

## ПАРАМЕТРЫ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ СОЛЕЙ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ

А. В. Бузлама<sup>1</sup>, Ю. Н. Чернов<sup>2</sup>, А. И. Сливкин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Воронежский государственный университет,

<sup>2</sup> Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко

Поступила в редакцию 15.10.2013 г.

**Аннотация.** Токсикологические исследования, проведенные на 654 лабораторных животных (крысах и мышах) свидетельствуют, что соли гуминовых кислот, получаемые из трех различных сырьевых источников (лигногумат, гумат леонардита и сапропелевый гумат) являются умеренно токсичными (3 класс токсичности и опасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 и по классификации И.В. Березовской, 2003, 2010), не проявляют кумулятивных свойств, индекс широты терапевтического действия >45.

**Ключевые слова:** гуминовые вещества, гуматы, сапропели, пелоиды, лигнин, леонардит, токсикология, экспериментальная фармакология.

**Abstract.** Toxicological studies, accomplished using 654 laboratory animals (rats and mice) show, that humic acid salts, derived from lignine, sapropel and leonardit revealed low toxicity (class 3 toxicity according to Federal standard of Russian Federation 12.1.007-76 and classification by I.V. Berezovskaija, 2003, 2010), not display cumulative action and possess large-scale width of therapeutic action.

**Keywords:** humic substance, humate, sapropel, peloid, lignin, leonardit, toxicology, experimental pharmacology.

Известно, что природные соединения, называемые гуминовыми кислотами, проявляют противовоспалительные, регенераторные, противовосязвенные, дезинтоксикационные, антиоксидантные и другие фармакологические эффекты [1, 2, 3], в связи с чем актуальной и обязательной задачей, предшествующей разработке содержащих данные вещества оригинальных лекарственных препаратов, является изучение профиля их безопасности в токсикологических исследованиях. Целью исследования являлось изучение токсикологических характеристик солей гуминовых кислот, получаемых из различных сырьевых источников (сапропелевого гумата, гумата леонардита и лигногумата) – параметров острой токсичности и определение наличия кумулятивного действия.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА.

Исследования проведены на 654 лабораторных животных: белых аутбредных конвенциональных крысах самцах и самках в возрасте 3 мес. массой тела  $190.0 \pm 5.4$  г (446 голов), белых аутбредных мышах самцах в возрасте 2.5 мес. массой тела

$20.5 \pm 2.0$  г (208 голов). При проведении исследований учитывали рекомендации Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [4], соблюдали принципы гуманного обращения с лабораторными животными, эвтаназию осуществляли передозировкой хлороформного наркоза. Выбор исследованных доз обусловлен известными опубликованными сведениями о низкой токсичности (III-IV класс) и интервале терапевтических доз (от 5 до 300 мг/кг) гуминовых веществ [1].

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Изучение острой токсичности проведено на белых мышах самцах и самках массой тела  $20.5 \pm 2.0$  г, белых крысах самцах и самках массой  $190.5 \pm 5.0$  г, всего 624 головы, не менее чем по 6 голов в каждой группе. Лигногумат (официальный 5.0% раствор) вводили внутривентрикулярно, внутривентрикулярно и внутримышечно, так как его опытные партии предназначены для внутримышечного введения. Гумат леонардита и сапропелевый гумат (5.0% водные растворы, изготовленные экстремально) вводили подкожно и внутривентрикулярно, так как предполагаемый терапевтический

способ применения – перорально. Интактные группы составляли здоровые животные (вводили 0.9% раствор натрия хлорида в эквивалентных изучаемым фармакологическим веществам объемах и способах введения). Расчет LD<sub>50</sub> проводили с использованием метода «накопленных частот» в модификации Беренса и методом пробит-анализа. Дозы выбирали согласно рядам Фульда [5, 4].

При однократном внутрижелудочном введении в дозах до 1000 мг/кг (с учетом предельно допустимого объема вводимого раствора) лигногумат, гумат леонардита и сапропелевый гумат не вызывают летальных исходов в первые сутки и последующие 14 дней. У всех выживших животных не было выявлено достоверных изменений массы тела (Табл. 1), поведенческих реакций, двигательной активности, вегетативной иннервации, объема и цвета мочи, дефекации, употребле-

ния корма (в пределах 5–7 г/гол./сут. для мышей) и воды (3.5–5.5 мл/гол./сут.) (Табл. 2).

При парентеральном введении высоких доз часть животных погибало на 1–3 сутки или сразу на фоне клонико-тонических судорог, саккодированного дыхания и симптомов легочно-сердечной недостаточности.

Результаты патолого-анатомических исследований органов погибших животных выявили окрашивание в серовато-коричневатый цвет мышечной ткани (лигногумат – внутримышечно), толщи дермы и подкожной жировой клетчатки (сапропелевый гумат, гумата леонардит – подкожно), что вероятно обусловлено процессами всасывания солей гуминовых кислот, имеющих коричневую окраску. Слизистая оболочка желудка и тонкого кишечника розоватого цвета, не выявлено язв, эрозий и кровоизлияний. В брыжейке тонкого

Таблица 1

*Влияние лигногумата, сапропелевого гумата, гумата леонардита на массу тела мышей при однократном внутрижелудочном введении*

| Масса тела, г                 | Исходно   | 7 дней   | 14 дней  |
|-------------------------------|-----------|----------|----------|
| Интакт                        | 20.5±2.3  | 22.0±0.9 | 25.0±2.5 |
| Лигногумат 280 мг/кг          | 20.0±1.5  | 21.5±1.4 | 25.5±2.7 |
| Сапропелевый гумат 280 мг/кг  | 22.7±1.20 | 23.5±2.5 | 26.1±3.5 |
| Гумат леонардита 280 мг/кг    | 22.0±5.3  | 24.5±2.4 | 25.7±3.3 |
| Лигногумат 460 мг/кг          | 20.0±0.9  | 22.3±0.9 | 25.7±2.8 |
| Сапропелевый гумат 460 мг/кг  | 21.5±0.9  | 22.8±2.1 | 24.0±0.9 |
| Гумат леонардита 460 мг/кг    | 21.0±3.5  | 23.0±0.7 | 25.6±2.5 |
| Лигногумат 1000 мг/кг         | 22.0±2.1  | 24.1±3.2 | 24.9±3.0 |
| Сапропелевый гумат 1000 мг/кг | 21.0±3.5  | 22.5±2.4 | 23.4±1.5 |
| Гумат леонардита 1000 мг/кг   | 19.9±2.3  | 21.8±2.4 | 22.1±3.2 |

Таблица 2

*Влияние лигногумата, сапропелевого гумата, гумата леонардита на потребление воды и корма при однократном внутрижелудочном введении мышам*

| Показатель                     | Исходно | 7 дней  | 14 дней |
|--------------------------------|---------|---------|---------|
| Потребление воды, мл/гол./сут. |         |         |         |
| Интакт                         | 3.9±0.6 | 3.9±0.3 | 3.8±0.4 |
| Лигногумат 280 мг/кг           | 3.8±0.3 | 3.9±0.2 | 5.4±0.4 |
| Сапропелевый гумат 280 мг/кг   | 4.0±0.8 | 5.4±0.5 | 5.4±0.4 |
| Гумат леонардита 280 мг/кг     | 4.1±0.7 | 5.3±0.5 | 5.3±0.3 |
| Лигногумат 460 мг/кг           | 4.0±0.8 | 5.2±0.7 | 5.4±0.8 |
| Сапропелевый гумат 460 мг/кг   | 3.9±0.9 | 4.0±0.3 | 4.9±0.4 |
| Гумат леонардита 460 мг/кг     | 4.0±0.7 | 4.5±0.5 | 4.9±0.3 |
| Лигногумат 1000 мг/кг          | 4.0±0.3 | 4.2±0.4 | 4.1±0.3 |
| Сапропелевый гумат 1000 мг/кг  | 3.9±0.2 | 5.2±0.3 | 5.3±0.5 |
| Гумат леонардита 1000 мг/кг    | 3.8±0.5 | 4.1±0.4 | 5.3±0.8 |
| Потребление корма, г/гол./сут. |         |         |         |
| Интакт                         | 5.6±1.0 | 5.9±0.5 | 6.2±0.2 |
| Лигногумат 280 мг/кг           | 5.2±0.5 | 5.3±0.6 | 5.9±0.3 |
| Сапропелевый гумат 280 мг/кг   | 5.1±0.4 | 5.3±0.7 | 6.6±0.8 |
| Гумат леонардита 280 мг/кг     | 5.5±0.3 | 5.6±1.1 | 6.5±0.9 |
| Лигногумат 460 мг/кг           | 5.5±0.5 | 5.6±0.4 | 6.7±0.5 |
| Сапропелевый гумат 460 мг/кг   | 5.1±1.6 | 5.5±0.5 | 6.7±0.4 |
| Гумат леонардита 460 мг/кг     | 4.6±2.5 | 4.7±1.0 | 5.9±2.3 |
| Лигногумат 1000 мг/кг          | 5.3±1.5 | 5.5±1.5 | 5.6±1.2 |
| Сапропелевый гумат 1000 мг/кг  | 5.4±0.6 | 5.6±0.3 | 5.7±0.3 |
| Гумат леонардита 1000 мг/кг    | 5.2±0.3 | 5.5±0.2 | 6.0±1.0 |

кишечника – темноокрашенные включения, вероятно частицы гуминовых веществ. Тимус красновато-розовый, с единичными мелкоточечными кровоизлияниями. Легкие темно-алые, кровенаполнены. В полостях сердца жидкая кровь.

Выявлено (Табл. 3, 4) повышение массы селезенки (для сапропелевого гумата, гумата леонардита и лигногумата соответственно группам на 23.5%, 29.1% и 67.0%) и тимуса (на 54.1%, 50.8%, 19.6%), свидетельствующее о мобилизации лимфоидных клеток и их последующей гибели в селезенке. Выявлено снижение массы печени (на 38.4%, 33.4%, 31.3%), почек (на 20.3%, 13.4%, 14.5%), повышение массы сердца (не более чем на 18.1%) и значительное увеличение массы легких (на 58.7%, 51.0% и 53.3%), что свидетельствует о смерти на фоне отека легких и сердечной недо-

статочности, подтверждая данные клинической картины гибели животных.

Определение наличия кумулятивного действия осуществляли по методу Lim'a [4] на 30 белых аутбредных крысах самцах массой 190.0±5.3 г. Дозы – от 0.1 до 1.12 от ЛД<sub>50</sub>, суммарная доза за 24 дня – 12.8 ЛД<sub>50</sub>.

При многократном внутримышечном введении лигногумата коэффициент кумуляции  $K_k=11.6$ , т.е.  $>10$ , что позволяет отнести его к умеренно опасным веществам по классификации И.В. Березовской (2010) [6], при этом нельзя исключить развитие привыкания, так как  $K_k>1$ . При многократном пероральном введении сапропелевого гумата и гумата леонардита не было выявлено гибели животных. В связи с тем, что суммарная доза составляла 12.8 ЛД<sub>50</sub>, следует предположить, что  $K_k>12$ , позво-

Таблица 3

Масса внутренних органов крыс, погибших в течение первых суток после внутримышечного введения лигногумата (доза 600 мг/кг)

| Показатель            | Масса тела | Относительная масса органов, г/кг массы тела |           |                |
|-----------------------|------------|----------------------------------------------|-----------|----------------|
|                       |            | Селезенка                                    | Тимус     | Надпочечники   |
| Интакт                | 191.9±5.4  | 4.00±0.50                                    | 0.61±0.12 | 0.29±0.02      |
| Лигногумат, ♀         | 170.4±8.7  | 7.07±1.50                                    | 1.04±0.13 | 0.35±0.04      |
| Лигногумат, ♂         | 183.7±2.4  | 6.30±2.56                                    | 0.50±0.05 | 0.26±0.02      |
| Лигногумат, среднее   | 177.0±7.8  | 6.68±1.38*                                   | 0.73±0.12 | 0.30±0.03      |
| разница с интактом, % | -7.8       | +67.0                                        | +19.6     | +3.4           |
| Показатель            | Почки      | Легкие                                       | Сердце    | Печень         |
| Интакт                | 8.49±0.48  | 6.51±0.46                                    | 4.25±0.22 | 52.65±4.00     |
| Лигногумат, ♀         | 7.26±0.13  | 10.08±0.56                                   | 4.56±0.10 | 36.23±1.02     |
| Лигногумат, ♂         | 7.26±0.41  | 9.88±0.44                                    | 4.41±0.35 | 36.14±4.52     |
| Лигногумат, среднее   | 7.26±0.20* | 9.98±0.33 ***                                | 4.49±0.17 | 36.19±2.15 *** |
| разница с интактом, % | -14.5      | +53.3                                        | +5.6      | -31.3          |

Примечание: \* –  $P<0,05$ ; \*\*\* –  $P<0,001$  – достоверность различий при сравнении показателей в опытных группах с интактом; ♀ – самки; ♂ – самцы.

Таблица 4

Масса внутренних органов животных, погибших после подкожного введения сапропелевого гумата и гумата леонардита (доза 1000 мг/кг)

| Показатель            | Масса тела | Относительная масса органов, г/кг массы |           |              |
|-----------------------|------------|-----------------------------------------|-----------|--------------|
|                       |            | Селезенка                               | Тимус     | Надпочечники |
| Интакт                | 214.0±2.4  | 3.06±0.21                               | 0.61±0.19 | 0.29±0.02    |
| Сапропелевый гумат    | 191.3±3.5  | 4.00±0.50*                              | 0.94±0.50 | 0.37±0.08    |
| разница с интактом, % | -10.6      | +23.5                                   | +54.1     | +27.6        |
| Гумат леонардита      | 198.5±5.3  | 3.95±0.54                               | 0.92±0.20 | 0.31±0.05    |
| разница с интактом, % | -7.24      | +29.1                                   | +50.8     | +6.9         |
| Показатель            | Почки      | Легкие                                  | Сердце    | Печень       |
| Интакт                | 8.49±0.48  | 6.51±0.46                               | 4.25±0.22 | 52.65±4.00   |
| Сапропелевый гумат    | 6.77±1.27  | 10.33±0.37***                           | 5.02±0.58 | 32.37±2.33*  |
| разница с интактом, % | -20.3      | +58.7                                   | +18.1     | -38.4        |
| Гумат леонардита      | 7.35±0.54  | 9.83±0.51***                            | 4.98±0.37 | 35.0±6.21*   |
| разница с интактом, % | -13.4      | +51.0                                   | +17.2     | -33.4        |

Примечание: \* –  $P<0,05$ ; \*\* –  $P<0,01$ ; \*\*\* –  $P<0,001$  – достоверность различий при сравнении показателей в опытных группах с интактом.

ляя отнести сапропелевый гумат и гумат леонардита к веществам умеренно опасным.

Сводный анализ параметров острой токсичности лигногумата, сапропелевого гумата и гумата леонардита при различных способах введения представлен в таблице (Табл. 5). Индекс широты терапевтического действия [5, 6, 7] рассчитан исходя из того, что терапевтическая доза составляет не более 10 мг/кг по результатам проведенных фармакологических исследований [2, 3], значения LD<sub>50</sub> взяты для лигногумата при внутримышечном введении крысам, для сапропелевого гумата и гумата леонардита – при подкожном введении крысам (Табл. 5).

### ВЫВОДЫ.

Лигногумат, сапропелевый гумат и гумат леонардита являются умеренно токсичными (3 класс

токсичности и опасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 и по классификации И.В. Березовской, 2003, 2010), не проявляют кумулятивных свойств и обладают значительной широтой терапевтического действия (индекс широты терапевтического действия >45), что является их важным фармако-токсикологическим преимуществом.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бузлама А.В. Анализ фармакологических свойств, механизмов действия и перспектив применения гуминовых веществ в медицине /А.В. Бузлама, Ю.Н. Чернов //ЭиКФ. — 2010. — Т. 73, № 9. — С. 43–48.
2. Бузлама А.В. Изучение противовоспалительной и анальгетической активности солей гуминовых кислот леонардита /А.В. Бузлама //Вестник РУДН. Сер. Медицина. — 2010. — №3. — С. 150–152.

Таблица 5

Параметры острой токсичности лигногумата, сапропелевого гумата и гумата леонардита

| Доза, мг/кг, способ введения                                                     | Вид животных | Кол-во животных | Лигногумат          | Сапропелевый гумат  | Гумат леонардита    |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------|-----------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Внутрижелудочно                                                                  |              |                 |                     |                     |                     |
| LD <sub>50</sub>                                                                 | мыши         | 100             | >1000               | >1000               | >1000               |
| МПД                                                                              |              |                 | 1000                | 1000                | 1000                |
| LD <sub>50</sub>                                                                 | крысы        | 80              | >1000               | >1000               | >1000               |
| МПД                                                                              |              |                 | 1000                | 1000                | 1000                |
| Подкожно                                                                         |              |                 |                     |                     |                     |
| LD <sub>50</sub>                                                                 | крысы        | 180             | –                   | 1482.5±203.0        | 799.8±144.8         |
| МПД                                                                              |              |                 | –                   | 770                 | 360                 |
| Внутрибрюшинно                                                                   |              |                 |                     |                     |                     |
| LD <sub>50</sub>                                                                 | мыши         | 36              | 459.2±95.2          | –                   | –                   |
| МПД                                                                              |              |                 | 280                 | –                   | –                   |
| LD <sub>50</sub>                                                                 | крысы        | 84              | 510.5±61.1          | –                   | –                   |
| МПД                                                                              |              |                 | 280                 | –                   | –                   |
| Внутримышечно                                                                    |              |                 |                     |                     |                     |
| LD <sub>50</sub>                                                                 | мыши         | 72              | 893.3±121.2         | –                   | –                   |
| МПД                                                                              |              |                 | 460                 | –                   | –                   |
| LD <sub>50</sub>                                                                 | крысы        | 72              | 974.9±135.0         | –                   | –                   |
| МПД                                                                              |              |                 | 360                 | –                   | –                   |
| Класс токсичности и опасности (по ГОСТ 12.1.007-76 и И.В. Березовской, 2003)     | –            | –               | 3 умеренно токсичны | 3 умеренно токсичны | 3 умеренно токсичны |
| Коэффициент кумуляции                                                            | крысы        | 30              | 11.6                | >12                 | >12                 |
| Степень опасности (по И.В. Березовской, 2010)                                    | –            | –               | умеренно опасны     | умеренно опасны     | умеренно опасны     |
| Индекс широты терапевтического действия (LD <sub>50</sub> /терапевтическая доза) | –            | –               | 97                  | 149                 | 80                  |
| Степень опасности (по И.В. Березовской, 2010)                                    | –            | –               | малоопасны          | малоопасны          | малоопасны          |

3. Бузлама А.В. Изучение антитоксических свойств солей гуминовых кислот в экспериментальных исследованиях / А.В. Бузлама, Ю.Н. Чернов, Ю.М. Дронова, М.А. Астанина // Научные ведомости БЕЛГУ, серия Медицина, Фармация. — 2011. — №22 (117). — Вып. 16. — С. 214–221.

4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / [под общ. ред. Р. У. Хабриева]. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2005. — 832 с.

5. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. — Л.: Государственное изд-во мед. литературы, 1963. — 152 с.

6. Березовская И.В. Прогноз безопасности лекарственных средств в доклинических токсикологических исследованиях / И.В. Березовская // Токсикологический вестник, 2010. — №5 (104). — С. 17–22.

7. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения / И.В. Березовская // Хим.-фарм. журнал, 2003. — Т. 37, №3. — С. 32–34.

---

*Бузлама Анна Витальевна* — доцент кафедры фармакологии фармацевтического факультета Воронежского государственного университета, кандидат медицинских наук, доцент; тел. (84732)530380; e-mail [buzlamaa@yandex.ru](mailto:buzlamaa@yandex.ru)

*Чернов Юрий Николаевич* — профессор, кафедры клинической фармакологии Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко, доктор медицинских наук, профессор; тел. (84732)371011.

*Сливкин Алексей Иванович* — заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета Воронежского государственного университета, доктор фармацевтических наук, профессор; тел. (84732)530789; e-mail [slivkin@pharm.vsu.ru](mailto:slivkin@pharm.vsu.ru)

*Buzlama Anna V.* — associate professor of the department of pharmacology, Voronezh state university, medical doctor; tel. (84732)530380; e-mail [buzlamaa@yandex.ru](mailto:buzlamaa@yandex.ru)

*Chernov Yuriy N.* — professor of the department of clinical pharmacology, Voronezh state medical academy named by N.N. Burdenko, doctor of medicine, professor, tel. (84732)371011.

*Slivkin Alexey I.* — head of the department of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, Voronezh state university, doctor of pharmacy, professor, tel. (84732)530789, e-mail [slivkin@pharm.vsu.ru](mailto:slivkin@pharm.vsu.ru)