

УДК: 615. 015. 35 + 616 – 092. 9

Сидоренко А.Г.

## ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ЕТИЛОВОГО ЕФІРУ 4-[2-ГІДРОКСИ-2-(2-ОКСО-1,2-ДИГІДРО-ІНДОЛ-3-ІЛІДЕН)-АЦЕТАМІНО]-МАСЛЯНОЇ КИСЛОТИ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» м. Полтава

*Пошук та розробка високоефективних і безпечних антидепресантів є пріоритетним напрямком сучасної фармакології. Ці засоби повинні виявляти не тільки достатній фармакологічний ефект, але й бути безпечними для здоров'я людини. Мета роботи – визначити гостру токсичність етилового ефіру 4-[2-гідрокси-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміно]-масляної кислоти (сполука Э-38) при внутрішньоочередивному шляху введення, що проявляє високу антидепресивну активність. Експерименти виконані на 60 білих статевозрілих щурах лінії Wistar масою 170-190 г. і 60 нелінійних мишах масою 18-20 г. Дослідження проведені на 6 групах мишей, по 10 тварин у групі з кожної дозою (сполуку Э-38 вводили у діапазоні доз: 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 мг/кг) та 6 групах щурів (вводили речовину в дозах: 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000 мг/кг). Середньосмертельну дозу сполуки Э-38 визначали за методом Сг. Karber. Розрахунки  $LD_{50}$  здійснювали за формулою:  $LD_{50} = LD_{100} - \sum(zd) / n$ . Середньоолетальна доза етилового ефіру 2-оксоіндоліну при внутрішньоочередивному введенні мишам становила  $3375 \pm 155$  мг/кг і сполука належить до VI класу токсичності. При введенні сполука Э-38 щурам дорівнювала  $3000 \pm 149$  мг/кг і вона відноситься до V класу токсичності. Гостра токсичність досліджуваної речовини Э-38 значно нижча за таку у порівнянні з еталонним препаратом іміпраміном.*

Ключові слова: похідне 2-оксоіндоліну, середньосмертельна доза, гостра токсичність.

*Робота є фрагментом дослідної теми кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія" м. Полтава "Пошук засобів та біологічно-активних речовин (БАР) з числа похідних 2-оксоіндолу та 3-оксипіридину для фармакотерапії адаптивних процесів при порушенні гомеостазу різної етіології" (№ державної реєстрації 0111U004879).*

### Вступ

Не дивлячись на розвиток психіатрії, проблема діагностики та лікування депресії є актуальною на сьогоднішній час. За даними ВООЗ щороку хворіє на депресію близько 200 млн. осіб і ця цифра постійно зростає. Кожна восьма людина хоча б раз на життя потребує призначення спеціальної антидепресивної терапії. Сучасний розвиток психіатрії використовує широкий арсенал психотропних засобів і до кінця не вирішує проблеми ефективного лікування депресивних розладів. Антидепресанти, що присутні на фармацевтичному ринку, не повною мірою задовольняють потреби споживача. Це пов'язано з повільним розвитком клінічного ефекту, значною кількістю побічних реакцій, що виникають на початку терапії, і, як правило, є причиною нон-комплаїнса [8].

Пошук та розробка високоефективних і безпечних антидепресантів є пріоритетним напрямком сучасної фармакології. Ці засоби повинні виявляти не тільки достатній фармакологічний ефект, але й бути безпечними для здоров'я людини.

Похідні 2-оксоіндолін-3-гліоксильової кислоти, що синтезовані на кафедрі аналітичної хімії Національного фармацевтичного університету, є новою і перспективною групою фармакологічно активних сполук, що останнім часом досліджуються. У попередніх дослідженнях встановлено, що похідні 2-оксоіндоліну володіють нейротропною, анксиолітичною, стреспротекторною та антидепресивною активністю [3, 5, 6, 11]. Отримані результати свідчать про перспективність подальшого вивчення найбільш активних сполук, що неможливо без дослідження їх токсичності. Тому

визначити гостру токсичність похідного 2-оксоіндоліну, що виявило значну антидепресивну дію [5].

Вивчення показників гострої токсичності дозволяє провести зв'язок між дозою та побічними реакціями, зробити порівняльну оцінку токсичності нової сполуки з найбільш ефективними представниками даного класу препаратів, що використовуються в клінічній практиці.

### Мета роботи

Визначити гостру токсичність етилового ефіру 4-[2-гідрокси-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміно]-масляної кислоти (сполука Э-38) при внутрішньоочередивному шляху введення, що проявляє високу антидепресивну активність.

### Матеріали і методи дослідження

Експерименти виконані на 60 білих статевозрілих щурах лінії Wistar масою 170-190 г. і 60 нелінійних мишах масою 18-20 г. Тварин утримували на звичайному харчовому, питному і при 12-годинному світловому режимі. 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). Експериментальні спостереження за тваринами проводили у другій половині дня.

Похідне 2-оксоіндолін-3-гліоксильової кислоти ех tempore суспензували у воді для ін'єкцій, використовуючи емульгатор "Твін-80". Гостру токсичність вивчали на двох видах лабораторних тварин. Дослідження були проведені на 6 групах

мишей, по 10 тварин у групі з кожною дозою (досліджувану сполуку вводили у діапазоні доз: 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 мг/кг) та 6 групах щурів (вводили досліджувану сполуку у діапазоні доз: 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000 мг/кг). Використовували шлях введення внутрішньоочеревинний [4]. Середньосмертельну дозу речовини з лабораторним шифром Э-38 визначали за методом Сг. Karber [7, 9]. Розрахунки LD<sub>50</sub> здійснювали за формою:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum(zd)}{n}, \text{ де:}$$

LD<sub>100</sub> - 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 LD<sub>50</sub> 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 LD<sub>50</sub> сполуки Э-38 визначали за формулою:  $x - t \cdot S_x$  та  $x + t \cdot S_x$ , 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 та їх обговорення

Отримані дані визначення середньої смертельної дози (LD<sub>50</sub>) сполуки Э-38 за умов внутрішньоочеревинного введення мишам наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Параметри гострої токсичності похідного 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на мишах

Показники	Досліджувані дози, мг/кг					
	2000	2500	3000	3500	4000	4500
Кількість тварин, що вижили	10	8	7	5	2	0
Кількість загиблих тварин	0	2	3	5	8	10
z	1	2,5	4,0	6,5	9	
d	500	500	500	500	500	
zd	500	1250	2000	3250	4250	
∑(zd)	11250					

Примітка. У таблиці 1 і 2. У групах по 10 тварин.

У результаті проведених досліджень встановлено, що максимальна толерантна доза сполуки Э-38 дорівнює 2000 мг/кг, найменша смерте-

льна доза (LD<sub>16</sub>) – 2400 мг/кг, а LD<sub>100</sub> = 4500 мг/кг (див. рис. 1)

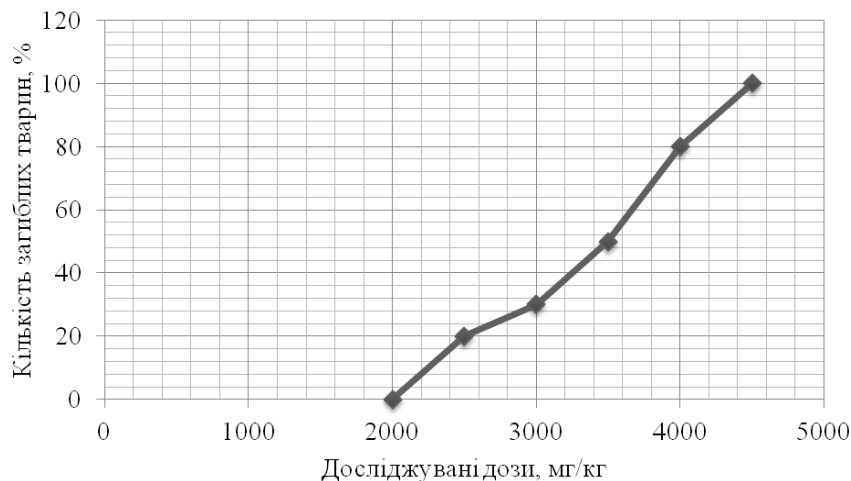


Рис. 1. Результати визначення LD<sub>16</sub> та LD<sub>84</sub> сполуки Э-38 при внутрішньоочеревинному введенні у мишей.

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum(zd)}{n} = 4500 - \frac{11250}{10} = 4500 - 1125 = 3375 \text{ (мг/кг)}$$

$$S_{LD50} = \sqrt{\frac{K \cdot S \cdot d}{n}} = 155 \text{ (мг/кг)}$$

$$s = \frac{LD_{84} - LD_{16}}{2}$$

$$K = 0,564; \quad s = \frac{4100 - 2400/2}{2} = 850; \quad d = 500$$

$$\text{Довірчі межі } LD_{50}: \quad 3375 - 2,26 \cdot 155 = 3069,7 \text{ (мг/кг)}$$

$$3375 + 2,26 \cdot 155 = 3680,3 \text{ (мг/кг)}$$

Таким чином, визначена LD<sub>50</sub> речовини Э-38 мишам при внутрішньоочеревинному введенні дорівнює 3375±155 мг/кг. Довірчі межі величини LD<sub>50</sub> дорівнюють 3375 (3069,7ч3680,3) мг/кг.

Розрахунки середньолетальної дози похідного 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти з умовною позначкою Э-38 при внутрішньоочеревинному введенні щурам представлені в таблиці 2.

Таблиця 2  
Результати визначення гострої токсичності Э-38 на щурах

Показники	Досліджувані дози, мг/кг					
	1500	2000	2500	3000	3500	4000
Кількість тварин, що вижили	10	9	7	6	3	0
Кількість загиблих тварин	0	1	3	4	7	10
z	0,5	2	3,5	5,5	8,5	
d	500	500	500	500	500	
zd	250	1000	1750	2750	4250	
Σ(zd)	10000					

Аналіз результатів свідчить, що максимальна толерантна доза сполуки Э-38 дорівнює 1500 мг/кг, найменша летальна доза (LD<sub>16</sub>) – 2150 мг/кг, LD<sub>100</sub> = 4000 мг/кг (див. рис.2).

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum(zd)}{n} = 4000 - \frac{10000}{10} = 4000 - 1000 = 3000 \text{ (мг/кг)}$$

$$S_{LD50} = \sqrt{\frac{K \cdot S \cdot d}{n}} = 149 \text{ (мг/кг)}$$

$$K = 0,564; \quad s = \frac{LD_{84} - LD_{16}}{2} = \frac{3725 - 2150}{2} = 787,5$$

787,5; d = 500

Довірчі межі: 3000 – 2,26 · 149 = 2663,26 (мг/кг)

$$3000 + 2,26 \cdot 149 = 3336,74 \text{ (мг/кг)}$$

Таким чином, при внутрішньоочеревинному введенні щурам сполуки Э-38 визначена LD<sub>50</sub>, що дорівнює 3000±149 мг/кг. Довірчі межі середньої величини LD<sub>50</sub> становлять 3000 (2663,26-3336,74) мг/кг.

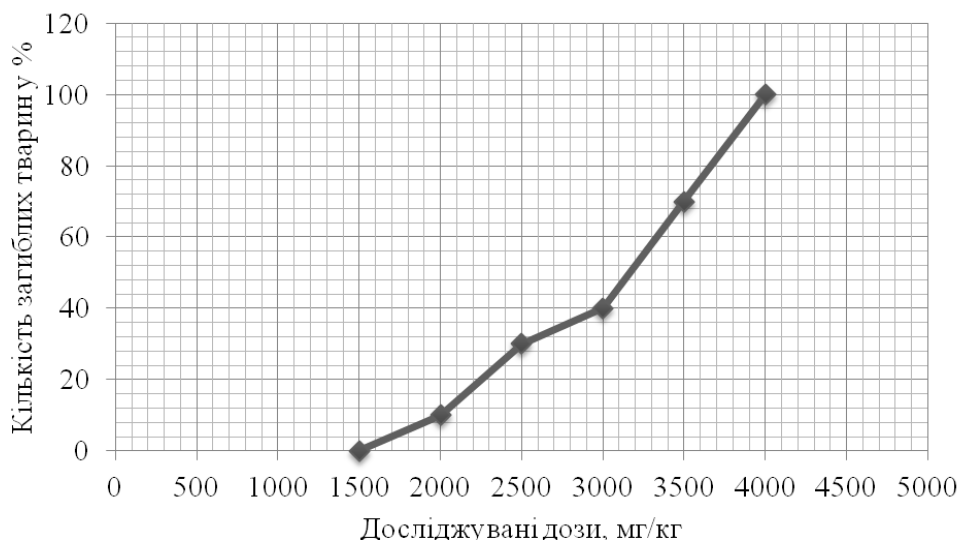


Рис. 2. Параметри визначення LD<sub>16</sub> та LD<sub>84</sub> Э-38 при внутрішньоочеревинному введенні у щурів.

Аналізуючи отримані результати з використанням загальноновживаної класифікації речовин за токсичністю К.К. Сидорова та ГОСТ 12.1.007-76, можемо дійти висновку, що сполука Э-38 у дослідах на нелінійних мишах при внутрішньоочеревинному введенні (LD<sub>50</sub> > 3375 мг/кг) відноситься до речовин VI класу токсичності, тобто відносно нешкідлива, а для щурів лінії Wistar при внутрішньоочеревинному введенні (LD<sub>50</sub> > 3000 мг/кг) похідне 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти є сполукою V класу токсичності, тобто практично нетоксичною [1, 2, 10].

### Висновки

1. Середньолетальна доза етилового ефіру 4-[2-гідрокси-2-(2-оксо-1,2-дигідроіндол-3-іліден)-ацетаміно]-масляної кислоти при внутрішньоочеревинному введенні мишам становить 3375±155 мг/кг і речовина належить до VI класу токсичності.

2. Середньолетальна доза етилового ефіру 4-[2-гідрокси-2-(2-оксо-1,2-дигідроіндол-3-іліден)-ацетаміно]-масляної кислоти при внутрішньоочеревинному введенні щурам дорівнює 3000±149 мг/кг і сполука відноситься до V класу токсичності.

3. Токсичність похідного 2-оксоіндоліну при внутрішньоочеревинному введенні експериментальним тваринам значно нижча за таку у порівнянні з еталонним препаратом іміпраміном.

### Література

1. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности / И.В. Березовская // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – Т. 37, № 3. – С. 32-34.
2. Березовская И.В. Прогноз безопасности лекарственных средств в доклинических токсикологических исследованиях / И.В. Березовская // Токсикологический вестник. – 2010. – № 5 (104). – С. 17-22
3. Луценко Р.В. Вплив похідних 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти на фізичну витривалість тварин за умов гіпотермії / Р.В. Луценко, Т.О. Дев'яткіна, С.В. Колісник [та ін.] // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2008. – Т. 3, № 3. – С. 89-92.

4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / [Літвінова Н.В., Філоненко - Патрушева М. А., Французова С. Б. та ін.]; За ред. О.В. Стефанова. – К. : Авицена. – 2001. – 528 с.
5. Луценко Р.В. Дослідження антидепресивної активності похідних 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти в тесті Порсолта / Р.В. Луценко, Т.О. Дев'яткіна, А.Г. Сидоренко [та ін.] // Вісник Фармації. – 2008. – Т. 56, № 2. – С. 4-8.
6. Луценко Р.В. Дослідження анксиолітичної активності N-(1-нафтил)амід-2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти при моделюванні неконфліктної поведінки в щурів / Р.В. Луценко, Т.О. Дев'яткіна // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 3, № 2 (95). – С. 82-85.
7. Прозоровський В.Б. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки / В.Б. Прозоровський, М.П. Прозоровская, В.М. Демченко // Фармакология и токсикология. – 1978. – № 4. – С. 497-502.
8. Савенкова І.І. Хронопрогностичні показники прояву депресивних станів / І.І. Савенкова // Науковий вісник Миколаївського національного університету імені В.О. Сухомлинського. Сер. : Психологічні науки. – 2013. – Т. 2, вип. 10. – С. 272-277.
9. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М. : Медицина, 2000. – 352 с.
10. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К.К. Сидоров // Токсикология новых промышленных, химических веществ. – М. : Медицина, 1979. – Вып. 13. – С. 47-51.
11. Сидоренко А.Г. Антидепресивна активність похідних 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти / А.Г. Сидоренко, В.М. Бобирьов // Вісник Вінницького державного медичного університету. – 2011. – Т. 15 (1). – С. 41-44.

### Реферат

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЭТИЛОВОГО ЭФИРА 4-[2-ГИДРОКСИ-2-(2-ОКСО-1,2-ДИГИДРО-ИНДОЛ-3-ИЛИДЕН)-АЦЕТАМИНО]-МАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ

Сидоренко А.Г.

Ключевые слова: производное 2-оксоиндолина, среднесмертельная доза, острая токсичность.

Поиск и разработка высокоэффективных и безопасных антидепрессантов является приоритетным направлением современной фармакологии. Эти средства должны выявлять не только достаточный фармакологический эффект, но и быть безопасными для здоровья человека. Цель работы – определить острую токсичность этилового эфира 4-[2-гидрокси-2-(2-оксо-1,2-дигидро-индол-3-илиден)-ацетамин]-масляной кислоты (соединение Э-38) при внутрибрюшинном пути введения, которое проявляет высокую антидепрессивную активность. Эксперименты выполнены на 60 белых половозрелых крысах линии Wistar массой 170-190 г. и 60 нелинейных мышах массой 18-20 г. Исследования проведены на 6 группах мышей, по 10 животных в группе с каждой дозой (соединение Э-38 вводили в диапазоне доз: 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 мг / кг) и 6 группах крыс (вводили вещество в дозах: 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000 мг/кг). Среднесмертельную дозу соединения Э-38 определяли методом Cr. Karber. Расчеты LD50 осуществляли по формуле:  $LD50 = LD100 - \sum (zd) / n$ . Среднелетальная доза этилового эфира 2-оксоиндолина при внутрибрюшинном введении мышам составила  $3375 \pm 155$  мг/кг и соединение относится к VI классу токсичности. При введении соединения Э-38 крысам равнялась  $3000 \pm 149$  мг/кг и оно относится к V классу токсичности. Острая токсичность исследуемого вещества Э-38 значительно ниже, по сравнению с эталонным препаратом имипрамином.

### Summary

DETERMINING OF ACUTE TOXICITY OF ETHYL ESTER 4-[2- HYDROXY-2-(2-OXO -1,2- DIHYDRO- INDOLE -3-ILYDEN)-ACETAMINO]-BUTYRIC ACID

Sydorenko A.G.

Key words: 2-oxoindolin derivative, half-lethal dose, acute toxicity.

The search and development of highly effective and safe anti-depressants is a priority of present-day pharmacology. These medicines should demonstrate not only marked target pharmacological effect, but be safe for human health as well. The purpose of this study presented is to determine acute toxicity of acute toxicity of ethyl ester 4-[2- hydroxy-2-(2-oxo -1,2- dihydro- indole -3-ilyden)-acetamino]-butyric acid (compound E-38) under the intraperitoneal route of administration. This compound shows a high anti-depressant activity. Experiments were performed on 60 white mature Wistar rats weighing 170 -190 g and 60 nonlinear mice weighing 18-20 g. The mice were divided into 6 groups in 10 animals in a group for each dose (compound E-38 was administered in doses ranged from 2000, 2500, 3000, 3500, 4000 to 4500 mg / kg) and into 6 groups of rats (the substance was administered in doses of 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000 mg / kg). Half-lethal dose of compound E-38 was calculated by the method of Cr. Karber. When administered the compound E-38 rats equalled  $3000 \pm 149$  mg / kg and was classified as V class toxicity. Acute toxicity of the substance E-38 was much lower compared to the reference drug Imipramine