

УДК (547.304.2+546.284):615.916

А. І. ДОРОШЕНКО

*Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ*

**ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ КОМПОЗИТУ  
ВИСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ ТА  
ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИНУ ГІДРОХЛОРИДУ**

**Ключові слова:** композит високодисперсного кремнезему, полігексаметиленгуанідину гідрохлорид, гостра токсичність, метод *in vivo*

---

A. I. DOROSHENKO

*Bogomolets National Medical University, Kyiv*

**ACUTE TOXICITY PARAMETERS OF A HIGHLY-DISPERSIVE SILICA AND  
PGMG-GC COMPOSITE IN MICE AFTER INTRAGASTRIC ADMINISTRATION**

**Key words:** highly-dispersive silica composite, polyhexamethylene guanidine hydrochloride, acute toxicity, method *in vivo*

---

Згідно з доповіддю помічника Генерального директора Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) із питань безпеки охорони здоров'я у 2014 р. у Європейському регіоні у 60% випадків інфікування *Staphylococcus aureus* виявляється стійкість до пеніциліну (MRSA), що означає – лікування за допомогою стандартних антибіотиків не дає очікуваних результатів [1]. А інфекції, спричинені мультирезистентними штамми бактерій, є причиною смерті 25 тисяч людей у Європейському союзі (ЄС) щороку [2].

Стійкість до протимікробних препаратів ставить під загрозу ефективну профілактику та лікування зростаючої кількості інфекційних захворювань. Стійкість до антимікробних засобів набувається мікроорганізмами з плином часу, як правило, шляхом генетичних змін. Проте антибіотикорезистентність посилюється внаслідок зловживання та некоректного застосування антибіотиків, а також відсутності контролю за раціональним застосуванням протимікробних препаратів [3, 4]. Так, дуже часто антибіотики призначають без належного нагляду, а також не за показаннями, зокрема їх застосовують хворі з вірусними інфекціями, такими як грип та інші гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ) [2].

Виникнення та стійке зростання кількості стійких до протимікробних препаратів мікроорганізмів стало глобальною проблемою громадської охорони здоров'я, яка ставить під загрозу ефективне лікування інфекційних захворювань. Боротьба з цією проблемою є високим пріоритетом для строгих регуляторних агентств у різних країнах світу (ЕМА, FDA), а також ВООЗ.

Поверхнево-активні речовини є предметом зацікавленості для системи охорони здоров'я у зв'язку з тим, що лікарська стійкість до них розвивається досить повільно, а їхня токсичність відносно низька. Катіонні детергенти внаслідок поєднання поверхневої активності та бактерицидних властивостей є перспективними для застосування у фармації та медицині.

Одним із представників групи катіонних поверхнево активних речовин є полігексаметиленгуанідину гідрохлорид.

Полігексаметиленгуанідину гідрохлорид (ПГМГ-ГХ) – полімер із високою розчинністю у воді, без запаху, кольору, значно менш токсичний та шкідливий, ніж інші дезінфектанти, які застосовують для людей і тварин у концентрації  $\leq 1\%$  [5].

У рамках дослідження фармакологічних властивостей композиту високодисперсного кремнезему (ВДК) та ПГМГ-ГХ як перспективної субстанції, що має сорбційні та протимікробні властивості, встановлення гострої токсичності за шляху введення, що пропонується для потенційного клінічного застосування, а саме пероральному, є одним із найважливіших етапів доклінічної оцінки.

**Мета** дослідження – визначення параметрів гострої токсичності композиту ВДК і ПГМГ-ГХ на лабораторних тваринах (мишах) за внутрішньошлункового введення.

### **Матеріали та методи дослідження**

Об'єктом дослідження був композит ВДК і ПГМГ-ГХ, розроблений співробітниками кафедри фармакології Національного медичного університету (НМУ) імені О. О. Богомольця та Інституту хімії поверхні імені О. О. Чуйка НАН України. Дослідження проведено на 23 самках білих мишей лінії BALB/c масою 18–22 г віком 2–2,5 місяці з дотриманням положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, яких використовують в експериментах та з іншими науковими цілями, від 18. 03. 1986 р., Директиви ЄС № 609 від 24. 11. 1986 р. і Наказу МОЗ України «Про затвердження Інструкції про проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань та Типового положення про комісію з питань етики» № 281 від 01. 11. 2000 р. Усіх тварин, яких використовували в експериментах, утримували в стандартних умовах віварію НМУ імені О. О. Богомольця за температури 22–24 °С та відносної вологості 30–70% із вільним доступом до корму та води. Групи тварин формували за методом рандомізації з попереднім карантинном упродовж 14 діб. План досліджень, розглянутий та схвалений Комітетом із біоетики НМУ імені О. О. Богомольця, усі процедури, пов'язані з гуманним поводженням із тваринами, було дотримано.

Для внутрішньошлункового введення композиту ВДК і ПГМГ-ГХ було використано 23 самки білих мишей, з яких сформовано 3 дослідні ( $n = 6$  у кожній) та контрольну ( $n = 5$ ) групи.

Першій групі внутрішньошлунково вводили композит ВДК і ПГМГ-ГХ, що мав вигляд гомогенної суспензії білого кольору, в дозі 2 000 мг/кг (вміст ПГМГ-ГХ у композиті – 20%). Другій групі вводили суспензію ВДК у дозі 2 000 мг/кг. Вищезазначені дози композиту ВДК і ПГМГ-ГХ та суспензії ВДК були максимальними технічно можливими для введення. Третій групі вводили розчин ПГМГ-ГХ у дозі 400 мг/кг. Мишам контрольної групи вводили через зонд розчинник – воду для ін'єкцій.

Тварин у всіх групах протягом 3–4 год перед введенням утримували без корму з вільним доступом до води. Зазначені речовини вводили тваринам одноразово вранці натщесерце внутрішньошлунково в об'ємі 0,8 мл.

Спостереження за станом тварин здійснювали протягом 14 діб після введення речовин. У 1-й день експерименту тварини перебували під безперервним наглядом. Під час спостереження враховували зовнішній стан тварин, особливості поведінки, інтенсивність і характер рухової активності, оцінювали прийом корму та води, функціонування життєво важливих органів і систем, визначали масу тварин, реєстрували терміни розвитку інтоксикації та загибелі тварин.

Масу тварин визначали перед введенням композиту та на 3, 7 і 14 добу відновного періоду. На 14 добу усіх тварин виводили з експерименту та при аутопсії вилучали головний мозок, тимус, серце, легені з бронхами, печінку, селезінку, нирки, шлунок. Після відокремлення зайвої жирової (сполучної) тканини органи промивали у фізі-

ологічному розчині, зайву вологу прибирали за допомогою фільтрувального паперу та зважували на електронних вагах. На основі абсолютних значень маси органів розраховано відносні маси шляхом визначення співвідношення маси органу до маси тіла тварини.

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерних програм BioStat 2009 for Windows v5.8.4 (виробник – Analyst Soft) та Microsoft Office Excel 2007 [6]. На основі числових значень показників розраховували середнє арифметичне ( $M$ ) і стандартну помилку середнього ( $m$ ). Після перевірки нормальності розподілу здійснювали визначення значущості відмінностей між середніми величинами в групах та в динаміці із застосуванням непараметричних критеріїв Манна–Уїтні та Вілкоксона і параметричного  $t$ -критерію Ст'юдента. Для перевірки значущості відмінностей між величинами дисперсій для серій даних застосовували тест Фішера. Різницю між показниками вважали значущою при рівні статистичної значимості понад 95% ( $p < 0,05$ ).

### Результати дослідження та обговорення

Результати дослідження (табл. 1) свідчать про відсутність загибелі мишей за одноразового внутрішньошлункового введення композиту ВДК і ПГМГ-ГХ дозою 2 000 мг/кг (вміст ПГМГ-ГХ 20%) та суспензії ВДК дозою 2 000 мг/кг. Встановлено, що композит ВДК і ПГМГ-ГХ та суспензія ВДК у застосованих дозах спричинюють незначні порушення загального стану, що мали оборотний характер: млявість, зменшення рухової активності та тимчасову відмову від їжі впродовж 6–12 год, що, ймовірно, пов'язано з дискомфортом, викликаним значним об'ємом уведення. Стан тварин повернувся до норми протягом кількох годин без яких-небудь залишкових явищ. За час спостереження за тваринами сумарно впродовж 14 діб видимих ознак впливу на загальний стан, поведінку, апетит, стан шкіри та слизових оболонок зареєстровано не було.

Т а б л и ц я 1

#### Показники гострої токсичності композиту ВДК і ПГМГ-ГХ за внутрішньошлункового введення мишам

Групи тварин	Кількість тварин у групі	Кількість тварин, що загинули/ кількість тварин у групі
Композит ВДК і ПГМГ-ГХ у дозі 2 000 мг/кг (вміст ПГМГ-ГХ 20%)	6	0/6
Суспензія ВДК у дозі 2 000 мг/кг	5	0/5
Розчин ПГМГ-ГХ у дозі 400 мг/кг	6	3/6
Вода для ін'єкцій (контроль)	6	0/6

За введення розчину ПГМГ-ГХ у дозі 400 мг/кг (без ВДК) через 2 год спостерігали випадки смерті тварин, яким передувало пригнічення рухової активності, що чергувалося з періодами моторного збудження та швидкого, неупорядкованого руху кінцівок. Тварини, що вижили, у перші дні після введення були менш активні, відзначалися незначна слабкість та млявість, які потім зникали. Стан тварин, що вижили, нормалізувався та на 14 добу за більшістю ознак відповідав такому в групі контролю, що свідчить про оборотність токсичного впливу ПГМГ-ГХ.

**Маса тіла мишей після внутрішньошлункового введення композиту  
ВДК і ПГМГ-ГХ ( $M \pm m$ )**

Групи тварин	Маса тварин, г ( $M \pm m$ )				
	початкові дані (перед введенням)	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба
Композит ВДК та ПГМГ-ГХ у дозі 2 000 мг/кг (вміст ПГМГ-ГХ 20%)	19,8 ± 0,2	19,8 ± 0,2	18,4 ± 0,2 <sup>***</sup>	18,2 ± 0,6 <sup>**</sup>	20,7 ± 0,6
Кількість тварин у групі, <i>n</i>	6	6	6	6	6
Суспензія ВДК у дозі 2 000 мг/кг	19,7 ± 0,2	19,7 ± 0,2	19,4 ± 0,2	20,4 ± 0,3 <sup>#</sup>	21,7 ± 0,4 <sup>##</sup>
Кількість тварин у групі, <i>n</i>	5	5	5	5	5
Розчин ПГМГ-ГХ у дозі 400 мг/кг	19,9 ± 0,2	19,8 ± 0,1	17,8 ± 0,3 <sup>#</sup>	18,9 ± 0,1 <sup>***</sup>	21,8 ± 0,4 <sup>#</sup>
Кількість тварин у групі, <i>n</i>	6	3	3	3	3
Вода для ін'єкцій (контроль)	19,9 ± 0,3	19,9 ± 0,3	19,5 ± 0,3	21,2 ± 0,5 <sup>#</sup>	23,0 ± 0,9 <sup>#</sup>
Кількість тварин у групі, <i>n</i>	6	6	6	6	6

П р и м і т к а : \* – різниця статистично значуща порівняно з контролем ( $p < 0,05$ );

\*\* –  $p < 0,01$ ; # – різниця статистично значуща порівняно із початковим рівнем ( $^{\#} - p < 0,05$ );

## –  $p < 0,01$ .

Після одноразового введення суспензії ВДК динаміка маси тіла мишей не відрізнялася від контролю. В обох зазначених групах (ВДК і контроль) на 7-му і на 14-ту добу спостереження зареєстровано значуще зростання маси тіла порівняно із початковим рівнем показника (табл. 2). На противагу цьому, в групах ПГМГ-ГХ і ВДК+ПГМГ-ГХ на 3-тю і 7-му добу після введення субстанцій спостерігали значуще зниження маси тіла порівняно з контролем, що, найбільш вірогідно, пов'язано із впливом ПГМГ-ГХ. Однак на 14-ту добу маса тіла тварин нормалізувалась, оскільки статистично значущої різниці виявлено не було. Це є свідченням оборотності токсичного впливу ПГМГ-ГХ.

Під час макроскопічного огляду внутрішніх органів тварин не виявлено ознак інтоксикації або інших виявів патологічних процесів. За розміром, кольором, консистенцією та розташуванням внутрішні органи тварин не виходили за межі норми і не відрізнялися від внутрішніх органів групи мишей інтактного контролю. Значущих відмінностей між масовими коефіцієнтами внутрішніх органів дослідних та контрольної груп не виявлено (табл. 3).

**Масові коефіцієнти внутрішніх органів мишей після внутрішньошлункового введення композиту ВДК і ПГМГ-ГХ ( $M \pm m$ )**

Групи тварин	Кількість тварин у групі, <i>n</i>	Показник	Середня маса тіла, г	Відносна маса органів, %					
				головний мозок	печінка	нирки (права/ліва)	серце	легені	селезінка
Композит ВДК та ПГМГ-ГХ у дозі 2 000 мг/кг (вміст ПГМГ-ГХ 20%)	6	<i>M</i>	20,7	1,95	6,26	0,60/0,62	0,44	1,05	0,87
		<i>m</i>	0,6	0,05	0,32	0,05/0,02	0,02	0,09	0,28
Суспензія ВДК у дозі 2 000 мг/кг	5	<i>M</i>	21,7	1,88	5,97	0,52/0,53	0,48	0,82	0,72
		<i>m</i>	0,4	0,04	0,11	0,04/0,02	0,02	0,01	0,05
Розчин ПГМГ-ГХ у дозі 400 мг/кг	3	<i>M</i>	21,8	1,96	5,60	0,63/0,55	0,41	1,55	0,55
		<i>m</i>	0,4	0,06	0,10	0,03/0,03	0,04	0,22	0,04
Вода для ін'єкцій (контроль)	6	<i>M</i>	23,0	1,79	6,04	0,55/0,57	0,50	1,15	0,73
		<i>m</i>	0,9	0,09	0,24	0,03/0,03	0,06	0,10	0,07

До складу композиту ВДК і ПГМГ-ГХ входить 20% ПГМГ-ГХ. Відповідно, за внутрішньошлункового введення композиту (2 000 мг/кг) доза ПГМГ-ГХ становила 400 мг/кг маси тіла, що не спричинювало токсичних ефектів у дослідних тварин.

Для порівняння  $LD_{50}$  ПГМГ-ГХ за різними даними становить від 370 (миші-самки) та 620 (миші-самці) [7] до 900 (для обох статей) мг/кг [8].

Згідно з літературними даними ПГМГ-ГХ властива політропність дії, зокрема нейротоксичність, про що свідчать клоніко-тонічні судоми, зміна характеру дихання, судинно-циркуляторні порушення. Також можуть спостерігатися набряк легень, некротичні зміни в паренхімі нирок та печінки, виражені гемодинамічні порушення. Загибель тварин може наставати внаслідок вираженої гіпоксії, яка зумовлена порушеннями гемодинаміки, а також пошкодженням аерогематичного бар'єру у легенях з подальшим недостатнім надходженням кисню у кров. Не виключена також можливість безпосереднього токсичного впливу ПГМГ-ГХ на структуру вищезазначених органів [7].

Виходячи з вищезазначеного, можна зробити висновок, що ПГМГ-ГХ у складі композиту зменшує свою токсичну дію. А доза 2 000 мг/кг маси тіла за внутрішньошлункового введення характеризує композит ВДК і ПГМГ-ГХ як малотоксичний відповідно до класифікації речовин за токсичністю. Оскільки за одноразового внутрішньошлункового введення композиту ВДК і ПГМГ-ГХ летальних випадків серед мишей не зареєстровано, цей композит можна класифікувати як малотоксичний згідно з класифікацією речовин за токсичністю (за Сидоровим К. К.).

## В и с н о в к и

1. За одноразового внутрішньошлункового введення мишам досліджуваного композиту ВДК і ПГМГ-ГХ не спостерігали додозалежного гострого отруєння тварин, значення  $LD_{50}$  є вищим за 2 000 мг/кг маси тіла.

2. За експериментально визначеними параметрами гострої токсичності композит ВДК і ПГМГ-ГХ згідно з класифікацією речовин за токсичністю належить до IV класу – малотоксичні речовини.

## С п и с о к в и к о р и с т а н о ї л і т е р а т у р и

1. WHO's first global report on antibiotic resistance reveals serious, worldwide threat to public health [Electronic resource]. – Access mode: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/en/>

2. Antimicrobial resistance [Electronic resource]. – Access mode: [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/special\\_topics/general/general\\_content\\_000439.jsp](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/special_topics/general/general_content_000439.jsp)

3. Antimicrobial resistance. Fact sheet [Electronic resource]. – Access mode: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/> (Updated September 2016)

4. World Antibiotic Awareness Week 2016: Encouraging health care workers and the public to become «Antibiotic Guardians» [Electronic resource]. – Access mode: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/news/news/2016/11/world-antibiotic-awareness-week-2016-encouraging-health-care-workers-and-the-public-to-become-antibiotic-guardians>

5. Салманов А. Г., Марієвський В. Ф., Хобзей М. К. Резистентність бактерій до антисептиків та дезінфікуючих засобів // Укр. мед. часопис – 2010. – № 6 (80). – С. 51–56.

6. Тавинцев В. Д. Обработка результатов медико-биологического эксперимента. – Рязань: МРОУ «Регистр национального интеллекта», 1999. – 273 с.

7. Муратова Н. М. Токсиколого-гигиенические аспекты действия полигексаметиленгуанидин гидрохлорида – нового препарата полигуанидинового ряда. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 14.00.07. – Иркутск, 1994. – 27 с.

8. Лифенцова М. Н., Горпинченко Е. А. Определение острой токсичности препарата роксацин // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета – 2016. – № 121 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://cyberleninka.ru/article/n/opredelenie-ostroy-toksichnosti-preparata-roksatsin>

Надійшла до редакції 20 березня 2017 року.

А. И. Дорошенко

*Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев*

ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОМПОЗИТА ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА И ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНА ГИДРОХЛОРИДА

**Ключевые слова:** композит высокодисперсного кремнезема,

полигексаметиленгуанидина гидрохлорид, острая токсичность, метод *in vivo*

**А Н Н О Т А Ц И Я**

Возникновение и постоянный рост количества устойчивых к противомикробным препаратам микроорганизмов стали глобальной проблемой общественного здравоохранения, которая ставит под угрозу эффективное лечение инфекционных

заболеваний, поэтому разработка новых лекарственных средств, обладающих противомикробными свойствами, является одним из приоритетных направлений системы здравоохранения.

Катионные детергенты в результате сочетания поверхностной активности и бактерицидных свойств являются перспективными для применения в фармации и медицине. Одним из представителей группы катионных поверхностно-активные вещества являются полигексаметиленгуанидина гидрохлорид (ПГМГ-ГХ), проявляющий меньшую токсичность по сравнению с другими дезинфектантами, а также имеющий широкий спектр противомикробной активности.

Целью исследования было определение параметров острой токсичности композита высокодисперсного кремнезема (ВДК) и ПГМГ-ГХ на мышах при внутрижелудочном введении.

Исследование проведено на 23 самках белых мышей линии BALB/c массой 18–22 г. Для определения токсичности животные были распределены на группы. Первой группе внутрижелудочно вводили композит высокодисперсного кремнезема с ПГМГ-ГХ, второй – суспензию ВДК, третьей – раствор ПГМГ-ГХ и четвертой (контрольной) – воду для инъекций.

Массу животных определяли перед введением композита и на 3, 7 и 14 сутки восстановительного периода. Введение ПГМГ-ГХ или композита ВДК и ПГМГ-ГХ привело к значительному снижению массы тела на 3 и 7 сутки по сравнению с контролем с последующей нормализацией на 14 сутки. В группе ВДК значительных изменений массы тела не наблюдали.

Результаты исследования свидетельствуют об отсутствии гибели мышей при однократном внутрижелудочного введения композита ВДК и ПГМГ-ГХ. При введении раствора ПГМГ-ГХ в дозе 400 мг/кг (без ВДК) через 2 часа наблюдали случаи смерти животных. Состояние выживших животных нормализовалось и на 14 сутки по большинству признаков отвечало таковому в группе контроля, что свидетельствует об обратимости токсического воздействия ПГМГ-ГХ.

Был сделан вывод, что ПГМГ-ГХ в составе композита уменьшает свое токсическое действие. А доза 2 000 мг/кг массы тела при внутрижелудочном введении характеризует композит ВДК и ПГМГ-ГХ как малотоксичный согласно классификации веществ по токсичности.

A. Doroshenko

*Bogomolets National Medical University, Kyiv*

ACUTE TOXICITY PARAMETERS OF A HIGHLY-DISPERSIVE SILICA AND POLYHEXAMETHYLENE GUANIDINE HYDROCHLORIDE COMPOSITE IN MICE AFTER INTRAGASTRIC ADMINISTRATION

**Key words:** highly-dispersive silica composite, polyhexamethylene guanidine hydrochloride, acute toxicity, method *in vivo*

A B S T R A C T

The emerging and steady increase of microbes that are resistant to antimicrobial treatments has become a global public health concern that threatens the effective treatment of infectious diseases, therefore, the development of new medicines with antimicrobial properties is one of the priorities of the health systems.

Cationic detergents, which, as a result of the combination of their surface activity and bactericidal properties, are promising for use in pharmacy and medicine. One of the representatives of the cationic surfactant group is polyhexamethylene guanidine hydrochloride (PGMG-GC) which was shown to be less toxic compared to some other disinfectants and effective against a wide spectrum of microbes.

The aim of the study was to determine the acute toxicity parameters of a highly-dispersive silica (HDS) and PGMG-GC composite in mice after intragastric administration.

The study was carried out on 23 BALB/c female mice weighing 18–22 g. To determine the toxicity, the animals were divided into the following groups. The first group was intragastrically injected with a composite of HDS and PGMG-GH, the second group was given a suspension of HDS, the third group was given a solution of PGMG-GC, and the fourth (control) group was treated with water for injection.

The mass of the animals was determined before and on the 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup>, and 14<sup>th</sup> day after the composite administration. Administration of PGMG-GC or PGMG-GC + HDS composite caused significant decrease in body weight at 3<sup>rd</sup> and 7<sup>th</sup> day compared to control with further normalization on day 14. No significant changes of body weight were found in HDS group.

No death of mice occurred after a single intragastric injection of the HDS + PGMG-GC composite during 14 days of the study. For the solution of PGMG-GC (without HDS), lethal cases were reported 2 h after the treatment at a dose level of 400 mg/kg. The condition of the animals survived normalized and, by the day 14, it corresponded to that in the control group for the most of the signs of toxicity indicating the reversibility of the toxic effect of PGMG-GC.

Therefore, PGMG-GC is less toxic when it is used as a part of the composite. Since no lethal cases were reported after a single intragastric administration of the composite at a dose of 2000 mg/kg of body weight, the composite HDS + PGMG-GC appears to be low toxic according to the classification of substances by toxicity.

*Електронна адреса для листування з авторами: [annadoroshenko2015@gmail.com](mailto:annadoroshenko2015@gmail.com)*