

ВСТАНОВЛЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ 2-ГІДРОКСИ-N-НАФТАЛЕН-1-ІЛ-2-(2-ОКСИ-1,2-ДИГІДРОІНДОЛ-3-ІЛІДЕН)-АЦЕТАМІДУ

Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

farmaluru@gmail.com

Робота є фрагментом дослідної теми кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» м. Полтава «Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин та лікарських засобів для корекції порушень гомеостазу різної етіології» (№ державної реєстрації 0117U004681).

Вступ. Першочерговою складовою високого рівня якості життя і його повноцінності є психічне здоров'я та благополуччя людини [6]. В останні десятиліття майже в усіх розвинутих державах світу відмічається зростання психічних розладів. У країнах Європейського союзу на цю патологію припадає до 30% від усієї кількості захворювань [13]. В Україні більше 1,2 млн. людей страждають від тривожно-депресивних розладів різного ступеня складності [2]. Відомо, що патогенетичні ланки таких процесів, як тривога, страх, депресія, стресорні порушення мають подібні риси і близьку нейробіологічну основу [4]. Тому сучасна психіатрія і неврологія потребує створення нових засобів зі складним багатовекторним спектром психотропної дії. Це дасть змогу уникати поліпрагмазії та впливати на різні ланки складного патогенезу психічних захворювань. Актуальним є пошук і створення нових препаратів у психотропному спектрі яких, поряд з вираженою анксиолітичною дією, присутній антидепресивний компонент, а можливо й церебропротекторні властивості. Нашу увагу привернули похідні 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти, що активно зараз досліджуються [10,12]. Вони не знижують інтелектуально-психічну діяльність, не викликають міорелаксації, толерантності та виявляють церебропротекторні властивості [5,7].

Експериментальні дані свідчать про перспективність подальшого дослідження сполук-лідерів з числа простих ефірів і амідів 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти, що неможливо без встановлення їх безпечності.

Мета роботи – встановити гостру токсичність 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідроіндол-3-іліден)-ацетаміду (сполука 18) при внутрішньоочеревинному шляху введення і застосуванні всередину.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти виконані на 100 нелінійних мишах масою 18-20 г. Досліди проводили з дотриманням вимог Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), Закону України «Про

захист тварин від жорсткого поводження» (№3446 – IV 21.02.06).

2-Гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідроіндол-3-іліден)-ацетамід ех tempore суспендували у воді для ін'єкцій з емульгатором «Твін-80». Гостру токсичність досліджували на мишах. Тварин розділили на 7 груп по 10 тварин у кожній при парентеральному уведенні речовини і на 3 групи по 10 тварин при ентеральному. Діапазон доз при внутрішньоочеревинному шляху введення становив (1500, 2000, 2500; 3000, 3500, 4000, 4500 мг/кг). При ентеральному уведенні сполуку, що досліджується використовували у діапазоні доз: 2000, 2500 і 3000 мг/кг [3]. Середньосмертельну дозу речовини визначали за методом Cr. Karber [8,9].

Реєстрували загибель тварин протягом 24 годин після введення сполуки. Розрахунки LD₅₀ здійснювали за формулою:

LD₅₀ = LD₁₀₀ - Σ(zd) / n, де: LD₁₀₀ – доза, яка викликала загибель всіх дослідних тварин; z – середня величина між кількістю загиблих тварин у «сусідніх» групах; d – інтервал між дозами; n – кількість тварин у групі.

Стандартна похибка середньої величини LD₅₀ розраховувалась за формулою Геддама:

$$S_{LD50} = \sqrt{\frac{K \cdot S \cdot d}{n}}, \text{ де:}$$

K – константа, яка при розрахунках за методом Кербера дорівнює 0,564; S – стандарт розподілу, який визначається за графіком; d – інтервал між дозами; n – кількість груп тварин у досліді.

Верхню і нижню довірчі межі LD₅₀ сполуки 18 визначали за формулою: x - t·S_x та x + t·S_x, де t – величина, що залежить від n і знаходиться за таблицею (при f = n-1, n = 10 і p = 0,05; t = 2,26).

Результати досліджень та їх обговорення. У досліді на мишах виявлені ознаки гострого отруєння при уведенні в летальних дозах. Перші симптоми інтоксикації виникали через 5-10 хвилин після внутрішньоочеревинного введення сполуки. Реєстрували: загальну загальмованість, збільшення частоти дихальних рухів, прогресуючі порушення рухової активності, що характеризувались зниженням чутливості до зовнішніх подразників (тактильних, звукових, больових) зниженням тону м'язової мускулатури, втратою рефлекса перевертання, появою клонічних та тонічних судом кінцівок і всього тулуба.

При візуальному огляді за допомогою збільшувального скла слизових оболонок очей, ротової порожнини, шерстяного і кожних покривів висипань і гіперемії не виявлялось. На місці ін'єкції набряку,

Таблиця 1.

Гостра токсичність похідного 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти у мишей при внутрішньоочеревинному введенні (n=10)

Показники	Досліджувані дози, мг/кг						
	1500	2000	2500	3000	3500	4000	4500
Кількість тварин, що вижили	10	9	8	7	5	2	0
Кількість загиблих тварин	0	1	2	3	5	7	10
z	0,5	1,5	2,5	4,0	6,0	8,5	
d	500	500	500	500	500	500	500
zd	500	750	1500	2500	3250	4000	
Σ(zd)	12500						

Примітка. n – кількість тварин у групі.

почервоніння, локального розширення судин не спостерігалось. Це свідчить про відсутність у сполуки місцевоподразнювальної дії.

Загибель тварин відмічалась через декілька годин після передозування речовини, зазвичай протягом 12-24 годин. У наступний період загибелі тварин не спостерігалось. Клінічна картина інтоксикації характеризувалась загальним пригніченням, адинамією, арефлексією і боковим положенням тулуба. Загибель наступала від зупинки дихання.

У мишей, що вижили після інтоксикації поступово зменшувалась загальмованість і відновлювалась рухова активність, що через 2-3 доби була співставима з інтактними тваринами. У наступний період у мишей не спостерігалось ознак неспокою чи пригнічення, а також розладів харчової поведінки. Зниження маси тіла було на рівні статистичної похибки.

При розтині загиблих мишей на основі візуального огляду виявлено, що речовина майже повністю резорбувалась з очеревинної порожнини. В шлунково-кишковому тракті ознак сполуки не виявлено. При огляді внутрішніх органів відмічалось їх збільшення, виражена гіперемія та ущільнення печінки. На розрізі спостерігалась виражена зернистість, що вказувало на метаболізм у печінці, а її надмірне надходження здатне викликати гепатотоксичну дію. У інших органах змін не виявлено.

Розрахунок визначення гострої токсичності 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідроіндол-3-іліден)-ацетаміду (табл. 1).

У результаті проведених досліджень встановлено, що максимальна толерантна доза сполуки з числа похідних 2-оксоіндоліну дорівнювала 1500 мг/кг, найменша смертельна доза (LD₁₆) становила 1920 мг/кг, а LD₁₀₀ = 4500 мг/кг (рис.).

Нижче представлені розрахунки:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum(zd)}{n} = 4500 - \frac{12500}{10} = 4500 - 1250 = 3250 \text{ (мг/кг)}$$

$$S_{LD50} = \sqrt{\frac{K \cdot S \cdot d}{n}} = 159 \text{ (мг/кг)}$$

$$K = 0,564; S = \frac{LD_{84} - LD_{16}}{2} = (3710 - 1920)/2 = 895; d = 500.$$

Довірчі межі LD₅₀:

$$3250 - 2,26 \cdot 159 = 2890,7 \text{ (мг/кг)}$$

$$3250 + 2,26 \cdot 159 = 3609,3 \text{ (мг/кг)}$$

Встановлена LD₅₀ сполуки становила 3250±159 мг/кг. Довірчі межі величини LD₅₀ склали 2890,7÷3609,3) мг/кг.

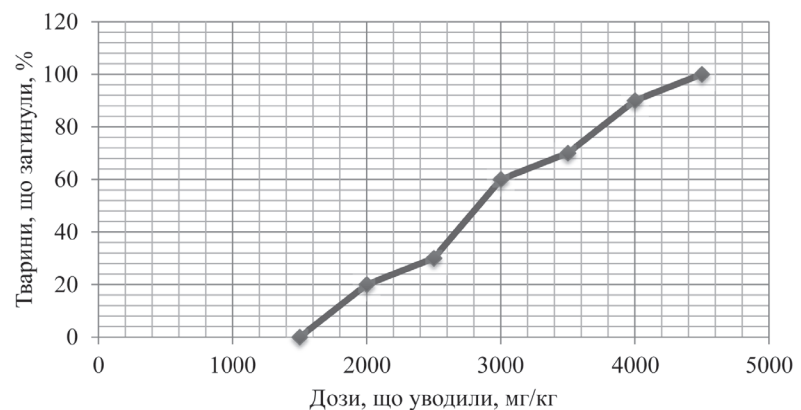


Рис. Показники LD₁₆ та LD₈₄ похідного 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти при внутрішньоочеревинному введенні мишам.

При вивченні безпечності ентерального шляху введення речовини у дозі 3000 мг/кг включно не виявлено випадків гострої летальності мишей у першу добу та протягом 5 днів спостереження. Наступне збільшення дози ускладнювалось недостатньою розчинністю сполуки та нормами, що обмежують введення в шлунок об'ємів рідини. Симптоми отруєння відмічалась через 10-15 хвилин, виражені не суттєво і характеризувалися загальним пригніченням, зниженням рухової активності, загальмованістю. Зазначена клініка отруєння спостерігалась протягом 3-4 годин, потім поступово зменшувалась. Загальний стан відновлювався через 4-7 годин від початку введення та не відрізнявся від інтактного контролю.

Таким чином, LD₅₀ сполуки 18 у мишей становила 3250±159 мг/кг, при ентеральному введенні складала більше 3000 мг/кг. Вочевидь різниця LD₅₀ при вибраних шляхах введення обумовлена швидкістю всмоктування речовини з місця введення та різницею у біодоступності при внутрішньоочеревинному і ентеральному введенні.

Аналізуючи отримані результати з використанням загальнозживаної класифікації речовин за токсичністю К.К. Сидорова та ГОСТ 12.1.007-76 можемо дійти висновку, що сполука у дослідах на нелінійних мишах при внутрішньоочеревинному введенні (LD₅₀ > 3250 мг/кг) відноситься до речовин VI класу токсичності, тобто відносно нешкідлива [1, 11].

Таблиця 2.

Порівняльна характеристика гострої токсичності та ED₅₀ 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідроіндол-3-іліден)-ацетаміду та діазепаму

Досліджувана сполука	ED ₅₀ , мг/кг	LD ₅₀ , мг/кг	Терапевтичний індекс	Відносний терапевтичний індекс
Сполука 18	11,9	3250	273,1	14,8
Діазепам	2	37	18,5	1

Для встановлення широти терапевтичної дії речовини провели розрахунки терапевтичного індексу та відносного терапевтичного індексу з наступним порівнянням отриманих значень для аміду 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти з референс-препаратом діазепамом (табл. 2).

Узагальнюючи отримані результати, можемо зробити висновок, що 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідроіндол-3-іліден)-ацетамід є менш токсичним за діазепам (у 88 разів) і перевищує препарат порівняння у 14,8 разу за показником відносного терапевтичного індексу.

Висновки

1. Середньолетальна доза 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідроіндол-3-іліден)-ацетаміду при внутрішньоочеревинному введенні мишам становить 3250±159 мг/кг і належить до VI класу токсичності.

2. Середньолетальна доза простого аміду 2-оксоіндоліну при ентеральному введенні мишам дорівнює більше 3000 мг/кг.

3. Токсичність похідного 2-оксоіндоліну при внутрішньоочеревинному введенні нижча за таку у порівнянні з еталонним препаратом діазепамом.

Перспективи подальших досліджень. У подальших дослідженнях планується встановити механізми нейропсихотопної дії похідних 2-оксоіндоліну.

Література

- Berezovskaya I.V. Prognoz bezopasnosti lekarstvennykh sredstv v doklinicheskikh toksikologicheskikh issledovaniyakh / I.V. Berezovskaya // Toksikologicheskii vestnik. – 2010. – № 5 (104). – S. 17-22.
- Voloshin P.V. Strategiya ochoroni psichichnogo zdorov'ya naselennya Ukraїni: suchasni mozhlivosti ta pereshkodi / P.V. Voloshin, N.O. Maruta // Ukraїns'kiy visnik psichonevrologii. – 2015. – T. 23, vip. 1 (82). – S. 5-11.
- Doklinichni doslidzhennya likars'kich zasobiv: metodichni rekomendazii / N.V. Litvinova, M.A. Filonenko-Patrusheva, S.B. Franzuzova [ta in.]: pid red. O.V. Stefanova. – K.: Avizena, 2001. – 528 s.
- Izmenenie aktivnosti kaspaz v limfocitakh pazientok s depressiei i trevogoy raznoy stepeni tyazhesti / A.A. Yakovlev, T.A. Druzhkova, M.N. Grishkina, A.B. Gecht, N.V. Gulyaeva // Biomedizinskaya khimiya. – 2016. – T. 62, vyp. 5. – S. 588-592.
- Luzenko R.V. Izuchenie vliyaniya proizvodnykh 2-oksiindolin-3-glioksilovoy kisloty na tonus skeletnykh myshz v teste «vertikal'nyy ekran» / R.V. Luzenko, V.N. Bobyrev // Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya. – 2015. – T. 78, № 4. – S. 4-6.
- Nadannya mediko-sozial'noi ekspertnoi dopomogi invalidam vnaslidok rozladiv psichiki ta povedinki v Ukraini: suchasni stan, trudnoschi ta perspektivi / A.V. Ipatov, I.Ya. Chanyukova, I.V. Drozdova, N.O. Gondulenko // Ukraїns'kiy visnik mediko-sozial'noi ekspertizi. – 2013. – № 4 (10). – S. 45-47.
- Nootropni, antigipoksichni ta zerebroprotektorni vlastivosti pochidnykh (2-oksoindoliniliden-3)-oztovoi kisloti / O.V. Shatilov, S.Yu. Shtrigol', S.V. Kolisnik, V.V. Bolotov // Bukovins'kiy medichnyi visnik. – 2012. – T. 16, № 3 (63). – S. 118-123.
- Prozorovs'kiy V.B. Ekspres-metod opredeleniya sredney effektivnoy dozy i ee oshibki / V.B. Prozorovs'kiy, M.P. Prozorovskaya, V.M. Demchenko // Farmakologiya i toksikologiya. – 1978. – № 4. – S. 497-502.
- Sernov L.N. Elementy eksperimental'noy farmakologii / L.N. Sernov, V.V. Gazura. – M.: Medizina, 2000. – 352 s.
- Sidorenko A.G. Vliyanie etilovogo efira i amida 2-oksoindolin-3-glioksilovoy kisloty na efekty apomorfina u kryz / A.G. Sidorenko, R.V. Luzenko // Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medizinskogo universiteta. – 2016. – T. 55, № 3. – S. 123-128.
- Sidorov K.K. O klassifikazii toksichnosti yadov pri parenteral'nykh sposobakh vvedeniya / K.K. Sidorov // Toksikologiya novykh promyshlennykh, khimicheskikh veschestv. – M.: Medizina, 1979. – Vyp. 13. – S. 47-51.
- Lutsenko R.V. Research of the protection actions of derived 2-oxoindole in acute stress / R.V. Lutsenko, A.V. Vakhnenko, E.V. Vlasova // Wiadomosci Lekarskie. – 2017. – T. LXX, № 1. – P. 57-61.
- Prevalence of mental disorders in elderly people: the European MentDis_ICF65+ study / S. Andreas, H. Schulz, J. Volkert // The British Journal of Psychiatry. – 2017. – № 210. – P. 125-131.

УДК: 615.917:615.011[547.481+547.752+547.29–327]

ВСТАНОВЛЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ 2-ГІДРОКСИ-N-НАФТАЛЕН-1-ІЛ-2-(2-ОКСИ-1,2-ДИГІДРОІНДОЛ-3-ІЛІДЕН)-АЦЕТАМІДУ

Луценко Р. В.

Резюме. На 100 мишях вивчали токсичність похідного 2-оксоіндоліну при внутрішньоочеревинному і ентеральному введенні. Встановлено, що максимальна толерантна доза сполуки дорівнювала 1500 мг/кг, найменша смертельна доза (LD₁₆) становила 1920 мг/кг, а LD₁₀₀ = 4500 мг/кг. При цьому LD₅₀ речовини складала 3250±159 мг/кг. Довірчі межі величини LD₅₀ становили 3250 (2890,7ч3609,3) мг/кг. При ентеральному введенні LD₅₀ складала більше 3000 мг/кг. Згідно класифікації К.К. Сидорова та ГОСТу 12.1.007-76 сполука належить до VI класу токсичності, тобто відносно нешкідлива. Сполука є менш токсичним за діазепам (у 88 разів) і перевищує його у 14,8 разу за показником відносного терапевтичного індексу.

Ключові слова: 2-оксоіндоліни, середньосмертельна доза, токсичність.

УДК: 615. 917:615.011[547.481+547.752+547.29-327]

УСТАНОВЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ 2-ГИДРОКСИ-N-НАФТАЛИНА-1-ИЛ-2 (2-ОКСИ-1,2-ДИГИДРОИНДОЛ-3-ИЛИДЕН) –АЦЕТАМИДА

Луценко Р. В.

Резюме. На 100 мышах изучали токсичность производного 2-оксоиндолина при внутривентральном и энтеральном введении. Показано, что максимальная толерантная доза соединения равна 1500 мг/кг, наименьшая смертельная доза (LD_{16}) составляла 1920 мг/кг, а $LD_{100} = 4500$ мг/кг. При этом LD_{50} вещества была на уровне 3250 ± 159 мг/кг. Доверительные пределы величины LD_{50} равнялись 2890,7 ч 3609,3) мг/кг. При энтеральном введении LD_{50} составляла более 3000 мг/кг. По классификации К.К. Сидорова и ГОСТа 12.1. 007-76 соединение относится к VI классу токсичности, то есть относительно безвредно. Вещество менее токсично чем диазепам (в 88 раз) и превышает его в 14,8 раз по значению относительного терапевтического индекса.

Ключевые слова: 2-оксоиндолины, среднесмертельная доза, токсичность.

UDC: 615. 917:615.011[547.481+547.752+547.29-327]

THE IDENTIFICATION OF TOXICITY of 2-HYDROKSY-N-NAFTALEN-1-IL-2-(2-OKSI-1,2-DYHIDROINDOLE-3-ILIDEN)-ACETAMIDE

Lutsenko R. V.

Abstract. Modern psychiatry and neurology requires the development of new methods and means with difficult spectrum of psychotropic action. It can avoid polypragmasy and it can affect different areas of the pathogenesis of mental disorders. So, the search and the development of new drugs in psychotropic spectrum are actual and it can possess cerebral and protective peculiarities. Ethers and amides of 2-oxoindolin-3-glyoxalic acid are prospective and they require the examination.

The aim of the paper is to identify acute toxicity of 2-hydroksey-N-naftalen -1-il -2-(2-oksi-1,2-dyhidroindole-3-iliden)-acetamide (Substance 18) at intraperitoneal administration and the intake inside.

Object and methods. Experiments were done on 100 non-linear mice with body weight 18-20 gr. Acute toxicity was studied in 2-hydroksey-N-naftalen -1-il -2-(2-oksi-1,2-dyhidroindole-3-iliden)-acetamide on mice. The range of doses at intraperitoneal administration was (1500, 2000, 2500; 3000, 3500, 4000, 4500 mg/kg). The substance was administered orally in such doses as 2000, 2500 and 3000 mg/kg. Median lethal dose of the substance was defined by Cr. Karber method.

Results and their discussions. The signs of acute poisoning were detected during experiments. The first symptoms of intoxication occurred in 5-10 minutes after intraperitoneal administration of the substance. Animals' death occurred in some hours after overdosage as usual during 12-24 hours. In the next period animals' death was not observed. Clinical picture of intoxication was characterized by inhibition, adynamia, areflexia, and lateral position of the trunk. The death was from respiratory arrest. It was determined that maximal tolerable dose of the substance of derivatives of 2-oxoindoline was equal to 1500 mg/kg, the least lethal dose was (LD_{16}) 1920 mg/kg, a $LD_{100} = 4500$ mg/kg. It was determined that the substance LD_{50} was 3250 ± 159 mg/kg.

Confidence bounds of LD_{50} was 2890,7ч3609,3) mg/kg. During examination of oral administration of the substance in the dosage 3000 mg/kg cases of acute lethality of mice have not been observed during the first day and during 5 days of the examination. Subsequent increase in doses was complicated by the lack of solubility of the compounds and standards that limit the administration into the stomach of the volume of the liquid. Symptoms of poisoning were observed after 10-15 minutes and they were not significantly expressed and they were characterized by common inhibition. Clinic poisoning lasted 3-4 hours, and then gradually decreased. The general condition was restored in 4-7 hours. Thus, LD_{50} of compound 18 in mice was 3250 ± 159 mg/kg at oral administration more than 3,000 mg/kg. According to the classification of K.K. Sidorova and GOST 12.1.007-76 the substance ($LD_{50} > 3250$ mg/kg) is a substance of 6th class of toxicity that is relatively harmless. It has established, the substance is less toxic than diazepam (in 88 times) and increases the drug of comparison in 14.8 times based on the relative therapeutic index.

Conclusions. Median lethal dose of 2-hydroksey-N-naftalen-1-il-2-(2-oksi-1,2-dyhid-roindole-3-iliden) acetamide at intraperitoneal administration by mice was 3250 ± 159 mg/kg and it refers to the 6th class of toxicity. LD_{50} is equal to 3000 mg/kg during oral administration. Toxicity of the substance is significantly lower than in diazepam.

Keywords: 2-oxoindoline, half-lethal dose, toxicity.

Рецензент – проф. Дев'яткіна Т. О.

Стаття надійшла 11.08.2017 року