

### Литература

1. Анненков ГА. Фенилкетонурия и гиперфенилаланинемия клинико-генетическая классификация 14 форм. *Невропатология и психиатрия*. 1984; 84(3):351-356.
2. Аскерова ТА. Справочник по генетическим болезням обмена. Баку: «Марс Принт», 2006;51-53.
3. Герасимова НС. Методы определения фенилаланина в плазме и в пятнах крови высушенных на бумаге. *Лабораторное дело*. 1986;3:38-45.
4. Гусейнли ЯС Аскерова ТА. Диагностическая значимость определения гиперфенилаланинемии у новорожденных. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2009;7:18-20.
5. Денисова СН, Варамеева СН, Бушуева ТВ. Аллергические реакции и заболевания детей с фенилкетонурией. *Педиатрия*. 1998;4:38-42.
6. Сафронова ЕЕ, Рыбакова НА, Анненков ГА. Применение модифицированного метода Эйлинг для выявления гомо- и гетерозигот по гену фенилкетонурии. *Вопросы медицинской химии*. 1982;3:70-73.
7. Сергеева НА. Фенилкетонурия среди учащихся вспомогательных школ. *Казанский медицинский журнал*. 1983;4:383-384.
8. Коновалова НВ, Бошков АД, Ходунова АА. Из сборника тезисных докладов Российской Научно- практической конференции «Медико-генетическое консультирование в профилактике наследственных болезней». Тула, 1997;57.
9. Цукерман ГЛ. Простой метод массового выявления фенилкетонурии. *Лабораторное дело*. 1985;6:326-327.
10. Штульман ДР, Левин ОС. *Неврология*. М: «Медпрессинформ», 2005;652-653.
11. Guldberg P, Neonrisken K, Sipila L. Phenylketonuria in a low incidence population molecular characterization of mutations in Finland. *Med Genet*. 1995;32(12):976-8.
12. Jervis GA. The clinical picture. In: Lyman F.L. (ed). Phenylketonuria. Springfield-Illinois, 1963;52.
13. Lee PJ, Ridaut D, Walker JH, et al. Maternal phenylketonuria. Report from the United Kingdom Registry 1978-97. *Archives of disease in childhood*. 2005;90:143-146.
14. Levy HL, Albers S. Genetic screening of newborns. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet*. 2000;1:139-177.
15. Matalon KM, Acosta PB, Azen C. Role of nutrition in pregnancy with phenylketonuria and firth defects. *Pediatrics*.2003;112(6 t2):1534-1536.

Благодарим Медицинский Центр Тофигоглу Хачмазского района за оказанную помощь при проведении этих исследований.

## Inofensivitatea izopropilfosfit-S-izopropilizotiuoniu

I. Corețchi

Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu" 27, N. Testemitanu Street, Chisinau, Republic of Moldova

Corresponding author: yanosh.k@mail.ru. Manuscript received November 08, 2012; revised December 15, 2012

### Safety of isopropylphosphite-S-isopropylisothiourea

The purpose of this study was to determine the safety of a new derivative of alkylisothiourea – isopropylphosphite-S-isopropylisothiourea, by identifying its systemic toxicity and reproductive toxicity (embryonic and fetotoxic actions recorded in the antenatal and postnatal periods of development). LD<sub>50</sub> of researched substance was 352.3 mg/kg in rats, and 569.24 mg/kg in mice. Intraperitoneal administration of alkylisothiourea derivative to rats at a dose of 20 mg/kg for 30 days did not result in the development of any toxic symptoms. Isopropylphosphite-S-isopropylisothiourea, when administered to rats at doses of 20 mg/kg and 60 mg/kg from the first to the 19th day of pregnancy, has no negative impact on its course and has no embryotoxic effects.

**Key words:** Isopropylphosphite-S-isopropylisothiourea, LD<sub>50</sub>, general toxic effect, embryotoxicity.

### Безопасность изопропилфосфит-S-изопропилизотиомочевины

Целью данного исследования явилось определение безопасности нового производного алкилизотиомочевины – изопропилфосфит-S-изопропилизотиомочевины, путём выявления его общетоксического действия и репродуктивной токсичности (изучение эмбрио- и фетотоксического действия, регистрируемых в антенатальном и постнатальном периодах развития). ЛД<sub>50</sub> изученного вещества составила 352,3 мг/кг у крыс и 569,24 мг/кг у мышей. Внутривентральное введение производного алкилизотиомочевины крысам в дозе 20 мг/кг на протяжении 30 дней не привело к развитию каких-либо токсических проявлений. Изопропилфосфит-S-изопропилизотиомочевина, при введении крысам в дозах 20 мг/кг и 60 мг/кг с первого по 19-й день беременности, не оказывает отрицательного влияния на её протекание и не обладает эмбриотоксическим действием.

**Ключевые слова:** изопропилфосфит-S-изопропилизотиомочевина, ЛД<sub>50</sub>, обще-токсическое действие, эмбриотоксичность.

### Introducere

Problema tratamentului hipotensiunilor arteriale acute rămâne a fi una actuală, dată fiind incidența înaltă, pericolul iminent pentru viața pacientului și dificultățile managementului lor [1, 2]. Tratamentul hipotensiunilor arteriale acute prevede, de rând cu alte măsuri, și utilizarea frecventă

a medicamentelor vasoconstrictoare, numărul cărora este limitat la adrenomimetice (epinefrină, fenilefrină, efedrină) și peptide vasoactive (angiotensinamidă). În același timp, dezavantajele pe care le posedă acestea – necesitatea administrării repetate intravenoase sau în perfuzii, acțiunea negativă asupra metabolismului, echilibrului acido-bazic și electrolitic

al organismului, favorizarea dezvoltării aritmiilor cardiace [1], limitează semnificativ utilizarea lor. Elaborarea și implementarea noilor substanțe vasoconstrictoare musculotrope, a derivaților izotioureici și alchilzotioureici (izoturon, difetur, metiferon), care posedă unele avantaje față de adrenomimetice, nu provoacă aritmii, dereglări ale metabolismului, echilibrului acido-bazic, micșorează consumul oxigenului de către organism, au durată lungă de acțiune (1-1,5 ore) și este posibilă administrarea lor pe diverse căi, a constituit un nou pas în tratamentul hipertensiunilor arteriale acute [3]. Izopropilfosfit-S-izopropilzotiuroniu (profetur) reprezintă un nou derivat alchilzotioureic cu proprietăți vasoconstrictoare musculotrope [4, 5]. Această cercetare are ca scop evaluarea inofensivității izopropilfosfit-S-izopropilzotiuronului.

### Material și metode

Pentru realizarea scopului propus s-a recurs la cercetarea acțiunii toxice generale și toxicității reproductive a substanței: determinarea dozelor letale (minimă, medie și maximă); determinarea sensibilității organelor și sistemelor funcționale față de profetur; studiul dozodependenței efectelor toxice, cercetarea acțiunii embriotoxice și teratogene a substanței la administrarea în perioada prenatală.

Toxicitatea acută [6] a profeturului s-a cercetat prin administrarea unimomentană intraperitoneală a substanței la 2 specii de animale – șobolani (96 de animale) și șoareci (72 de animale). Vârsta și masa corporală, conform indicațiilor respective [6], a constituit pentru șoareci 2-3 luni și 18-22 de grame, iar pentru șobolani – 2,5-4 luni și 150-240 de grame. Cu 12 ore până la administrarea substanțelor și după administrare hrana a fost suspendată. Substanța cercetată a fost administrată intraperitoneal, dizolvată în prealabil în ser fiziologic în volum ce nu depășea 1 ml pentru șoareci și 3 ml pentru șobolani. Animalelor din loturile de control li s-a administrat același volum de ser fiziologic.

Doza maximă tolerată (DMT) a fost stabilită ca cea mai mare doză de substanță, la care nu a decedat nici un animal din lotul respectiv. Doza letală absolută ( $DL_{100}$ ) a fost stabilită ca cea mai mică doză de substanță, la care au decedat toate animalele din lotul respectiv.

Supravegherea s-a efectuat până la dispariția manifestărilor toxice sau decesul animalelor, cu evidențierea modificărilor în comportament, a caracterului și intensității activității motorii, coordonării mișcărilor, reactivității la stimulii externi (lumină, sunet), a stării tegumentelor și mucoaselor, activității respiratorii. A fost apreciat vizual tabloul clinic al intoxicației.

Rezultatele obținute au fost prelucrate statistic cu utilizarea probit-analizei [7].

În cercetarea inofensivității profeturului la administrarea cronică [6] au fost incluși 20 de șobolani albi, cu vârsta cuprinsă între 3-4 luni și masa corporală 180-260 de grame. În ziua debutului experienței, animalele au fost cântărite și repartizate în 2 loturi – câte 5 femele și 5 masculi în lot. La primul lot li s-a administrat profetur în doză medie terapeutică, recomandată pentru utilizare [6] – 20 mg/kg pe parcursul a 30 de zile, iar lotul 2 a fost de control.

Preparatul evaluat a fost administrat zilnic, la aceeași oră, intraperitoneal, dizolvat în prealabil în 3 ml soluție clorură de sodiu de 0,9%. Animalelor din lotul de control li s-a administrat aceeași cantitate de vehicul. Durata experienței a constituit 30 de zile.

Pe parcursul studiului, animalele au fost supuse observărilor zilnice, evidențiindu-se comportamentul (activitatea motorie, consumul hranei și apei, reactivitatea la stimulii externi), modificările în aspectul exterior (starea învelișului pilos, a tegumentelor, mucoaselor). De asemenea, pe parcursul experienței (săptămânal) animalele au fost cântărite.

La finele experienței, de la 4 șobolani din fiecare lot s-a colectat sânge pentru analiza biochimică (ALAT, AsAT, fosfataza alcalină, ureea, bilirubina totală, glucoza, colesterolul total, proteina totală, albumina). Toate animalele au fost sacrificate și supuse aprecierii macro- și microscopice a stării organelor interne.

Cercetarea toxicității reproductive a substanței, conform recomandărilor respective [6], s-a efectuat prin administrarea zilnică intraperitoneală la șobolani, de la prima la a 19-a zi de sarcină, în două doze – 20 mg/kg (egală cu doza medie terapeutică preconizată pentru utilizare) și 60 mg/kg, dizolvată în 2 ml ser fiziologic. Animalelor din lotul de control li s-a administrat același volum de excipient. Pe parcursul cercetării, starea și comportamentul animalelor au fost supravegheate zilnic, o dată la 7 zile au fost cântărite. La a 20-a zi de sarcină animalele au fost eutanasiate. În calitate de indici ai embriotoxicității au servit: mortalitatea embrionară în perioadele de pre- și postimplantare, malformațiile de dezvoltare, reținerea generală a dezvoltării feților. Mortalitatea în perioada de preimplantare s-a apreciat după diferența dintre numărul de corpuri galbene și locuri de implantare, mortalitatea în perioada de postimplantare – după diferența dintre numărul de corpuri galbene și numărul de feți vii. De asemenea, la o parte din feți s-a studiat scheletul și organele interne pentru depistarea acțiunii teratogene a substanței.

Rezultatele obținute au fost prelucrate statistic cu utilizarea programului „BioStat 2008 Professional”.

### Rezultate

DMT a profeturului pentru șobolani a constituit 275 mg/kg, iar la șoareci – 475 mg/kg.  $DL_{100}$  pentru șobolani a fost de 450 mg/kg, pentru șoareci – 650 mg/kg.

Ulterior, pentru determinarea  $LD_{50}$ , s-au administrat următoarele succesiuni de doze: 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450 mg/kg – la șobolani și 475, 500, 525, 575, 625, 650 mg/kg – la șoricea.

În experimentele de cercetare a toxicității acute a izopropilfosfit-S-izopropilzotiuronului, imediat după administrarea acestuia, animalele deveneau inhibate, apatice, nu reacționau la stimulii sonori și tactili de intensitate inițial moderată, și ulterior, înaltă. Aceste manifestări erau mai puțin exprimate sau lipseau în loturile cu doza de 475, 500 mg/kg la șoareci și 275, 300 mg/kg la șobolani și deveneau mai pronunțate odată cu majorarea dozelor până la 650 și, respectiv, 450 mg/kg. La unii șobolani în grupurile, în care profeturul s-a administrat în

doze de 400, 425 și 450 mg/kg s-au determinat crize convulsive tonice, durata lor fiind de 3-7 sec. Concomitent cu majorarea dozei administrate, convulsiile se instalau mai precoce, durata intervalului dintre crizele convulsive se micșora până la 3 min. Treptat unele animale deveneau ataxice, frecvența respiratorie se micșora, respirația devenea superficială și survenea decesul.

În baza rezultatelor obținute s-a calculat LD<sub>50</sub>. Astfel, LD<sub>50</sub> pentru profetur constituie 569,24 mg/kg la șoareci și 352,3 mg/kg la șobolani (tab. 1).

Administrarea intraperitoneală zilnică a profeturului pe parcursul a 30 de zile nu s-a soldat cu decese în lotul cercetat.

Modificări esențiale ale comportamentului animalelor nu s-au semnalat, poziția animalelor – normală, activitatea motorie – fără modificări, reacționarea la excitanții fiziologici (zgomot și lumină) a animalelor din loturile supuse experimentului nu se deosebea de lotul martor. Modificări

Tabelul 1

Aprecierea statistică a toxicității acute a profeturului

PARAMETRII STATISTICI	DOZA PROFETURULUI	
	Șoareci	Șobolani
LD <sub>50</sub> (mg/kg) M ± m	569,2 ± 11,9	352,3 ± 7,7
Limita inferioară a LD <sub>50</sub>	546,74	337
Limita superioară a LD <sub>50</sub>	591,74	367,5
LD <sub>10</sub> (mg/kg)	499	293
LD <sub>16</sub> (mg/kg)	514,4	306,2
LD <sub>84</sub> (mg/kg)	624	398,2
LD <sub>100</sub> (mg/kg)	651	421,3
p	< 0,05	< 0,05

Tabelul 2

Evoluția masei corporale (grame) a șobolanilor la studiul toxicității cronice

Parametrii statistici	Control (ser fiziologic)			Profetur 20 mg/kg		
	Inițial	14 zile	30 de zile	Inițial	14 zile	30 de zile
M ± m	267 ± 18,4	280 ± 26,2	285 ± 24	242,3 ± 2,1	246,1 ± 7	240,5 ± 6,4

în utilizarea apei și alimentelor nu s-au constatat. Dereglări neurologice de excitație exagerată sau sedare nu s-a depistat. Blana șobolanilor – curată, cu luciu, mucoasele pal – roze.

Efectuând analiza masei corporale la animalele, incluse în experiență, în dinamică nu s-au determinat modificări pronunțate ale ponderii, comparativ cu lotul de control (tab. 2).

Organele supuse analizei macro- și microscopice au fost: plămâni, inima, ficatul, splina, rinichii, tubul digestiv, ovarele și suprarenalele. La explorarea macro- și microscopice a organelor la animalele din lotul cercetat, aspectul lor nu s-a deosebit de cel al lotului martor (fig. 1).

Analiza biochimică a sângelui șobolanilor din lotul supus cercetării nu a prezentat deosebiri statistic semnificative față de lotul de control (tab. 3).

Tabelul 3

Modificările parametrilor biochimici la determinarea toxicității cronice a profeturului

Indici biochimici	Control (ser fiziologic)	Profetur 20 mg/kg
AIAT (UI)	77 ± 3,5	77 ± 8,97
AsAT (UI)	280,75 ± 32,3	257,5 ± 41,24
Fosfataza alcalină (UI/L)	574 ± 84	455,5 ± 49,9
Ureea (mmol/l)	6,7 ± 2,78	13,77 ± 3,07
Bilirubina totală (μmol/L)	10,95 ± 1,35	10,95 ± 0,7
Glucoza (mmol/l)	6,9 ± 0,57	6,1 ± 0,61
Colesterolul total (mmol/l)	1,55 ± 0,1	2 ± 0,16
Proteina totală (g/l)	57,25 ± 3,4	75,5 ± 6,3
Albumina (g/l)	32,5 ± 2,17	32 ± 2,08

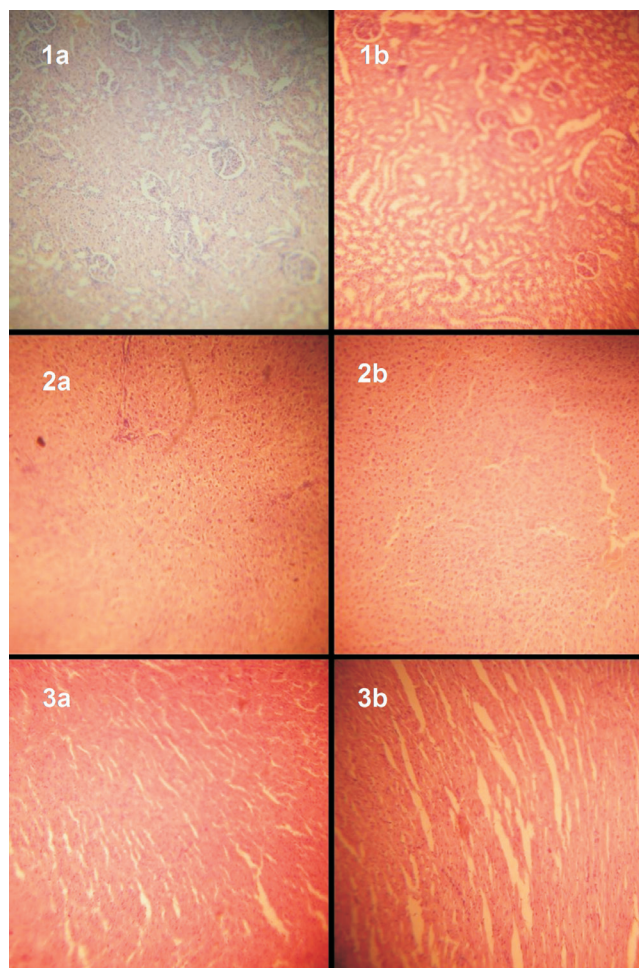


Fig. 1. Aspectul microscopic al rinichilor (1), ficatului (2) și miocardului (3) la administrarea profeturului în doza de 20 mg/kg (a) și în lotul martor (b).

Tabelul 4

## Cercetarea acțiunii embriotoxice a profeturului la administrarea intraperitoneală la șobolani

Indicii cercetați	Profetur		Control (ser fiziologic)
	20 mg/kg	60 mg/kg	
Nr femelelor gravide	10	10	10
Nr corpurilor galbene	14,3 ± 1,9	14 ± 2,1	13,9 ± 2,4
Nr locurilor de implantare	13,2 ± 1,5	13,4 ± 2,2	13,3 ± 2,3
Nr feți vii	12,8 ± 1,5	12,8 ± 1,7	12,7 ± 1,9
Nr resorbții	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,5	0,3 ± 0,5
Nr feți morți	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,5	0,3 ± 0,7
Mortalitatea la etapa de preimplantare (%)	7,4	4,3	4,1
Mortalitatea la etapa de postimplantare (%)	3,02	4	4,1
Greutatea feților (grame)	3,2 ± 0,29	3,2 ± 0,28	3,3 ± 0,25

Notă: deosebiri statistic nesemnificative.

La cercetarea acțiunii embriotoxice a profeturului, administrat intraperitoneal la șobolani, adausul ponderal la femelele gravide n-a înregistrat careva diferențe semnificative statistic între loturile de cercetate și de control (fig. 2).

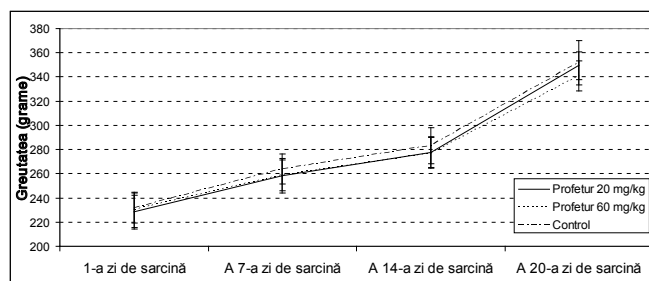


Fig. 2. Evoluția masei corporale a femelelor gravide.

În toate loturile supuse studiului, dereglări în dezvoltarea embrionilor nu s-au determinat – membranele fetale erau dezvoltate normal, lichidul amniotic – transparent, placenta bine vascularizată, fără sclerozări. La deschiderea membranelor fetale și secționarea cordonului ombilical la feți apărea respirația spontană. Tegumentele erau roze, ochii și urechile – acoperite. La cercetarea morfologică a feților nu s-au depistat anomalii externe, ale scheletului și organelor interne. Greutatea feților în loturile cercetate nu se deosebea de control și a constituit în mediu 3,2 ± 0,3 (tab. 4).

De asemenea, nu s-au semnalat deosebiri semnificative ale numărului de feți per femelă, acesta fiind de 12,8 ± 1,5 în lotul, la care profeturul s-a administrat în doza de 20 mg/kg, 12,8 ± 1,7 la administrarea profeturului în doza de 60 mg/kg și 12,7 ± 1,9 în lotul martor. Cazurile de mortalitate a feților au fost unice – 3,02% în lotul, la care profeturul s-a adminis-

trat în doza de 20 mg/kg, 4% la administrarea substanței în doza de 60 mg/kg și 4,1% în lotul de control. Mortalitatea în perioadele de preimplantare și postimplantare nu este semnificativă statistic (tab. 4).

### Concluzii

În baza cercetărilor efectuate s-a constatat:

1. LD<sub>50</sub> a profeturului pentru șoareci este de 569,24 mg/kg, iar pentru șobolani – 352,3 mg/kg;
2. administrarea intraperitoneală a profeturului în doza de 20 mg/kg pe parcursul a 30 de zile nu determină careva manifestări toxice;
3. administrarea sistematică a profeturului nu exercită influență negativă asupra evoluției sarcinii la femelele de șobolani pe întreaga durată a sarcinii;
4. izopropilfosfit-S-izopropilzotiuuroniu, administrat în perioada antenatală, nu posedă acțiune embriotoxică.

### Bibliografie

1. Tintinalli Judith E, Stapczynski J, Stephan, Cline David M, et al. Tintinalli's Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide. 7e. New York: McGraw-Hill Medical, 2010.
2. Гельфанд БР, Салтанов АИ. Интенсивная терапия. Национальное руководство. Том 1. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009.
3. Мухин ЕА, Гикавый ВИ, Парий БИ. Гипертензивные средства. Кишинев: «Штиинца», 1983.
4. Stratu E, Ghicavii V, Todiraș M. Noi argumente referitoare la mecanismul de acțiune a derivaților izotioureici. Anale Științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Vol. 1: Probleme medico-biologice și fundamentale, 2000.
5. Todiraș M. Interrelațiile dintre factorii vasomotorici locali și rolul lor în reglarea tonusului vascular: Teza de dr. hab. în medicină. Chișinău, 2006;224.
6. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Второе изд., перераб. и доп. - М.: ОАО „Медицина”, 2005;832.
7. Stanton Glantz. Primer of Biostatistics: Sixth Edition, 2005.