

## 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. Berzovskaija, 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, противовоспалительные, 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 мышьях 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 мышьях 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 внутривентриально, внутривентриально 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 внутривентриально, 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)