

Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-7-3-9
© Коллектив авторов, 2020

А. А. Спасов¹, Л. И. Бугаева², В. В. Багметова^{2,3,*}, С. А. Лебедева²,
А. Ю. Гетманенко²

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ОСМОРЕГУЛЯТОРОВ СОРБИТА И МАННИТА В СОСТАВЕ ПРЕПАРАТА АСПАРКАМ-L НА ДИУРЕЗ И САЛУРЕЗ КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДОЗЫ

¹ ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Россия, 400131, Волгоград, пл. Павших борцов, 1

² Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Россия, Волгоград

³ Астраханский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ, Россия, 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121

* e-mail: vvbagmetova@gmail.com

Изучено влияние осморегуляторов D-сорбита и D-маннита в составе раствора для инфузий «Аспаркам-L» на диурез и экскрецию с мочой K^+ и Mg^{2+} у белых беспородных крыс. Животным однократно внутривенно вводили образцы препарата «Аспаркам-L»: 1 — с осморегулятором D-сорбитом, 2 — с осморегулятором D-маннитом, 3 — без осморегуляторов, в рекомендуемой разовой дозе (1РРД, пересчитанная с дозы 10 мл однократно для человека со средней массой 70 кг), а также в дозах, превышающих 1РРД в 2, 4 и 6 раз. При использовании всех изученных доз на фоне незначительных колебаний диуреза наименьшее выведение с мочой K^+ и Mg^{2+} отмечалось при применении образца 1, наибольшее — при применении образца 2. Уровень экскреции K^+ и Mg^{2+} у крыс, получавших образец 2, был статистически значимо выше, чем у контрольных животных, получавших 0,89 % NaCl в объеме, эквивалентном 6 РРД. Повышение экскреции K^+ и Mg^{2+} на фоне применения образца 2, вероятно, указывает на его меньшую эффективность и нецелесообразность использования маннита в качестве осморегулятора в составе препарата, предназначенного для восполнения дефицита этих катионов.

Ключевые слова: калий; магний; D-сорбит; D-маннит; Аспаркам-L.

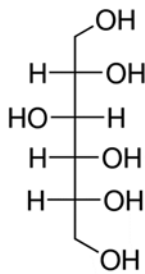
Для восполнения дефицита нутриентов калия и магния в медицине широко применяются лекарственные препараты калиевых и магниевых солей аспарагиновой кислоты (аспаркам, панангин, паматон, калия и магния аспарагинат), которые разработаны на основе рацемической смеси L- и D-стереоизомеров аспарагиновой кислоты. На сегодняшний день доказано, что в организме человека более активно усваиваются и вовлекаются в биохимические процессы L-изомеры аминокислот, тогда как D-стереоизомеры при попадании в организм метаболизируются оксидазой D-аминокислот в α -оксикислоты [1]. Новый отечественный препарат «Аспаркам-L», разработанный волгоградскими фармакологами совместно с АО «Биоамид» (Саратов, Россия), имеет в своем составе только активный левовращающий оптический стереоизомер аспарагиновой кислоты [2]. L-Аспарагиновая кислота является эндогенной метаболически активной аминокислотой, которая выступает в роли своего рода «транспортера электролитов» — способствует поступлению калия и маг-

ния внутрь клетки и повышает их усвоение тканями [1, 3]. Использование в качестве хелатирующего агента для катионов калия и магния L-аспарагиновой кислоты в составе препарата «Аспаркам-L» обеспечивает более высокую биодоступность и полноту усвоения калия и магния, по сравнению с препаратами на основе рацемической аспарагиновой кислоты. В этой связи данный препарат может применяться для устранения дефицита магния и калия, нормализации электролитного баланса и улучшения обмена веществ в миокарде [2].

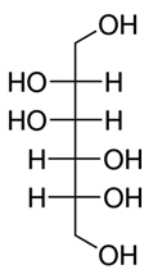
В качестве вспомогательного компонента, выступающего осморегулятором, в состав «Аспаркам-L» в форме раствора для внутривенных инфузий введен шестиатомный спирт сорбит в виде D-стереоизомера [2]. В состав другого известного препарата для внутривенного введения «Калия и магния аспарагинат Берлин-Хеми» в качестве изотонирующего вещества включен пятиатомный спирт ксилит [4]. Перечисленные полиолы в составе препаратов калия и магния аспарагината для внутривенного введения используют

для придания растворам изотонических свойств. В патенте CN 13518674 “Средство для инфузионных инъекций “калия и магния L-аспарагинат” и способ его приготовления” [5] предложено в качестве регулятора осмотического давления использовать шестиатомный спирт маннит.

Шестиатомные спирты D-сорбит и D-маннит проявляют осмотическую активность. В частности, сорбит при пероральном приеме проявляет свойства осмотического слабительного средства [6]. Маннит применяется в клинической практике как осмотический диуретик. Данный препарат вводится внутривенно и повышает осмотическое давление плазмы, что вызывает приток интерстициальной жидкости в сосудистое русло, следствием этого являются увеличение объема циркулирующей жидкости и дегидратация тканей (в частности глазного яблока, головного мозга). Увеличение осмотического давления и объема циркулирующей крови приводит к усилению почечной фильтрации без последующей реабсорбции, поскольку, попадая в неизменном виде в просвет проксимальных канальцев, маннит повышает осмотическое давление мочи, что препятствует реабсорбции воды и увеличивает ее выведение [7, 8, 9]. В официальной инструкции по применению данного препарата сообщается, что его диуретический эффект сопровождается умеренным увеличением натрийуреза без существенного влияния на экскрецию ионов калия, однако сведения о влиянии на выведение ионов магния отсутствуют [7].



D-сорбит



D-маннит

Целесообразность использования маннита в качестве осморегулятора в составе инфузионного препарата калия и магния L-аспарагината, предназначенного для восполнения дефицита таких нутриентов как калий и магний, вызывает сомнения, поскольку в литературе встречаются данные, показывающие, что маннит, являясь осмотическим диуретиком, ингибирует почечную реабсорбцию и увеличивает экскрецию не только натрия, но и калия [8, 9, 10, 11], а также магния [9, 12]. В настоящем исследовании рассматривается возможность использования в составе препарата “Аспаркам-L” шестиатомного спирта — D-маннита в сравнении с аналогичным препаратом, в состав которого включен шестиатомный спирт D-сорбит.

Основными регуляторами калиевого и магниевого гомеостаза в организме выступают почечная фильтрация, реабсорбция и секреция, среди которых в наибольшей степени на баланс данных катионов влияют процессы реабсорбции их в почечных канальцах. До-

казано, что реабсорбция калия и магния является жестко регулируемым процессом, который определяет конечную их концентрацию в моче [13, 14, 15]. В связи с этим для сравнительной оценки влияния осморегуляторов D-сорбита и D-маннита в составе препарата “Аспаркам-L” на регуляцию калиевого и магниевого гомеостаза исследовали их влияние на диурез (объем мочи) и салурез (содержание катионов K^+ и Mg^{2+} в моче) белых беспородных крыс.

Цель настоящего исследования — сравнительное изучение влияния осморегуляторов D-сорбита и D-маннита в составе раствора для внутривенных инфузий препарата “Аспаркам-L” на диурез и экскрецию с мочой калия и магния у крыс.

Экспериментальная часть

В исследовании тестировали образцы препарата “Аспаркам-L”, состав которых отличался наличием осморегуляторов D-сорбита или D-маннита, либо их отсутствием, произведенные и предоставленные ПАО “Биосинтез”, группа компаний Сан Фарма (Пенза, Россия) по технологии ЗАО “Биоамид” (Саратов, Россия) (табл. 1).

Исследование выполнено в соответствии с ГОСТ 33044-2014 “Принципы надлежащей лабораторной практики”, Приказом Минздрава России от 01.04.2016 № 199н “Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики” и требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Эксперименты проводили на 130 белых нелинейных половозрелых крысах самцах массой 200 – 250 г, 4 – 5-месячного возраста, полученных из ООО “НПК БиоТех” (Московская обл., Одинцовский район, пос. Летний Отдых, Россия), прошедших 2-недельный карантин в конвенциональном виварии лаборатории токсикологии НЦИЛС ВолгГМУ.

Дозы исследуемых образцов Аспаркама-L с учетом коэффициентов пересчета [16] были пересчитаны для крыс с дозы, используемой в клинической практике. Согласно официальной инструкции по применению препарата Аспаркам-L рекомендуемые дозы составляют 10 – 20 мл раствора для инфузий 1 – 2 раза в день [2]. Таким образом, рекомендуемая разовая доза (РРД) препарата Аспаркам-L в лекарственной форме “раствор для внутривенного введения” для человека со средней массой тела, равной 70 кг, составляет 10 мл при однократном введении препарата, т.е. 0,14 мл/кг. При этом содержимое 1 ампулы объемом 10 мл растворяют в 20 мл стерильной воды для инъекций и вводят медленно (не более 5 мл в минуту). Перерасчет дозы препарата для крыс производится по формуле:

$$\text{Доза для крысы (мл/кг)} = \text{доза для человека (мл/кг)} \times \text{КП [человек]/КП [крыса]}, \quad (1)$$

где КП — коэффициент перерасчета на площадь поверхности тела; КП для человека со средней массой

тела, равной 70 кг, составляет 39; КП для крысы со средней массой тела, равной 200 г, — 6,5 [16].

Таким образом, доза для крысы составила 0,84 мл/кг:

$$\begin{aligned} \text{Доза для крысы (мл/кг)} &= \\ &= 0,14 \cdot 39/6,5 = 0,84 \text{ мл/кг.} \end{aligned} \quad (2)$$

Объем стерильной воды для инъекций, используемой в качестве растворителя для препарата, рассчитывался аналогичным образом. Объем растворителя для препарата в дозе 10 мл для человека со средней массой тела, равной 70 кг, составляет 20 мл, то есть 20 мл/70 кг = 0,29 мл/кг и далее по формуле:

$$\begin{aligned} \text{Доза для крысы (мл/кг)} &= \\ &= 0,29 \cdot 39/6,5 = 1,74 \text{ мл/кг.} \end{aligned} \quad (3)$$

Формировали 12 групп опытных и 1 группу контрольных животных по 10 особей в каждой. С целью определения диапазона эффективных доз использовали дозы, кратные РРД: 2РРД — 2-кратно увеличенная РРД; 4РРД — 4-кратно увеличенная РРД и 6РРД — 6-кратно увеличенная РРД. Учитывая тот факт, что, как и многие другие органические соли калия и магния [17, 18], изучаемый калия-магния L-аспарагинат относится к малотоксичным веществам (при внутривенном введении LD₅₀ данного соединения составляет 619 мг/кг [1]), сочли целесообразным сравнить эффекты РРД и более высоких доз, предположительно являющихся безопасными в токсикологическом плане. Группам опытных животных однократно вводили тестируемые образцы 1 – 3 внутривенно медленно в хвостовую вену и растворитель (стерильная вода для инъекций, “Вода для инъекций буфус Renewal”, Обновление ПФК, Россия) внутрибрюшинно в дозах: 1РРД (одна рекомендуемая разовая доза) — 0,84 мл/кг (исследуемый образец) и 1,74 мл/кг (растворитель); 2РРД (две рекомендуемые разовые дозы) — 1,68 мл/кг (исследуемый образец) и 3,48 мл/кг (растворитель); 4РРД (четыре рекомендуемые разовые дозы) — 3,36 мл/кг (исследуемый образец) и 6,96 мл/кг (растворитель); 6РРД (шесть рекомендуемых разовых доз) — 5,04 мл/кг (исследуемый образец) и 10,44 мл/кг (растворитель). Контрольная группа животных получала раствор натрия хлорида изотонический для инфузий (ООО “Гротекс”, Санкт-Петербург, Россия) — образец 4 внутривенно и стерильную воду для инъекций внутрибрюшинно в дозе, соответствующей 6РРД.

Через 30 мин после введения тестируемых образцов 1 – 4 и растворителя крысам внутривенно вводили дистиллированную воду для создания водной нагрузки, которая рассчитывалась из максимально допустимых норм введения жидкости животным внутривенно. Согласно рекомендациям “Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств” [16] данный объем составил 25 мл/кг. При расчете дозы водной нагрузки учитывали объем вводимого препарата и растворителя для создания равных условий у животных, получающих разные дозы и, следовательно, объемы препарата и растворителя.

Формула расчета водной нагрузки:

$$\begin{aligned} \text{Для дозы 1РРД объем водной нагрузки} &= \\ &= 25 \text{ мл/кг} - (0,84 \text{ мл/кг} + 1,74 \text{ мл/кг}) = 22,4 \text{ мл/кг.} \end{aligned} \quad (4)$$

Аналогичным образом рассчитывался объем водной нагрузки для других доз, который составил для крыс, получавших 2РРД, — 19,8 мл/кг; 4РРД — 14,7 мл/кг; 6РРД — 9,5 мл/кг.

Затем крыс размещали по 1 особи в метаболические клетки (“Nalgene”, Италия) со свободным доступом к питьевой воде, через 3 ч у этих животных измеряли объем выделенной мочи, в которой определяли концентрацию магния (по конечной точке с ксиллиловым синим I) и калия (при помощи ионселективных электродов) на биохимическом анализаторе Indiko Plus (Thermo Fisher Scientific Oy, Финляндия).

Для проведения статистической обработки результатов использовали пакет прикладных программ Microsoft Excel и STATISTICA 6.0. Данные в таблицах представляли в виде $M \pm m$, где M — средняя арифметическая, m — стандартная ошибка средней. Значимость различий определяемых показателей в опытных группах от соответствующих показателей в контрольной выборке оценивали с помощью t -критерия Стьюдента [16].

Результаты и их обсуждение

Результаты изучения влияния осморегуляторов сорбита и маннита в составе препарата Аспаркам-L на диурез и салурез у интактных крыс представлены в табл. 2.

Объем выделенной мочи у животных, получавших тестируемые образцы 1 – 3, во всех испытываемых дозах не имел статистически значимых отличий от анало-

Таблица 1

Состав тестируемых образцов препарата Аспаркам-L

Состав тестируемого образца		
1	2	3
Кислота L-аспарагиновая, магния оксид, калия гидроокись, сорбит пищевой, вода для инъекций. В 1 мл раствора препарата содержится 40 мг магния L-аспарагината, 45 мг калия L-аспарагината, 50 мг сорбита.	Кислота L-аспарагиновая, магния оксид, калия гидроокись, маннит, вода для инъекций. В 1 мл раствора препарата содержится 40 мг магния L-аспарагината, 45 мг калия L-аспарагината, 50 мг маннита.	Кислота L-аспарагиновая, магния оксид, калия гидроокись, вода для инъекций. В 1 мл раствора препарата содержится 40 мг магния L-аспарагината, 45 мг калия L-аспарагината.

гичных показателей животных, получавших физиологический раствор (тестируемый образец 4). У животных, получавших тестируемый образец 1 (с D-сорбитом в составе) в дозах 1РРД, 2РРД и 6РРД, а также тестируемый образец 3 (без осморегуляторов в составе) в дозе 1РРД, значение данного показателя практически не отличалось от показателя животных, получавших тестируемый образец 4 (отличия не превышали 3%). При этом у животных, получавших тестируемый образец 2 (с D-маннитом в составе), отмечалась статистически незначимая тенденция увеличения объема выделяемой мочи по сравнению с показателем животных, получавших тестируемый образец

4, наиболее выраженная в дозах 1РРД, 2РРД и 4РРД — на 16,3% ($p > 0,05$), 16,3% ($p > 0,05$) и 12,2% ($p > 0,05$) соответственно. У животных, получавших тестируемые образцы 1 и 3 в дозе 4РРД, регистрировалась также незначимая тенденция изменения данного показателя относительно показателя крыс, получавших тестируемый образец 4, на 21,4%: у получавших образец 1 — повышения, а у получавших образец 3 — снижения. У крыс, получавших исследуемые образцы в дозе 6РРД, объем выделяемой мочи был практически одинаковым в группах образцов 1, 2 и 4. А у крыс, получавших образец 3, объем выделяемой мочи превышал показатели образца 4 на 10,7% ($p > 0,05$).

Таблица 2

Показатели выделенной мочи и содержания в ней калия и магния у крыс через 3 ч после введения исследуемых препаратов ($M \pm m$)

Доза	Показатель	Тестируемый образец			
		1. Аспаркам-L + сорбит	2. Аспаркам-L + маннит	3. Аспаркам-L	4. Физиологический раствор
1РРД	Объем мочи, мл	3,3 ± 0,39 (1,0 %)	3,8 ± 0,72 (16,3 %)	3,2 ± 0,35 (- 3,1 %)	
	К, ммоль/л	6,2 ± 2,03 (- 53,7 %)	25,5 ± 3,88 (90,2 %)*##	10,0 ± 2,23 (- 25,2 %)	
	К, мг/на объем мочи	0,7 ± 0,20 (- 58,3 %)*	4,2 ± 1,28 (145,2 %)#	1,2 ± 0,23 (- 30,5 %)	
	Mg, ммоль/л	5,0 ± 0,14 (46,9 %)*	6,1 ± 0,41 (78,3 %)*##	5,4 ± 0,42 (58,6 %)*	
	Mg, мг/на объем мочи	0,4 ± 0,04 (48,4 %)	0,6 ± 0,13 (115,8 %)	0,4 ± 0,06 (56,4 %)	
2РРД	Объем мочи, мл	3,4 ± 0,23 (2,6 %)	3,8 ± 0,33 (16,3 %)	3,6 ± 0,30 (9,7 %)	
	К, ммоль/л	18,3 ± 3,00 (36,8 %)	21,9 ± 3,98 (63,4 %)	12,0 ± 1,01 (- 10,2 %)	
	К, мг/на объем мочи	2,3 ± 0,31 (35,9 %)	3,2 ± 0,51 (86,9 %)*	1,7 ± 0,13 (- 2,3 %)	
	Mg, ммоль/л	5,0 ± 0,37 (45,8 %)*	6,2 ± 0,43 (81,8 %)**	5,4 ± 0,42 (59,3 %)*	
	Mg, мг/на объем мочи	0,4 ± 0,05 (53,7 %)*	0,6 ± 0,04 (109,7 %)**	0,5 ± 0,02 (71,4 %)**	
4РРД	Объем мочи, мл	4,0 ± 0,27 (21,4 %)	3,7 ± 0,25 (12,2 %)	2,6 ± 0,29 (- 21,4 %)#	
	К, ммоль/л	18,7 ± 3,52 (39,8 %)	24,0 ± 2,41 (79,1 %)*	16,6 ± 2,09 (24,0 %)	
	К, мг/на объем мочи	3,0 ± 0,62 (74,9 %)	3,5 ± 0,49 (105,9 %)*	1,8 ± 0,36 (3,2 %)	
	Mg, ммоль/л	5,3 ± 1,16 (54,2 %)	6,3 ± 0,23 (84,6 %)**	8,0 ± 0,51 (132,8 %)**	
	Mg, мг/на объем мочи	0,5 ± 0,13 (91,2 %)	0,6 ± 0,04 (109,1 %)**	0,5 ± 0,06 (90,4 %)**	
6РРД	Объем мочи, мл	3,3 ± 0,32 (0,5 %)	3,5 ± 0,40 (5,6 %)	3,6 ± 0,25 (10,7 %)	3,3 ± 0,16
	К, ммоль/л	26,2 ± 5,80 (95,3 %)	29,5 ± 2,31 (120,0 %)**	25,0 ± 1,99 (86,2 %)*	13,4 ± 3,04
	К, мг/на объем мочи	3,4 ± 0,83 (97,9 %)	3,8 ± 0,24 (126,2 %)**	3,6 ± 0,46 (111,6 %)**	1,7 ± 0,35
	Mg, ммоль/л	6,5 ± 0,59 (90,2 %)**	7,7 ± 0,20 (123,3 %)**	8,2 ± 0,41 (139,3 %)**##	3,4 ± 0,52
	Mg, мг/на объем мочи	0,5 ± 0,07 (90,9 %)*	0,6 ± 0,08 (139,4 %)**	0,7 ± 0,07 (169,6 %)**	0,3 ± 0,04

Изменения статистически значимы относительно показателя животных, получавших тестируемый образец 4, при: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; относительно показателя животных, получавших тестируемый образец 1, при: # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$.

В отношении выделяемых нутриентов калия и магния отмечено, что у животных, получавших тестируемые образцы 1 и 3 в дозе 1РРД, отчетливо снижались концентрация (ммоль/л) и содержание (мг/на объем мочи) калия в выделенной моче на 53,7 % ($p > 0,05$), 58,3 % ($p < 0,05$) и 25,2 % ($p > 0,05$), 30,5 % ($p > 0,05$) соответственно, по сравнению с показателями животных, получавших тестируемый образец 4. У животных, получавших в дозе 1РРД тестируемый образец 2, напротив, регистрировалось увеличение концентрации и содержания калия в выделенной моче относительно показателя крыс, получавших тестируемый образец 4 на 90,2 % ($p < 0,05$) и 145,2 % ($p > 0,05$) соответственно. Помимо этого, концентрация и содержание калия в выделенной моче у крыс, получавших тестируемый образец 2 в дозе 1РРД, были статистически значимо выше, чем у крыс, получавших тестируемый образец 1 в аналогичной дозе, на 311,0 % ($p < 0,01$) и 487,5 % ($p < 0,05$). Концентрация и содержание калия в выделенной моче у крыс, которым вводили тестируемый образец 1 в дозах 2РРД, 4РРД и 6РРД, дозозависимо увеличивались и превышали значения показателей животных, получавших тестируемый образец 4, на 36,8 % ($p > 0,05$) и 35,9 % ($p > 0,05$); 39,8 % ($p > 0,05$) и 74,9 % ($p > 0,05$); 95,3 % ($p > 0,05$) и 97,9 % ($p > 0,05$) соответственно. У животных, получавших тестируемый образец 2 в дозах 2РРД, 4РРД и 6РРД, отмечалось статистически значимое увеличение концентрации и содержания калия в выделенной моче на 63,4 % ($p > 0,05$) и 86,9 % ($p < 0,05$), 79,1 % ($p < 0,05$) и 105,9 % ($p < 0,05$), 120,0 % ($p < 0,01$) и 105,9 % ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с показателями животных, получавших образец 4. У животных, получавших тестируемый образец 3 в дозе 2РРД, концентрация и содержание калия в выделенной моче были ниже на 10,2 % ($p > 0,05$) и 2,3 % ($p > 0,05$), а в дозах 4РРД и 6РРД — дозозависимо увеличивались и были выше на 24,0 % ($p > 0,05$) и 3,2 % ($p > 0,05$), 86,2 % ($p < 0,05$) и 111,6 % ($p < 0,01$) соответственно, чем у животных, получавших тестируемый образец 4.

Концентрация и содержание магния в выделенной моче у животных, получавших тестируемые образцы 1 – 3 во всех испытываемых дозах, были выше, чем у животных, которым вводили тестируемый образец 4. Так у животных, получавших тестируемый образец 1 в дозах 1РРД, 2РРД, 4РРД и 6РРД, концентрация и общее содержание магния в выделенной моче превышали показатели животных, получавших тестируемый образец 4 на 46,9 % ($p < 0,05$) и 48,4 % ($p > 0,05$); 45,8 % ($p < 0,05$) и 53,7 % ($p < 0,05$); 54,2 % ($p > 0,05$) и 91,2 % ($p > 0,05$); 90,2 % ($p < 0,01$) и 90,9 % ($p < 0,05$) соответственно. У крыс, которым вводили тестируемый образец 2 в дозах 1РРД, 2РРД, 4РРД и 6РРД, также регистрировалось увеличение концентрации и содержания магния в выделенной моче по сравнению с показателем животных, получавших тестируемый образец 4, на 78,3 % ($p < 0,01$) и 115,8 % ($p > 0,05$), 81,8 % ($p < 0,01$) и 109,7 % ($p < 0,001$), 84,6 %

($p < 0,01$) и 109,1 % ($p < 0,001$), 123,8 % ($p < 0,001$) и 139,4 % ($p < 0,01$) соответственно. Концентрации и содержание магния в выделенной моче у крыс, получавших тестируемый образец 2 в дозе 1РРД, были статистически значимо выше, чем у крыс, получавших тестируемый образец 1 в аналогичной дозе, на 21,4 % ($p < 0,05$) и 45,4 % ($p > 0,05$). У животных, которые получали тестируемый образец 3 в дозах 1РРД, 2РРД, 4РРД и 6РРД, увеличение концентрации и содержания магния в выделенной моче относительно показателя крыс, получавших тестируемый образец 4, составило 58,6 % ($p < 0,05$) и 56,4 % ($p > 0,05$), 59,3 % ($p < 0,05$) и 71,4 % ($p < 0,01$), 132,8 % ($p < 0,001$) и 90,4 % ($p < 0,01$), 139,3 % ($p < 0,001$) и 169,6 % ($p < 0,001$) соответственно. При этом у животных, получавших тестируемый образец 3 в дозе 6 РРД, концентрация и содержание магния в выделенной моче были выше, чем у крыс, получавших тестируемый образец 1 в аналогичной дозе, на 25,8 % ($p < 0,05$) и 41,2 % ($p > 0,05$).

В проведенных исследованиях выявляются отчетливые колебания уровня экскреции калия и магния с мочой на фоне введения образцов препарата “Аспаркам-Л” с разными осморегуляторами, а также без них. По количеству выделяемых нутриентов магния и калия с мочой у животных исследуемые препараты можно расположить следующим образом: Образец 1. Аспаркам-Л + сорбит < Образец 3. Аспаркам-Л без осморегуляторов < Образец 2. Аспаркам-Л + маннит.

Эффекты диспропорции выведения нутриентов калия и магния с мочой на фоне слабых статистически незначимых относительно образца 4 колебаний диуреза у исследуемых образцов 1, 2 и 3 наиболее отчетливо проявлялись при использовании их в дозе 1РРД, которая приближена к терапевтической, используемой в клинической практике. Поскольку для всех тестируемых образцов препарата “Аспаркам-Л” не выявлено существенных изменений салуреза и диуреза при использовании доз 2РРД, 4РРД и 6РРД относительно показателей, полученных при использовании дозы 1РРД, можно сделать заключение об отсутствии явных преимуществ применения доз, превышающих 1РРД. Помимо этого, несмотря на низкую токсичность, применение калия и магния L-аспарагината в высоких дозах может сопровождаться токсическими явлениями. В экспериментах на кроликах показано, что “Калия и магния аспарагинат Берлин-Хеми” при однократном внутривенном введении в пятикратной суточной дозе проявляет отчетливые токсические свойства: существенное повышение активности печеночных ферментов, изменение электрофизиологических показателей сердечной деятельности и гематологических показателей, которые были статистически значимы и выходили за пределы физиологической нормы. Однако при длительном введении эти токсические проявления сглаживались, что отражает процессы адаптации [3].

Установлено, что наименьшее выведение с мочой катионов калия и магния отмечалось на фоне применения образца 1, содержащего осморегулятор D-сор-

бит, наибольшее — на фоне применения образца 2, содержащего D-маннит. Указанная тенденция проявлялась при использовании всех изученных доз образцов 1–3. Наименьшие показатели салуреза калия и магния на фоне применения образца 1 по сравнению с другими образцами, вероятно, являются следствием более активного усвоения тканями и включения в метаболические процессы изучаемых нутриентов при таком составе препарата. Подтверждением этого предположения является тот факт, что исследования проводились на интактных животных с одинаковыми исходными параметрами калиевого и магниевого гомеостаза.

Образец 2 во всех изученных дозах вызывал повышение калий- и магнийуреза у животных без существенного влияния на объем выделяемой мочи, что, вероятно, связано с повышением осмоляльности мочи на фоне его применения и вторичным нарушением реабсорбции катионов калия и магния. Многоатомные спирты D-сорбит и D-маннит в составе “Аспаркама-L” включены в качестве осморегуляторов в виде изотонических растворов 5 % концентрации, которая в отношении маннита далека от диуретической. Маннит проявляет выраженный диуретический эффект и снижает реабсорбцию и увеличивает экскрецию ряда электролитов, включая калий и магний, при использовании его в виде гипертонических растворов 10–20 % концентрации [8–12]. Однако в литературе есть сведения, показывающие, что внутривенное введение крысам маннитола даже в виде 5 % изотонического раствора, сопровождается статистически значимым увеличением осмоляльности мочи и натрийуреза [19]. Несмотря на то, что сорбит, аналогично манниту, проявляет осмотическую активность, их влияние на калий- и магнийурез было противоположным, что, возможно, является следствием низкой экскреции сорбита с мочой. В организме сорбит метаболизируется в печени под действием фермента сорбитолдегидрогеназы, превращаясь во фруктозу, которая затем включается в общий цикл обмена углеводов [20]. Показано, что при пероральном применении сорбита метаболизируется порядка 75 % принятой дозы с образованием диоксида углерода и лишь менее 3 % выводится с мочой в неизменном виде, а с калом сорбит не выделяется или выделяется в незначительном количестве до 10 % [21]. Тогда как порядка 80 % введенной внутривенно дозы маннитола обнаруживается в моче в неизменном виде [7], ввиду чего, вероятно, введение даже изотонического раствора данного полиола может сопровождаться повышением осмоляльности мочи и вторичным нарушением реабсорбции калия и магния. Пятиатомный спирт ксилит, который используется для придания изотонических свойств инфузионному раствору другого известного препарата “Калия и магния аспарагинат Берлин-Хеми”, как и сорбит, вероятно, не оказывает влияния на осмоляльность мочи и почечную экскрецию калия и магния, поскольку является естественным промежуточным продуктом углеводно-

го обмена и быстро метаболизируется в организме, включаясь в пентозофосфатный путь окисления глюкозы [21], с мочой выводится в незначительных количествах [22].

Таким образом, результаты настоящего исследования показывают, что у крыс, которым внутривенно вводили образец препарата “Аспаркам-L”, содержащий в своем составе в качестве изотонирующего средства 5 % D-маннит (образец 2), экскреция калия и магния с мочой превосходит таковые показатели у животных, получавших препарат “Аспаркам-L” с D-сорбитом в составе (образец 1) или без осморегуляторов (образец 3). Повышение экскреции калия и магния на фоне применения препарата “Аспаркам-L” с 5 % D-маннитом вероятно указывает на его меньшую эффективность и нецелесообразность использования данного шестиатомного спирта в качестве вспомогательного вещества в составе препарата, предназначенного для восполнения дефицита этих нутриентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Спасов, В. А. Косолапов, *Рос. мед. ж.*, **23**(2), 89–95 (2017).
2. <http://biosintez.com/ru/catalog/product/192>.
3. А. Г. Юшков, Н. А. Шульгина, А. А. Гущина и др., *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*, **86**(4), ч. 1, 230–235 (2012).
4. https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_1631.htm.
5. Патент KHP CN1351867 (A); <https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20020605&DB=EPODOC&locale=en-EP&CC=CN&NR=1351867A&KC=A&ND=4>.
6. https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_2167.htm.
7. https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_2364.htm.
8. J. F. Seely, J. H. Dirks, *J. Clin. Invest.*, **48**, 2330–2340 (1969).
9. F. Lang, *Ren Physiol.*, **10**(3–4), 160–173 (1987).
10. H. Sonnenberg, *Pflügers Archiv.*, **373** (Issue 2), 113–123 (1978).
11. J. C. Atherton, M. A. Hai, S. Thomas, *J. Physiol.*, **197**(2), 395–410 (1968).
12. K. W. Beyenbach, *Am. J. Physiol.*, **250**(5), R753–R763 (1986).
13. И. Н. Иежица, А. А. Спасов, *Успехи физиол. наук*, **39**(1), 23–41 (2008).
14. P. Giménez-Mascarell, C. E. Schirmacher, L. A. Martínez-Cruz, D. Müller, *Front. Pediatr.*, Vol. 6, Art. 77 (2018).
15. J. H. F. de Baaij, J. G. J. Hoenderop, R. J. M. Bindels, *Clin. Kidney J.*, **5** [Suppl 1], i15–i24 (2012).
16. А. Н. Миронов (ред.), *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, ч. 1, Москва (2012).
17. А. А. Спасов, Л. И. Бугаева, И. Н. Иежица, М. С. Кравченко и др., *Микроэлементы в медицине*, **8**(1), 2–4 (2007).
18. Н. В. Соловьева, *Автореф. дис. канд. фарм. наук*, Пятигорск (2004).
19. P. S. Boland, H. O. Garland, *Experimental*, **78**(2), 165–174 (1993).
20. Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл, *Биохимия человека*, Т. 1, пер. с англ., Москва (1993).
21. L. H. Adcock, C. H. Gray, *Biochemical J.*, **65**(3), 554–560 (1957).
22. I. M. Spitz, A. H. Rubenstein, I. Bersohn, K. H. Bässler, *Metabolism*, **19**(1), 24–34 (1970).

Поступила 12.10.19

COMPARATIVE STUDY OF THE DOSE-DEPENDENT EFFECT OF SORBITOL AND MANNITOL AS OSMOREGULATORS IN ASPARKAM-L DRUG COMPOSITION ON ITS DIURETIC AND SALURETIC ACTIVITY

A. A. Spasov¹, L. I. Bugaeva², V. V. Bagmetova^{2,3,*}, S. A. Lebecdeva², and A. Yu. Getmanenko²

¹ Volgograd State Medical University, Volgograd, 400131 Russia

² Center for Innovative Drug Research and Production, Volgograd State Medical University, Volgograd, 400087 Russia

³ Astrakhan State Medical University, Astrakhan, 414000 Russia

* e-mail: vvbagmetova@gmail.com

The effect of osmoregulators D-sorbitol and D-mannitol in the composition of the Asparkam-L infusion solution on diuresis and urinary excretion of K^+ and Mg^{2+} was studied in outbred white rats. Samples of Asparkam-L were injected intravenously into animals as sample 1 (with osmoregulator D-sorbitol), sample 2 (with osmoregulator D-mannitol), and sample 3 (without osmoregulators) in a recommended single dose (1 RSD, recalculated from a dose of 10 mL, 1-fold for humans with an average weight of 70 kg), as well as in doses exceeding 1 RSD by 2, 4 and 6 times. When using all the studied doses against the background of slight diuresis fluctuations, the least urinary excretion of K^+ and Mg^{2+} was observed with the use of sample 1 and the highest – with the use of sample 2. The excretion level of K^+ and Mg^{2+} in rats receiving sample 2 was significantly higher than that in the control group receiving 0.89% NaCl in a volume equivalent to 6 RSD. An increase in the excretion of K^+ and Mg^{2+} while using sample 2 probably indicates its lower efficiency and the inexpediency of using mannitol as osmoregulator in composition of the drug intended to fill the deficit of these cations.

Keywords: potassium; magnesium; D-sorbitol; D-mannitol; Asparkam-L.