

УДК 613.63

**В. А. Лось<sup>1</sup>, О. М. Климович<sup>2</sup>, Е. Л. Бердина<sup>2</sup>, О. В. Стасевич<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Белорусский государственный технологический университет<sup>2</sup>ГП «Научно-практический центр ЛОТИОС»**ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ГИДРОХЛОРТИАЗИДА  
В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VIVO**

Гидрохлортиазид является лекарственным веществом, которое используется для производства лекарственных препаратов на фармацевтических предприятиях. В связи с тем что превышение концентрации этого вещества в воздухе рабочей зоны фармацевтического предприятия увеличивает у работников риск возникновения немеланомного рака кожи и плоскоклеточной карциномы, в данной работе были проведены исследования токсичности гидрохлортиазид в экспериментах *in vivo*. В ходе исследования было сформировано 4 экспериментальные серии крыс по 5 особей обоего пола в каждой. В результате была рассчитана полулетальная доза гидрохлортиазид LD<sub>50</sub>, которая для самцов составила 3651 мг/кг, а для крыс-самок – 3163 мг/кг. Такие значения позволяют отнести данное вещество к V классу токсичности (практически нетоксично).

**Ключевые слова:** гидрохлортиазид, воздух рабочей зоны, предельно допустимая концентрация, полулетальная доза, класс токсичности.

**V. A. Los<sup>1</sup>, O. M. Klimovich<sup>2</sup>, E. L. Berdina<sup>2</sup>, O. V. Stasevich<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Belarusian State Technological University<sup>2</sup>SE “Scientific and Practical Center LOTIOS”**STUDY OF HYDROCHLOROTHIAZIDE TOXICITY IN VIVO EXPERIMENTS**

Hydrochlorothiazide is a substance, which it is used for production of medicines at pharmaceutical factories. There is risk for workers of appearance of nonmelanoma skin cancer and squamous-cell carcinoma if the concentration of hydrochlorothiazide is high in the working area of pharmaceutical factory, that is why the studies of hydrochlorothiazide toxicity in vivo experiments were conducted. In the course of the study 4 experimental series of rats with 5 individuals of both sexes were formed in each of them. The value of LD<sub>50</sub> of hydrochlorothiazide substance for both sexes was calculated (for male – 3651 mg/kg, for female – 3163 mg/kg), as a result toxicity class of this substance was determined – V (practically nontoxic).

**Key words:** hydrochlorothiazide, working area air, maximum allowable concentration, semi-lethal dose, toxicity class.

**Введение.** Промышленный прогресс – явление, безусловно, благоприятное в экономическом и социальном плане, однако очевидно и другое: широкое использование химических веществ в производственной среде и быту связано с риском для здоровья человека. Значительная часть химических соединений является ксенобиотиками – чужеродными веществами для биологических структур и объектов. Ксенобиотики, находясь в окружающей среде даже в количестве, не вызывающем выраженных токсических эффектов, оказывают хроническое действие, приводящее к дезадаптации организма, в первую очередь у людей с повышенной чувствительностью.

Современные представления о гигиенических регламентах вредных веществ в окружающей среде базируются на принципиальных положениях о том, что их воздействие не должно вызывать у индивидуума даже временных нарушений гомеостаза (включая репродуктивную функцию), а также напряжения защитных и адаптационных механизмов ни в ближайшем, ни

в отдаленном будущем. Негативное действие химических веществ не должно реализовываться ни при прямом воздействии на человека, ни при опосредованном – через экологические системы или возможный экономический ущерб.

Фармацевтическое производство представляет собой потенциальную опасность для работников, так как в воздухе рабочей зоны присутствуют взвешенные частицы субстанций, на основе которых готовят лекарственные средства. В соответствии с модифицированной классификацией Организации экономического содействия и развития, по степени воздействия на организм вредные вещества, входящие в состав лекарственных средств, подразделяются на 6 классов опасности [1]:

I – чрезвычайно токсичные;

II – высокотоксичные;

III – умеренно токсичные;

IV – малотоксичные;

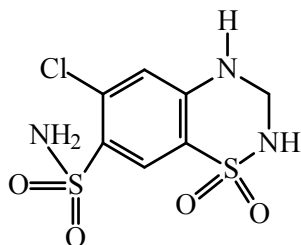
V – практически нетоксичные;

VI – относительно безвредные.

В связи с этим производство лекарственных средств в современных условиях требует всестороннего исследования их возможного неблагоприятного влияния на организм работающих, оценки реальной опасности с обязательным установлением их предельных уровней воздействия (ПДК, ОБУВ), что обеспечивает безопасные условия труда и проживания человека.

Цель настоящей работы – определение полулетальной дозы гидрохлортиазида и оценка его общетоксического действия в экспериментах *in vivo* на крысах.

**Основная часть.** Объектом исследования служила субстанция гидрохлортиазида (ГХ) – белый или почти белый кристаллический порошок, малорастворимый в воде (рисунок).



Структурная формула гидрохлортиазида

Гидрохлортиазид является тиазидным диуретиком средней силы. Было выявлено, что попадание этого вещества в организм человека повышало риск немеланомного рака кожи и плоскоклеточной карциномы [2]. Для проведения данного исследования были выбраны крысы линии Вистар как один из видов, общепринятых для доклинических исследований. До начала исследования прибывшие животные были помещены на 7 суток в отдельное помещение на период адаптации, во время которого у животных контролировали проявления отклонений в состоянии здоровья.

В ходе исследования было сформировано 4 экспериментальные серии крыс по 5 особей обоего пола в каждой, каждому животному был присвоен номер.

*Первая экспериментальная серия:*

– группа ГХ-1: самцы (№ 1.1–1.5), доза субстанции ГХ – 1500 мг/кг (1,5 мл 20%-ной суспензии на 200 г животного);

– группа ГХ-2: самки (№ 2.1–2.5), доза субстанции ГХ составила 1500 мг/кг (1,5 мл 20%-ной суспензии на 200 г животного).

*Вторая экспериментальная серия:*

– группа ГХ-3: самцы (№ 3.1–3.5), доза субстанции ГХ – 2250 мг/кг (2,25 мл 20%-ной на 200 г животного);

– группа ГХ-4: самки (№ 4.1–4.5), доза субстанции ГХ – 2250 мг/кг (2,25 мл 20%-ной суспензии на 200 г животного).

*Третья экспериментальная серия:*

– группа ГХ-5: самцы (№ 5.1–5.5), доза субстанции ГХ – 3000 мг/кг (3,0 мл 20%-ной суспензии на 200 г животного);

– группа ГХ-6: самки (№ 6.1–6.5), доза субстанции ГХ – 3000 мг/кг (3,0 мл 20%-ной суспензии на 200 г животного).

*Четвертая экспериментальная серия:*

– группа ГХ-7: самцы (№ 7.1–7.5), доза субстанции ГХ – 3750 мг/кг (3,75 мл 20%-ной суспензии на 200 г животного);

– группа ГХ-8: самки (№ 8.1–8.5), доза субстанции ГХ – 3750 мг/кг (3,75 мл 20%-ной суспензии на 200 г животного).

Для удобства введения готовили 20%-ную суспензию субстанции ГХ. В качестве среды для равномерного распределения ГХ использовали 1,0%-ный водный крахмальный гель. Приготовление суспензии осуществляли при постоянном перемешивании на магнитной мешалке и подогреве до 37°C. Перед введением животным суспензию охлаждали до комнатной температуры. Использование 1,0%-ного крахмального геля обеспечивало равномерное распределение в объеме плохо растворимых в воде вводимых компонентов.

Введение субстанции ГХ осуществляли однократно перорально с помощью атравматического зонда. При этом осуществляли запись времени введения, чтобы точно определить развитие параметров интоксикации.

Для контроля динамики массы тела и относительной массы внутренних органов была сформирована контрольная серия животных (5 самцов и 5 самок), которым не осуществляли никаких введений.

За животными проводили наблюдение в течение 14 суток, ежедневно отслеживая количество погибших крыс. Животных взвешивали 3 раза за период наблюдения (до введения, через 7 и 14 суток после введения). Клинический осмотр проводили в день введения – через 30 мин, 1 и 4 ч, а также на 1-, 3-, 7-, 10- и 14-е сутки после введения субстанции ГХ.

В ходе наблюдения за животными отслеживали следующие параметры интоксикации: возбудимость, двигательная активность, судороги, состояние шерсти, пилоэрекция, диурез, дыхание, тонус сосудов уха, глазные симптомы, саливация и состояние ЖКТ.

Результаты клинических испытаний субстанции ГХ по отношению к крысам-самцам представлены в табл. 1, а к крысам-самкам – в табл. 2.

Таблица 1

**Клинические признаки интоксикации и смертность крыс-самцов  
при пероральном введении субстанции гидрохлортиазида**

Группа / доза, мг/кг	Временная точка исследования	Номера животных	Смертность	Клинические признаки интоксикации
ГХ-1 / 1500	30 мин	1.1–1.5	Нет	Отсутствуют
	1 ч, 4 ч		Нет	Отсутствуют
	1-, 3-, 7-, 10-, 14-е сутки		Нет	Отсутствуют
ГХ-3 / 2250	30 мин	3.1–3.5	Нет	Отсутствуют
	1 ч, 4 ч		Нет	Отсутствуют
	1-, 3-, 7-, 10-, 14-е сутки		Нет	Отсутствуют
ГХ-5 / 3000	30 мин	5.1–5.5	Нет	Пассивная двигательная активность
	1 ч, 4 ч		Нет	Замедленная двигательная активность
	1-, 3-, 7-, 10-, 14-е сутки		2	Отсутствуют
ГХ-7 / 3750	30 мин	7.1–7.5	Нет	Пассивная двигательная активность
	1 ч, 4 ч		1	Пассивная двигательная активность
	1-, 3-, 7-, 10-, 14-е сутки		2	Отсутствуют

Таблица 2

**Клинические признаки интоксикации и смертность крыс-самок  
при пероральном введении субстанции гидрохлортиазида**

Группа / доза, мг/кг	Временная точка исследования	Номера животных	Смертность	Клинические признаки интоксикации
ГХ-2 / 1500	30 мин	2.1–2.5	Нет	Отсутствуют
	1 ч, 4 ч		Нет	Отсутствуют
	1-, 3-, 7-, 10-, 14-е сутки		Нет	Отсутствуют
ГХ-4 / 2250	30 мин	4.1–4.5	Нет	Отсутствуют
	1 ч, 4 ч		Нет	Отсутствуют
	1-, 3-, 7-, 10-, 14-е сутки		Нет	Отсутствуют
ГХ-6 / 3000	30 мин	6.1–6.5	Нет	Пассивная двигательная активность
	1 ч, 4 ч		Нет	Замедленная двигательная активность
	1-, 3-, 7-, 10-, 14-е сутки		2	Отсутствуют
ГХ-8 / 3750	30 мин	8.1–8.5	Нет	Пассивная двигательная активность
	1 ч, 4 ч		2	Пассивная двигательная активность
	1-, 3-, 7-, 10-, 14-е сутки		2	Отсутствуют

Как показано в табл. 1, 2, общее состояние и поведение крыс, получавших субстанцию ГХ в дозах 1500 и 2250 мг/кг, не отличалось от зарегистрированного у животных контрольной серии.

В первые 30 мин после введения субстанции ГХ в дозе 3000 мг/кг отмечали пассивную двигательную активность самцов и самок крыс, в последующие 4 ч наблюдения двигательная активность животных оставалась замедленной. При введении субстанции ГХ самцам и самкам в максимальной из исследованных доз (3750 мг/кг) регистрировали пассивную двигательную активность животных на протяжении 4 ч наблюдения.

Однократное введение субстанции ГХ в дозе 3000 мг/кг вызывало гибель самцов (№ 5.3 и 5.5) и самок (№ 6.1 и 6.2) на первые сутки после введения. В серии животных, получавших субстанцию ГХ в дозе 3750 мг/кг, регистрировали гибель части самцов (№ 7.2, 7.4 и 7.5) и самок (№ 8.1, 8.2, 8.4 и 8.5) через 4 ч и 1 сутки наблюдений.

В течение последующих суток наблюдений у выживших животных признаков интоксикации не наблюдали.

Установлено, что однократное пероральное введение субстанции ГХ самцам и самкам крыс в исследуемых дозах не вызывало снижения массы тела через 7 и 14 суток эксперимента, в сравнении с начальной массой животных.

Динамика прироста значений массы тела крыс всех экспериментальных серий была сопоставимой с зарегистрированной для контрольных животных в соответствующий временной период.

На основании полученных данных о смертности крыс обоих полов в соответствии с [3] была рассчитана полулетальная доза ГХ ( $LD_{50}$ , мг/кг), вызывающая гибель половины особей испытываемой группы (табл. 3).

Таблица 3

**Полулетальная доза гидрохлортиазида для крыс при пероральном введении**

Пол	Доза, мг/кг	Погибло/выжило, особей	$LD_{50}$ , мг/кг
Самцы	1500	0/5	3651
	2250	0/5	
	3000	2/3	
	3750	3/2	
Самки	1500	0/5	3163
	2250	0/5	
	3000	2/3	
	3750	4/1	

Для расчета использовали пробит-анализ. Каждому соотношению «умершие особи/участующие особи» присваивался соответствующий коэффициент. Строили градуировочный график зависимости дозы от отклика (коэффициента) с использованием программы MS Excel. По полученному графику находили полулетальную дозу. Пробит-коэффициент для полулетальной дозы равнялся 5.

Как видно, рассчитанная в эксперименте величина  $LD_{50}$  субстанции ГХ для крыс-самцов

составила 3651 мг/кг, а для крыс-самок – 3163 мг/кг, что позволяет отнести данное вещество к V классу токсичности (практически нетоксично) согласно ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика» [1].

**Заключение.** В ходе исследования острой токсичности субстанции гидрохлортиазида при пероральном введении крысам установлено следующее:

– введение субстанции в дозе 3000 мг/кг вызывало пассивную двигательную активность самцов и самок крыс в первые 30 мин после введения, в последующие 4 ч наблюдений двигательная активность животных оставалась замедленной. При введении субстанции ГХ самцам и самкам в дозе 3750 мг/кг регистрировали пассивную двигательную активность животных на протяжении 4 ч наблюдений. Однократное введение субстанции ГХ в дозе 3000 мг/кг вызывало гибель самцов и самок на первые сутки после введения субстанции. В серии животных, получавших субстанцию ГХ в дозе 3750 мг/кг, регистрировали гибель части самцов и самок через 4 ч и 1 сутки наблюдений;

– однократное пероральное введение субстанции ГХ самцам и самкам крыс в исследуемых дозах не вызывало снижения массы тела через 7 и 14 суток эксперимента в сравнении с начальной массой животных;

– величина  $LD_{50}$  субстанции ГХ для крыс-самцов составила 3651 мг/кг, а для крыс-самок – 3163 мг/кг, что позволяет отнести это вещество к V классу токсичности (практически нетоксично).

Полученные данные являются основой для расчета ПДК гидрохлортиазида в воздухе рабочей зоны.

### Литература

1. Надлежащая лабораторная практика: ТКП 125-2008. Минск: М-во здравоохранения Респ. Беларусь, 2008. 35 с.
2. Hydrochlorothiazide use and risk of non-melanoma skin cancer: A nationwide case-control study from Denmark / S. A. Pedersen [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2018. Vol. 78 (4). P. 673–681.
3. Руководство по доклиническому изучению лекарственных средств / под общ. ред. А. Н. Мирнова. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.

### References

1. ТКП 125-2008. Good laboratory practice. Minsk, Ministry of Health of the Republic of Belarus Publ., 2008. 35 p. (In Russian).
2. Pedersen S. A., Gaist D., Johannesdottir Schmidt S. A., Hölmich L. R., Friis S., Pottegard A. Hydrochlorothiazide use and risk of non-melanoma skin cancer: A nationwide case-control study from Denmark. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2018, vol. 78 (4), pp. 673–681.
3. *Rukovodstvo po doklinicheskomu izucheniyu lekarstvennykh sredstv* [Guidelines for the preclinical study of drugs]. Edited by A. Mironov. Moscow, Grif and K Publ., 2012. 944 p.

### Информация об авторах

**Лось Вадим Анатольевич** – магистрант. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: los.vadim2018@mail.ru

**Климович Ольга Михайловна** – кандидат биологических наук, заведующий отделом экспериментальной медицины и фармации. ГП «Научно-практический центр ЛОТИОС» (220034, г. Минск, ул. Змитрока Бядули, 10, Республика Беларусь). E-mail: lotios@mail.ru

**Бердина Елена Леонидовна** – заместитель заведующего отделом экспериментальной медицины и фармации. ГП «Научно-практический центр ЛОТИОС» (220034, г. Минск, ул. Змитрока Бядули, 10, Республика Беларусь). E-mail: lotios@mail.ru

**Стасевич Ольга Викторовна** – кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры физико-химических методов сертификации продукции. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: stasevich@belstu.by

#### **Information about the authors**

**Los' Vadim Anatol'yevich** – Master's degree student. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: los.vadim2018@mail.ru

**Klimovich Ol'ga Mikhaylovna** – PhD (Biology), Head of the Department of Experimental Medicine and Pharmacy. SE “Scientific and Practical Center LOTIOS” (10, Zmitroka Byaduli str., 220034, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lotios@mail.ru

**Berdina Elena Leonidovna** – Deputy Head of the Department of Experimental Medicine and Pharmacy. SE “Scientific and Practical Center LOTIOS” (10, Zmitroka Byaduli str., 220034, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lotios@mail.ru

**Stasevich Ol'ga Viktorovna** – PhD (Chemistry), Associate Professor, Assistant Professor, the Department of Physical-Chemical Methods for Products Certification. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: stasevich@belstu.by

*Поступила 15.11.2019*