

УДК 615.243.2.57.089.5.00.5

Т.І. ТЮПКА, А.Ю. МАРКІНА, Н.М. КОНОНЕНКО, С.В. КОЛІСНИК

*Національний фармацевтичний університет***ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТА ХРОНІЧНОЇ  
ТОКСИЧНОСТІ ІНДОЛІНОРЕНУ**

*Наведені результати експериментального вивчення гострої та хронічної токсичності індолінорену (нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну). Встановлено, що за класифікацією Сидорова К.К. досліджувана сполука відноситься до VI групи відносно нешкідливих речовин. При тривалому застосуванні (3 місяці) індолінорену негативної дії на органи та системи не виявлено.*

*Ключові слова:* гостра токсичність; хронічна токсичність; 2-оксоіндолін

**ВСТУП**

Сучасні діуретики відносять до числа лікарських засобів, що широко застосовують у медичній практиці. Але застосування діуретиків часто супроводжується побічними ефектами, які стосуються, перш за все, водно-електролітного гомеостазу, кислотно-лужної рівноваги, обміну вуглеводів, ліпідів, фосфатів, сечової кислоти. Відомі також специфічні види побічної дії діуретиків, наприклад, ендокринні порушення при лікуванні спиронолактоном, ототоксичний ефект при застосуванні петльових діуретиків [7]. Тому однією з важливих характеристик нових діуретичних препаратів є безпечність для здоров'я людини. Першим етапом дослідження можливої шкідливої дії нового засобу є визначення його гострої токсичності, спрямованої на встановлення кількісних параметрів токсичності субстанції, вивчення характеру її дії і специфічного токсичного ефекту, а також на визначення існуючих видових та статевих відмінностей за чутливістю до токсичного агента. Визначення основного токсикологічного параметра ( $LD_{50}$ ) дозволяє оцінити токсичність нових субстанцій у порівнянні з відомими аналогами, які знайшли широке застосування в медичній практиці. Другим етапом дослідження токсичної дії нових засобів є вивчення їх впливу на органи та системи при їх тривалому застосуванні (хронічної токсичності) [1].

Метою нашого дослідження стало вивчення гострої та хронічної токсичності нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну з умовною назвою «Індолінорен», який за попередніми скринінговими дослідженнями проявив високу діуретичну активність.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ**

Гостру токсичність індолінорену (пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну) визначали при двох шляхах уведення — внутрішньоочеревинному та внутрішньошлунковому за методом Кербера [1, 5] на двох видах лабораторних тварин — нелінійних білих мишах масою  $20 \pm 2$  г і нелінійних білих щурах масою  $200 \pm 20$  г обох статей, які знаходилися на стандартному харчовому раціоні в умовах віварію [4]. Досліди проводили відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Індолінорен вводили внутрішньоочеревинно у дозах від 1000 до 7000 мг/кг у вигляді водної тонкодисперсної суспензії, стабілізованої твіном-80, внутрішньошлунково — у дозах від 2000 до 11000 мг/кг. Кожну дозу досліджували на 6 тваринах. Спостереження проводили протягом 14 днів і оцінювали загальний стан тварин, стан шкірного покриву та слизових оболонок, враховували кількість загиблих тварин та кількість тварин, що вижили. Середню летальну дозу індолінорену розраховували за формулою:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\Sigma(zd)}{n},$$

де:

$LD_{100}$  — доза, яка викликала загибель усіх дослідних тварин;

$z$  — середня величина між кількістю загиблих тварин у «сусідніх» групах;

$d$  — інтервал між дозами;

$n$  — кількість тварин у кожній групі.

© Т.І. Тюпка, А.Ю. Маркіна, Н.М. Кононенко,  
С.В. Колісник, 2011

При побудові графіка «доза-ефект» була визначена стандартна похибка  $LD_{50}$  за формулою Геддама:

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

$$SLD_{50} = \sqrt{KSdn},$$

де:  $K$  — константа — 0,564;

$S$  — стандарт розподілу;

$d$  — інтервал між дозами;

$n$  — кількість тварин у кожній групі [1, 5].

Хронічну токсичність вивчали протягом 90 діб на статевозрілих щурах масою  $200 \pm 20$  г обох статей, розподілених на 4 групи. Тваринам 1-ої (контрольної) групи щоденно вводили по 1,0 мл дистильованої води внутрішньошлунково; тваринам 2-ої, 3-ої, 4-ої групи — внутрішньошлунково вводили індолінорен у дозах 29,5 мг/кг ( $ED_{50}$ ), 147,5 мг/кг (5  $ED_{50}$ ), 295,0 мг/кг (10  $ED_{50}$ ) відповідно.

Вивчення функціонального стану серцево-судинної системи проводили за показниками електрокардіографії, стану крові — за кількістю еритроцитів, вмістом гемоглобіну, кількістю лейкоцитів та лейкоцитарною формулою. Функціональний стан печінки оцінювали за таким показниками крові як вміст загального білка, загального білірубину, глюкози, активності лужної фосфатази (ЛФ), аспаратамінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ), холестерину [3]. Функціональний стан нирок вивчали за показниками добового діурезу, густини сечі, залишкового азоту, креатиніну та сечовини у крові та сечі. Для визначення вагових коефіцієнтів внутрішні органи (головний мозок, серце, печінка, селезінка, надниркові залози, нирки, легені, тимус, підшлункова залоза) зважували, а потім проводили їх патоморфологічне дослідження за загальноприйнятою методикою

(фарбування гематоксиліном-еозином та пікрофуксином за Ван Гізоном). Одержані результати обробляли статистично з використанням  $t$  — критерію Стьюдента [2].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами експериментального дослідження гострої токсичності індолінорену при внутрішньоочеревинному шляху введення було проведено розрахунок  $LD_{16}$ ,  $LD_{50}$ ,  $LD_{84}$ . Ці показники для мишей склали відповідно — 2000, 4000, 5000 мг/кг, а для щурів — 1500, 3333, 4500 мг/кг. При внутрішньошлунковому введенні встановити летальні дози не вдалося, оскільки введення максимально допустимого об'єму індолінорену не викликало загибелі тварин. Вони залишалися рухливими з добрим апетитом та блискучою шерстю до закінчення періоду дослідження. Тобто згідно з класифікацією Сидорова К.К. індолінорен можна віднести до VI групи відносно нешкідливих речовин [6].

Аналіз результатів дослідження хронічної токсичності індолінорену показав, що всі піддослідні тварини добре переносили тривале застосування досліджуваної субстанції. При цьому вірогідної різниці між станом дослідних і контрольних щурів не виявлено. Протягом експерименту харчова активність не змінювалась, маса щурів до кінця експерименту збільшилася на 46,5%–48,2% у дослідних групах і на 47,5% — у контрольній, за станом трофіки внутрішніх органів (вагові коефіцієнти) піддослідні тварини не відрізнялись від контрольних (табл. 1), що свідчить про відсутність негативного впливу індолінорену на органи тварин.

Аналіз результатів експерименту також свідчив про відсутність відхилень у функціонуванні серцево-судинної системи тварин під впливом тривалого застосування індолінорену, на що

Таблиця 1

#### ВПЛИВ ІНДОЛІНОРЕНУ НА ВАГОВІ КОЕФІЦІЄНТИ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ( $M \pm m$ ; $n = 10$ )

Досліджувані органи	Вагові коефіцієнти			
	контрольна група	$ED_{50}$	5 $ED_{50}$	10 $ED_{50}$
Мозок	0,76 ± 0,02	0,74 ± 0,03	0,78 ± 0,02	0,81 ± 0,03
Серце	0,40 ± 0,08	0,39 ± 0,04	0,37 ± 0,06	0,37 ± 0,02
Підшлункова залоза	0,36 ± 0,04	0,32 ± 0,02	0,35 ± 0,08	0,33 ± 0,02
Селезінка	0,55 ± 0,01	0,57 ± 0,06	0,48 ± 0,07	0,50 ± 0,05
Надниркові залози	0,011 ± 0,002	0,013 ± 0,006	0,018 ± 0,003	0,015 ± 0,009
Тимус	0,09 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,09 ± 0,01
Нирки	0,32 ± 0,06	0,29 ± 0,02	0,36 ± 0,03	0,34 ± 0,05
Легені	1,03 ± 0,05	1,04 ± 0,05	0,98 ± 0,06	1,12 ± 0,08
Печінка	3,40 ± 0,03	3,6 ± 0,07	3,6 ± 0,09	3,3 ± 0,08

Примітка.  $P > 0,05$  у порівнянні з контрольною групою.

Таблиця 2

**ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ІНДОЛІНОРЕНУ ПРОТЯГОМ 90 ДІБ В РІЗНИХ ДОЗАХ (M ± m; n = 10)**

Показники		Групи тварин			
		контроль	ЕД <sub>50</sub>	5 ЕД <sub>50</sub>	10 ЕД <sub>50</sub>
Гематологічні показники	Гемоглобін, г/л	123,0 ± 5,2	121,4 ± 1,5	122,6 ± 1,2	131,3 ± 3,4
	Еритроцити, × 10 <sup>12</sup> /л	5,56 ± 0,3	6,2 ± 0,23	5,7 ± 0,16	4,9 ± 0,15
	Лейкоцити, × 10 <sup>9</sup> /л	8,9 ± 2,28	9,2 ± 0,41	9,8 ± 0,2	8,6 ± 0,11
Морфологічний склад лейкоцитів	Лімфоцити	64,4 ± 1,7	61,9 ± 2,3	61,0 ± 0,26	59,7 ± 0,8
	Моноцити	3,0 ± 0,34	3,2 ± 1,73	2,9 ± 0,30	2,8 ± 0,9
	Еозинофіли	1,0 ± 0,36	1,4 ± 0,22	2,0 ± 0,11	1,8 ± 0,56
	Нейтрофіли	Сегменто-ядерні	29,3 ± 2,6	30,5 ± 2,8	31,3 ± 1,6
Паличко-ядерні		2,3 ± 1,2	3,0 ± 1,5	2,8 ± 0,9	2,7 ± 2,3

Примітка. P > 0,05 у порівнянні з контрольною групою.

Таблиця 3

**БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ІНДОЛІНОРЕНУ ПРОТЯГОМ 90 ДІБ В РІЗНИХ ДОЗАХ (M ± m; n = 10)**

Показники	Групи тварин			
	контроль	ЕД <sub>50</sub>	5 ЕД <sub>50</sub>	10 ЕД <sub>50</sub>
Загальний білірубін, мкм моль/л	5,7 ± 1,8	6,0 ± 1,2	6,3 ± 1,7	5,5 ± 1,53
ЛФ, мккат/л	4,20 ± 0,23	4,5 ± 0,22	4,56 ± 0,25	3,92 ± 0,45
АлАТ, мккат/л	0,50 ± 0,020	0,49 ± 0,022	0,52 ± 0,029	0,60 ± 0,052
АсАТ, мккат/л	0,10 ± 0,023	0,09 ± 0,032	0,08 ± 0,027	0,09 ± 0,038
Холестерин, ммоль/л	2,049 ± 0,040	1,889 ± 0,054	1,879 ± 0,025	2,084 ± 0,041
Загальний білок, г/л	70,0 ± 0,1	69,45 ± 1,1	68,32 ± 0,7	67,25 ± 1,3
Сечовина, ммоль/л	5,68 ± 0,18	6,20 ± 0,040	5,75 ± 0,421	6,25 ± 0,07
Глюкоза, ммоль/л	6,1 ± 0,24	6,2 ± 0,35	6,3 ± 0,25	5,8 ± 0,46

Примітка. P > 0,05 у порівнянні з контрольною групою.

Таблиця 4

**ПОКАЗНИКИ ДІУРЕЗУ ЩУРІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ІНДОЛІНОРЕНУ ПРОТЯГОМ 90 ДІБ У РІЗНИХ ДОЗАХ (M ± m; n = 10)**

Показники	Групи тварин			
	контроль	ЕД <sub>50</sub>	5 ЕД <sub>50</sub>	10 ЕД <sub>50</sub>
Об'єм сечі, мл	0,9 ± 0,04	3,1 ± 0,1*	3,2 ± 0,2*	2,8 ± 0,1*
Густина сечі	1,006 ± 0,23	1,016 ± 0,14	1,013 ± 0,45	1,014 ± 0,30
pH сечі	6,49 ± 0,09	6,70 ± 0,08	6,60 ± 0,06	6,36 ± 0,05

Примітка. \* — P < 0,05 у порівнянні з контрольною групою.

вказували частота серцевих скорочень та інші показники електрокардіограми, які достовірно не відрізнялись від контрольної групи.

Результати дослідження складу периферичної крові підслідних тварин свідчать про відсутність відмінностей між контрольною та експериментальними групами щодо рівня гемоглобіну, еритроцитів та лейкоцитів (табл. 2).

Аналіз результатів досліджень біохімічних показників сироватки крові щурів показав, що введення індолінорену в усіх вищезазначених дозах не впливає на функціональний стан печінки (табл. 3).

Встановлено, що тривале застосування індолінорену не викликало істотних змін з боку видільної системи. Азот сечовини і сечовина сироватки крові істотно не змінювалися в усі терміни спостереження. Густина сечі як до початку дослідження, так і протягом 90 діб не відхилялась від норми і складала у середньому 1,006–1,017. Білок у сечі тварин усіх досліджуваних груп не виявлений. Показники діурезу тварин дослідної групи статистично вірогідно відрізнялися від вихідних даних контрольної групи (табл. 4).

При патоморфологічному дослідженні органів щурів контрольної та дослідної групи структурних змін серця, печінки, нирок, селезінки, легень, надниркових залоз не виявлено.

### ВИСНОВКИ

Індолінорен за класифікацією Сидорова К.К. відноситься до VI групи відносно нешкідливих речовин ( $LD_{50}$  індолінорену при внутрішньоочеревинному введенні складає 4000 мг/кг для мишей та 3333 мг/кг — для щурів), не чинить негативного впливу на органи та системи в хронічному експерименті.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Доклінічне дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
2. Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В.И. Прикладная медицинская статистика. — С.Пб.: ФОЛИАНТ, 2003. — 429 с.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической диагностике. — Мн: Беларусь, 2000. — Т. 1. — 494 с.
4. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Ю.М. Кожемякін, О.С. Хромов, М.О. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова]. — К.: Авіценна, 2002. — 156 с.
5. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Элементы экспериментальной фармакологии. — М., 2000. — 315 с.
6. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. — М., 1973. — Вып. 13. — С. 47-57.
7. Штрыголь С.Ю. Побочное действие диуретиков / С.Ю. Штрыголь // Провизор. — 2003. — №19. — С. 30-33.

### УДК 615.243.2.57.089.5.00.5

Т.И. Тюпка, А.Ю. Маркина, Н.Н. Кононенко, С.В. Колесник

#### ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ИНДОЛИНОРЕНА

Приведены результаты экспериментального изучения острой и хронической токсичности индолинорена (нового ацилированного производного 2-оксоиндолина). Установлено, что по классификации Сидорова К.К. исследуемое соединение относится к VI группе относительно безвредных веществ. При длительном применении (3 месяца) индолинорена негативного влияния на органы и системы не обнаружено.

**Ключевые слова:** острая токсичность; хроническая токсичность; 2-оксоиндолин

### UDC 615.243.2.57.089.5.00.5

T.I. Tyupka, A.Yu. Markina, N.M. Kononenko, S.V. Kolisnyk

#### STUDYING OF ACUTE AND CHRONIC TOXICITY OF INDOLINOREN

The results of experimental studying of sharp and chronic toxicity of indolinoren (new derivative of 2-oxoindolin) have been presented. It has been established that on Sidorov's K.K. substance investigated concerns to VI group of harmless substances. By prolonged application (during 3 months) of indolinoren negative influence on organs and all systems was not found.

**Key words:** sharp toxicity; chronic toxicity; 2-oxoindolin

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.

Кафедра патологічної фізіології

Тел. (057) 706-30-66

Надійшла до редакції:

28.04.2011