали более высокий уровень гемоглоби-



на по сравнению с контрольными данными. Также у самцов этой группы, через три месяца введения ГБ-115, количество эритроцитов и, соответственно, гематокритное число (отношение общего уровня эритроцитов к показателю объёма плазмы) были значимо выше аналогичных показателей в контрольной группе. К окончанию эксперимента содержание тромбоцитов было выше контрольных значений: у самок — на 31 %, у самцов — на 20 %. Следует отметить, что все исследованные показатели не выходили за границы референтных значений для данного вида животных [17, 18]. При исследовании морфометрических показателей эритроцитов к окончанию эксперимента не выявлено значительных различий с контролем. Через три месяца число анизохромных форм эритроцитов у самок и количество полихроматофилов у самцов были значимо ниже контрольных значений на 18 % и в 2 раза, соответственно. По сравнению с первоначальными данными у самцов крыс этой группы отмечено снижение числа полихроматофилов и анизохромных эритроцитов. Эти изменения хотя и были статистически значимыми, но не выходили за границы пределов физиологической нормы.

При изучении периферической крови крыс, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозе 50 мг/кг, установлено, что у крыс 3-й и 4-й групп регистрировалось увеличение количества тромбоцитов: у самок — в среднем на 34 %, у самцов — на 54 %. К окончанию эксперимента не наблюдалось статистически значимых различий между гематологическими показателями опытной и контрольной групп. За исключением более низкого, чем в контроле, содержания числа лейкоцитов и средней концентрации гемоглобина в эритроците у самок. Показатели периферической крови и морфометрические показатели эритроцитов у крыс «отставленной» 4-й группы, исследованных через месяц после отмены препарата, не имели различий с контролем.

До начала эксперимента показатели периферической крови кроликов, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозе 1 мг/кг, не отличались значимо по сравнению с контролем. За исключением показателя гемоглобина у самок, который был несколько выше, чем в контроле. При исследовании морфометрических показателей эритроцитов у кроликов этой группы не наблюдалось различий с контролем. За исключением более низкого показателя количества дискоидных (нормальных) форм эритроцитов и, соответственно, увеличение числа пойкилоцитов. Установлено, что через три месяца введения препарата у кроликов этой группы не отмечено значимых различий с контрольной группой. К окончанию эксперимента большинство показателей периферической крови были на уровне контроля.

Установлено, что у кроликов, которым перорально вводили ГЛФ ГБ-115 в дозе 50 мг/кг, большинство показателей периферической крови не имели значимых различий с контролем. За исключением самок, у которых через три месяца среднее содержание гемоглобина

в эритроците было выше, а количество тромбоцитов ниже аналогичных показателей периферической крови контрольных самок. Через шесть месяцев уровень гемоглобина у кроликов был выше контрольного, в лейкоцитарной формуле у самок, как и у животных 2 группы, содержание лимфоцитов было выше, а количество сегментоядерных нейтрофилов ниже аналогичных показателей в контроле. По сравнению с первоначальными данными через три месяца у самцов фиксировали уменьшение количества эритроцитов (10 %), содержания гемоглобина (11 %) и объёма эритроцитарной крови на 8 %. К окончанию эксперимента содержание гемоглобина у самцов увеличилось до первоначального уровня. У самок, в течение всего эксперимента, показатель количества тромбоцитов был ниже данного, полученного до введения препарата. Следует отметить, что различия в этих показателях, хотя и были статистически значимыми, находились в пределах колебаний, обычно наблюдаемых у лабораторных кроликов [17, 18]. При исследовании морфометрических показателей эритроцитов через 3 и 6 мес. перорального введения препарата ГБ-115 в дозе 50 мг/кг по сравнению с контролем и фоновыми данными у кроликов этой группы отмечено уменьшение количества анизохромных эритроцитов. Так же как и у животных 2 группы, диаметр эритроцитов у них был ниже контрольного показателя.

Обобщённый анализ данных проведённых гематологических исследований не выявил эффектов, которые могли бы быть обусловлены токсическим действием препарата ГБ-115.

Исследование системы гемостаза было выполнено на крысах и кроликах обоего пола. В результате проведённых исследований установлено, что у экспериментальных животных, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозах 1 и 50 мг/кг, наблюдался сходный характер изменения коагуляционной активности крови, связанный с укорочением значений тромбинового времени свертывания крови.

У самок крыс, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозе 1 мг/кг, было установлено значимое укорочение тромбинового времени на 18,6 %, по сравнению с аналогичным показателем в группе контрольных крыс. У самок крыс, получавших препарат в дозе 50 мг/кг, также наблюдалось значимое сокращение тромбинового времени на 21,0 %, по сравнению со значением, зарегистрированным в группе контроля. При исследовании крови самок крыс «отставленной» группы было зарегистрировано значимое удлинение протромбинового времени на 21,8 %, по сравнению с контролем и тромбинового времени на 21,8 % по сравнению с крысами, получавшими препарат в дозе 50 мг/кг и обследованными через 24 ч после заключительного его введения (табл. 1). В отличие от самок крыс у самцов не было установлено значимых различий при сравнении показателей свёртывания крови. Следует отметить, что наблюдаемая вариабельность

Таблица 1

Влияние ГЛФ ГБ-115 (при пероральном введении в течение шести месяцев в дозах 1 и 50 мг/кг) на показатели гемостаза крыс

| Показатели        | Контроль<br>Ме<br>(25–75 %) | ГБ-115<br>1 мг/кг<br>Ме (25–75 %) | ГБ-115<br>50 мг/кг<br>Ме (25–75 %) | ГБ-115<br>50 мг/кг «отставленная<br>группа» Ме (25–75 %) |
|-------------------|-----------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|--|
| ПВ, сек ♀         | 14,7<br>(12,8÷18,1)         | 14,3<br>(13,2÷16,1)               | 14,5<br>(12,3÷18,2)                | 17,9*<br>(16,1÷18,1)                                     |
| ПВ, сек ♂         | 15,6<br>(14,6÷17,4)         | 16,7<br>(15,3÷18,1)               | 14,5<br>(11,9÷19,3)                | 19,0<br>(17,1÷22,2)                                      |
| АЧТВ, сек ♀       | 17,0<br>(15,9÷18,2)         | 15,2<br>(15,0÷16,4)               | 16,9<br>(16,3÷18,6)                | 20,4<br>(17,0÷29,1)                                      |
| АЧТВ, сек ♂       | 16,5<br>(15,2÷17,3)         | 16,5<br>(15,3÷17,5)               | 14,0<br>(11,8÷17,3)                | 18,2<br>(16,1÷21,2)                                      |
| ТВ (У 6), сек ♀   | 29,1<br>(25,9÷31,4)         | 23,7*<br>(21,0÷27,6)              | 23,0*<br>(21,4÷25,0)               | 28,0*<br>(26,4÷31,1)                                     |
| ТВ (У 6), сек ♂   | 26,4<br>(23,6÷30,8)         | 23,9<br>(17,2÷28,0)               | 24,4<br>(23,0÷25,1)                | 28,8<br>(25,6÷35,7)                                      |
| Фибриноген, г/л ♀ | 2,7<br>(2,2÷3,3)            | 3,2<br>(2,6÷3,7)                  | 3,3<br>(2,6÷3,7)                   | 2,2<br>(2,0÷3,0)   |
| Фибриноген, г/л ♂ | 2,5<br>(2,1÷3,0)            | 2,6<br>(2,2÷3,0)                  | 3,8<br>(2,7÷4,2)                   | 2,3<br>(1,5÷3,3)   |

Примечания: Данные представлены в виде медиан групп 25 и 75 % квартилей; \* – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой животных; \* – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению с 3-й группой животных.

показателей гемостаза находились в пределах референтных значений [17, 18].

У самок кроликов, получавших препарат в дозе 1 и 50 мг/кг, было отмечено значимое укорочение тромбинового времени свёртывания крови на 7,6 и 22,9 %, соответственно, по сравнению с аналогичными показателями в группе контрольных животных (табл. 2). Следует отметить, что при исследовании плазмы крови кроликов контрольной группы все показатели свёртываемости крови находились в пределах обычно наблюдаемых значений [17, 18].

При биохимическом исследовании сыворотки крови крыс контрольной и опытных групп животных было показано, что все изученные показатели находились в пределах референтных значений. У самцов крыс, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозе 1 мг/кг, наблюдалось значимое повышение активности аланинаминотрансферазы (37,6 %). У самок этой группы было отмечено значимое снижение содержания мочевины на 35,1 % по сравнению с контрольными крысами. У самцов крыс, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозе 50 мг/кг, было отмечено значимое снижение содержания общего белка (45,9 %) и повышение активности аланинаминотрансферазы (32,8 %) по сравнению с аналогичными показателями в группе контроля. Значимое повышение уровня мочевины у самцов и самок этой группы составило 57,3 и 23,9 %, соответственно. Исследование крови крыс «отставленной» группы, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозе 50 мг/кг, показало, что через месяц после отмены препарата у самцов сохраняется значимо

повышенное содержание общего белка (на 38,9 %) по сравнению с контролем. Было зарегистрировано значимое снижение концентрации креатинина у животных обоего пола. По сравнению с контрольными значениями снижение уровня креатинина у самцов составило 28,1 %, а по сравнению с аналогичным показателем у крыс 3 группы – 31,8 %.

При биохимическом исследовании сыворотки крови кроликов, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозе 50 мг/кг, были зарегистрированы значимые различия с контролем по содержанию в крови глюкозы у самок, общего белка и креатинина — у самцов. Значимое снижение глюкозы в крови у самок составило 16,9 %. У самцов значимое повышение общего белка составило 53,6 %, а креатинина — 28,0 %. Следует отметить, что все наблюдаемые изменения биохимических показателей крови опытных кроликов не выходили за границы физиологической нормы.

Исследование физико-химических свойств мочи контрольных и опытных крыс в начале эксперимента, не выявило отклонений биохимических показателей от референтных значений. Через 3 и 6 мес. у крыс контрольной группы не выявлено значимых различий в биохимическом составе мочи по сравнению с первоначальными данными. Исследование биохимического состава мочи опытных крыс, получавших препарат ГЛФ ГБ-115 в дозе 1 мг/кг, в начале эксперимента выявило значимое повышенное содержание креатинина у самцов на 4,9 % по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе животных. Через 3

Таблица 2

Влияние ГЛФ ГБ-115 (при пероральном введении в течение шести месяцев в дозах 1 и 50 мг/кг)  
на показатели гемостаза кроликов

| Показатели        | Контроль<br>Ме (25–75 %) | ГБ-115<br>1 мг/кг<br>Ме (25–75 %) | ГБ-115<br>50 мг/кг<br>Ме (25–75 %) |
|-------------------|--------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| ПВ, сек ♀         | 10,3<br>(7,3÷10,7)       | 9,7<br>(9,4÷9,8)                  | 8,7<br>(7,5÷9,4)                   |
| ПВ, сек ♂         | 10,2<br>(7,8÷10,4)       | 9,7<br>(9,3÷10,2)                 | 8,4<br>(7,7÷9,8)                   |
| АЧТВ, сек ♀       | 13,9<br>(13,6÷16,2)      | 15,4<br>(13,3÷16,6)               | 16,7<br>(13,2÷18,3)                |
| АЧТВ, сек ♂       | 14,4<br>(13,3÷16,2)      | 14,8<br>(14,4÷17,3)               | 14,6<br>(13,9÷15,0)                |
| ТВ (У 6), сек ♀   | 13,1<br>(12,6÷14,5)      | 12,1*<br>(11,8÷12,4)              | 10,1*<br>(8,7÷11,1)                |
| ТВ (У 6), сек ♂   | 15,6<br>(10,6÷19,5)      | 12,2<br>(11,1÷13,0)               | 10,0<br>(9,7÷10,4)                 |
| Фибриноген, г/л ♀ | 2,5<br>(2,3÷2,9)         | 3,4<br>(2,8÷3,9)                  | 3,3<br>(3,0÷3,6)                   |
| Фибриноген, г/л ♂ | 2,3<br>(1,9÷2,7)         | 2,9<br>(2,1÷3,9)                  | 3,5<br>(2,4÷3,7)                   |

Примечания: Данные представлены в виде медиан групп 25 и 75% квартилей; \* – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой животных.

и 6 мес. (окончание эксперимента) у крыс этой группы не выявлено значимых различий по сравнению с исходными данными и контролем.

Первоначальное исследование мочи крыс, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозе 50 мг/кг, показало, что все биохимические показатели находились в пределах обычно наблюдаемых значений. Через 3 мес. у самок и самцов, получавших ГБ-115 в дозе 50 мг/кг, было зарегистрировано значимое повышение уровня креатинина на 29,0 и 20,8 %, соответственно, по сравнению с первоначальными данными. По сравнению с контролем значимое повышение концентрации креатинина у самцов составило 37,9 %. Через 6 мес. (окончание эксперимента) у самок и самцов этой группы было отмечено значимое повышение содержания креатинина и снижение мочевины в моче по сравнению с исходными данными. По сравнению с исходными данными значимое повышение концентрации креатинина в моче самок составило 83,1 %, а у самцов – 31,7 %. По сравнению с контрольными животными содержание креатинина повысилось на 38,2 % у самок и на 24,5 % – у самцов. Значимое снижение концентрации мочевины по сравнению с исходными данными у самок составило 31,0 %, а у самцов – 50,0 %. Следует отметить, что у самцов и самок 3 группы через 6 мес. введения препарата было зарегистрировано снижение концентрации мочевины до нижней границы физиологической нормы для крыс.

Через месяц после отмены препарата («отставленная» группа) у самцов и самок, получавших препарат

в дозе 50 мг/кг, было отмечено значимое повышение уровня мочевины. По сравнению с результатами, наблюдаемыми при первоначальном исследовании мочи, у самок было зарегистрировано значимое повышение уровня мочевины на 34,5 %. Повышение содержания этого показателя в моче крыс через месяц после отмены препарата не превышало физиологических значений, характерных для данного вида животных.

В результате проведенного после эвтаназии патологоанатомического вскрытия экспериментальных крыс и кроликов, оценки массовых коэффициентов наиболее реактивных внутренних органов, последующего макроскопического и микроскопического исследования установлено следующее. ГЛФ ГБ-115 не вызывает изменений строения органов нервной системы (головной мозг) крыс. Препарат не приводит к закономерным изменениям строения таких органов и систем организма экспериментальных крыс и кроликов, как сердечно-сосудистая (сердце, магистральные сосуды), дыхательная (лёгкие, трахея), пищеварительная (пищевод, желудок, тонкий и толстый отделы кишечника, печень, поджелудочная железа), мочевыводящая (почки, мочевой пузырь), эндокринная (надпочечники, щитовидная железа, парашитовидная железа, островки Лангерганса поджелудочной железы), репродуктивная (семенники и придатки семенников самцов, яичники и маточные трубы самок) а также органов кроветворения и иммуногенеза (селезёнка, тимус, лимфатические узлы кишечника и лёгких).

Исследования местнораздражающего действия ГЛФ ГБ-115 показало отсутствие болевой реакции животных при введении препарата, отсутствие раздражения слизистой оболочки ротовой полости при ежедневных клинических осмотрах экспериментальных крыс и кроликов. Патоморфологическое вскрытие не выявило макроскопических изменений ротовой полости, языка, глотки, пищевода, желудка, тонкого и толстого отделов кишечника крыс и кроликов. Микроскопическая картина пищевода, желудка, тонкого и толстого отделов кишечника крыс и кроликов экспериментальных групп, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозах 1 и 50 мг/кг, была идентичной таковой, наблюдаемой у контрольных крыс и кроликов, получавших 1 % раствор крахмала.

### Заключение

Изучение анксиолитика ГБ-115, проведённое согласно стандартному для доклинических исследований хронической токсичности протоколу [4, 8], не выявило закономерных токсических эффектов.

Обнаруженные у самок кроликов и крыс, получавших ГЛФ ГБ-115 в дозах 1 и 50 мг/кг, изменения коагуляционной активности крови, связанные с укорочением значений тромбинового времени свертывания крови, находились в пределах референтных значений.

При клинических испытаниях препарата стоит учитывать потенциальные риски, связанные с применением ГБ-115 у лиц, страдающих нарушениями свёртываемости крови.

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

#### Сорокина Александра Валериановна

*Автор, ответственный за переписку*

e-mail: alex-mike5475@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-9600-7244

к. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

#### Sorokina Aleksandra

*Corresponding author*

e-mail: alex-mike5475@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-9600-7244

Candidate of Biological Sciences, Leading researcher of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

#### Алексеева Светлана Витальевна

ORCID ID: 0000-0002-1262-6997

SPIN-код: 8985-3418

с. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

#### Alekseeva Svetlana

ORCID ID: 0000-0002-1262-6997

SPIN code: 8985-3418

Senior Research Officer of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

#### Мирошкина Ирина Александровна

ORCID ID: 0000-0002-3208-198X

SPIN-код: 4697-7938

н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

#### Miroshkina Irina

ORCID ID: 0000-0002-3208-198X

SPIN code: 4697-7938

Research scientist of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

#### Забродина Виктория Владимировна

ORCID ID: 0000-0002-8450-9853

SPIN-код: 8473-6920

к. б. н., н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

#### Zabrodina Victoria

ORCID ID: 0000-0002-8450-9853

SPIN code: 8473-6920

Candidate of Biological Sciences, Research scientist of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow



**Колик Лариса Геннадьевна**

ORCID ID: 0000-0002-9847-8058

д. б. н., профессор РАН, руководитель лаборатории фармакологической регуляции состояний зависимости, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Kolik Larisa**

ORCID ID: 0000-0002-9847-8058

Doctor of Biological Sciences, prof. RAS, Head Laboratory of Pharmacological Regulation of Alcohol and Drug Addiction, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Дурнев Андрей Дмитриевич**

ORCID: 0000-0003-0218-8580

SPIN-код: 8426-0380

член-корр. РАН, д. м. н. профессор, зав. лабораторией лекарственной токсикологии, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Durnev Andrei**

ORCID: 0000-0003-0218-8580

SPIN code: 8426-0380

RAS corresponding member, Doctor of Biological Sciences., Head of the laboratory of drug toxicology, Professor, Director FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

## Литература / References

1. Колик Л.Г., Жуков В.Н., Середенин С.Б. // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. — 2007. — Т. 70. — № 2. — С. 8–11. [Kolik LG, Zhukov VN, Seredenin SB. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2007;70(2):8–11. (In Russ).]

2. Колик Л.Г., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Фармакогенетическое исследование анксиолитических свойств новых антагонистов холинэргических рецепторов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 2003. — Т. 135. — № 5. — С. 519–523. [Kolik LG, Gudasheva TA, Seredenin SB. Pharmacogenetic study of anxiolytic effects of new cholinergic receptor antagonists in animals with different levels of emotionality. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2003;135(5):440–444. (In Russ).]

3. Kolik LG, Gudasheva TA, Seredenin SB. Dipeptide anxiolytic GB-115: new receptor targets. *European Neuropsychopharmacology*. 2011;21(s2):S146.

4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия лекарственных средств. Изучение хронической токсичности. — М.: Гриф и К; 2012. 17–24 с. [Guidance on Preclinical Evaluation of Medicines. Part 1. Metodicheskie rekomendatsii po izucheniyu obshchetoksicheskogo deistviya lekarstvennykh sredstv. Izuchenie khronicheskoi toksichnosti. Moscow: Grif i K; 2012. p. 17–24 (In Russ).]

5. Сорокина А.В., Алексеева С.В., Немова Е.П., и др. Доклиническое исследование безопасности дипептидного соединения ГБ-115 // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. — 2010. — Т. 73. — № 6. — С. 29–32. [Sorokina AV, Alekseeva SV, Nemova EP, et al. Doklinicheskoe issledovanie bezopasnosti dipeptidnogo soedineniya GB-115. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2010;73(6):29–32. (In Russ).]

6. Клумова В.С., Грушевская Л.Н., Авдюнина Н.И., и др. Методы синтеза лекарственных средств и технология их производства: разработка аналитических методов определения ГБ-115 в твердой лекарственной форме (таблетках) // *Химико-фармацевтический журнал*. — 2012. — Т. 45. — № 12. — С. 736–740. [Klumova VS, Grushevskaya LN, Avdyunina NI, et al. Drug synthesis methods and manufacturing technology: developing analytical techniques for GB-115 determination in solid dosage form (tablets). *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2012;45(12):736–740 (In Russ).]

7. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academies Press (US). Washington (DC). 2011. DOI: 10.17226/12910

8. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том I. — М.: Гриф и К; 2013. 328 с. [Rukovodstvo po ekspertize lekarstvennykh sredstv. Tom I. Moscow: Grif i K; 2013. (In Russ).]

9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. Изучение «хронической» токсичности. — М.: Медицина; 2005. 47–54 с. [Guideline for Experimental (Preclinical) Studying of New Pharmacological Substances. Metodicheskie ukazaniya po izucheniyu obshchetoksicheskogo deistviya farmakologicheskikh veshchestv. Izuchenie «khronicheskoi» toksichnosti. Moscow: Medicine; 2005. P41-47 (In Russ).]

10. Diehl KH, Hull R, Morton D, et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *Journal of Applied Toxicology*. 2001;21:15–23.

11. Исследование системы крови в клинической практике. / Под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макарова. — М.: Триада-Х; 1997. [Studies of Blood System in Clinical Practice. Ed by Kozinets GI, Makarov VA. Moscow: Triada-X; 1997 (In Russ).]

12. Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов. / Под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Перова. — М.: Медицина; 1996 [Mikroskopicheskaya tekhnika. Rukovodstvo dlya vrachei i laborantov. Ed by Sarkisov DS, Perov YuL. Moscow: Medicine; 1996. (In Russ).]

13. Сапожников А.Г., Доросевич А.Е. Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство. — Смоленск: САУ; 2000. [Sapozhnikov AG, Dorosevich AE. Gistologicheskaya i mikroskopicheskaya tekhnika: Rukovodstvo. Smolensk: SAU; 2000. (In Russ).]

14. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. 5-е изд., испр. и доп. — Ленинград: Медицина; Ленингр. отд-ние, 1969. [Merkulov GA. Kurs patologistologicheskoi tekhniki. Leningrad: Medicine; 1969. (In Russ).]

15. Гланс С. Медико-биологическая статистика. — М.: Практика; 1998. 359 с. [Glanc S. Mediko-biologicheskaya statistika. Moscow: Praktika; 1998. 359 s. (In Russ).]

16. Бельский М.Б. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. — М.: Изд. Мед. Литература; 1963. [Belen'kii M.B. Elementy kolichestvennoi otsenki farmakologicheskogo effekta. Leningrad: Medgiz; 1963. (In Russ).]

17. Проблемы нормы в токсикологии / под ред. проф. И.М. Трахтенберга. — М.: «Медицина»; 1991. 203 с. [Problemy normy v toksikologii. Ed by prof. IM Trahtenberga. Moscow: «Medicina»; 1991. (In Russ).]

18. Справочник Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / под ред. Макарова В.Г., Макаровой М.Н. — СПб.: «Лемма»; 2013. 116 с. [Spravochnik Fiziologicheskie, biohimicheskie i biometricheskie pokazateli normy eksperimental'nykh zhivotnykh. Ed by Makarova VG, Makarovo MN. S-Peterburg: «Lemma»; 2013. (In Russ).]