

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ЭТИЛ 3-(8-ФТОР-2-МЕТИЛ-2,3,4,5-ТЕТРАГИДРОПИРИДО[4,3-*b*]ИНДОЛ-5-ИЛ)- ПРОПИОНАТА ДИГИДРОХЛОРИДА, ОБЛАДАЮЩЕГО ПРОТИВОАЛЛЕРГИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ

А. В. Иващенко¹, М. Г. Кадиева², О. Д. Митькин², Д. В. Кравченко², Р. М. Салимов²,
Е. И. Скрабелинская², Ю. А. Федотов², Я. В. Лавровский¹

Изучена токсичность нового противоаллергического средства — этил 3-(8-фтор-2-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-γ-карболин-5-ил)-пропионата дигидрохлорида (CD-008-040). Установлено, что при введении соединения в терапевтических дозах неблагоприятных эффектов не наблюдается.

Ключевые слова: 2,3,4,5-тетрагидро-1H-γ-карболины, острая токсичность, субхроническая токсичность

ВВЕДЕНИЕ

Ранее мы сообщали о результатах изучения фармакологической активности нового производного γ-карболина CD-008-040 (рис. 1) [1]. Установлено, что в терапевтических дозах (5 – 20 мг/кг) CD-008-040 оказывает выраженное антиаллергическое действие при отсутствии седативного эффекта. Исходя из необходимости оценки критерия риск/польза, в настоящем исследовании изучали проявления острой и субхронической токсичности CD-008-040 в экспериментах на клеточных моделях и лабораторных животных.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование цитотоксичности CD-008-040 выполняли на первичных гепатоцитах человека. Разведения CD-008-040 в 10 % ДМСО добавляли к суспензии клеток в концентрации 12,500 клеток на лунку в 25 мкл среды и помещали в CO₂-инкубатор (5 % CO₂, 37 °C). После инкубации (48 ч) добавляли раствор Аламара синего (конечная концентрация — 50 мкМ). Затем вновь инкубировали, регистрировали флуоресценцию на длине волн 531 нм/589 нм возбуждение/испускание. Лунки без клеток (среда + Аламар синий) использовали для определения фонового уровня флуоресценции.

Для экспериментов на лабораторных животных использовали самцов мышей аутбредной линии SHK массой 20 – 25 г, полученных из питомника лабораторных животных филиала “Андреевка” ГУ Научный центр биомедицинских технологий РАМН.

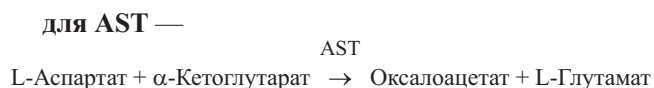
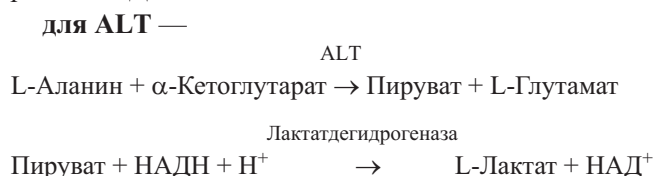
Для определения острой токсичности оценивали смертность мышей в течение 1 недели после внутрибрюшинного введения различных доз CD-008-040. В каждой группе использовали 4 мыши. Величину LD₅₀ и ее ошибку рассчитывали путем пробит-анализа таб-

лицы смертности по методу Финни с помощью программы BioStat 2006.

Для оценки максимально переносимой дозы (МПД) мышам раз в сутки в течение 5 дней внутрибрюшинно вводили CD-008-040 в дозах 50, 100 или 200 мг/кг. В каждой группе использовали 8 мышей. Контрольным животным вводили эквивалентное количество физиологического раствора. Учитывали смертность мышей и изменение массы их тела, внешний вид и координацию движений. Максимальная доза, при введении которой не наблюдается смертность животных и не является статистически значимое уменьшение массы их тела, считалась МПД изучаемого соединения.

Для оценки субхронической токсичности мышам 1 раз в сутки в течение 14 дней внутрибрюшинно вводили CD-008-040 в дозе 50 мг/кг. В каждой группе использовали 10 мышей. Контрольным животным вводили эквивалентное количество физиологического раствора. Учитывали смертность мышей и изменение массы их тела, внешний вид и координацию движений. Через 24 ч после последней инъекции мышей декапитировали и отбирали пробы крови в пробирки с 100 мкл 5 % ЭДТА. Пробы центрифугировали в течение 10 мин при 10000 об/мин. Плазму крови (0,3 – 0,4 мл) переносили в чистые пробирки и использовали для биохимического анализа.

Активность ферментов аланинаминотрансферазы (ALT) и аспартатаминотрансферазы (AST), а также содержание глюкозы и мочевины оценивали по концентрации НАДН:



¹ Chemical Diversity Inc., San Diego, CA 92121, USA.

² Исследовательский институт химического разнообразия, Химки, Московская обл., 141400, ул. Рабочая, 2а.
E-mail: kadijeva@iibr.ru.

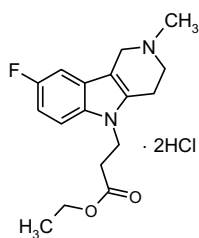


Рис. 1. Структурная формула этил 3-(8-фтор-2-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1H-γ-карболин-5-ил)-пропионата дигидрохлорида (CD-008-040).

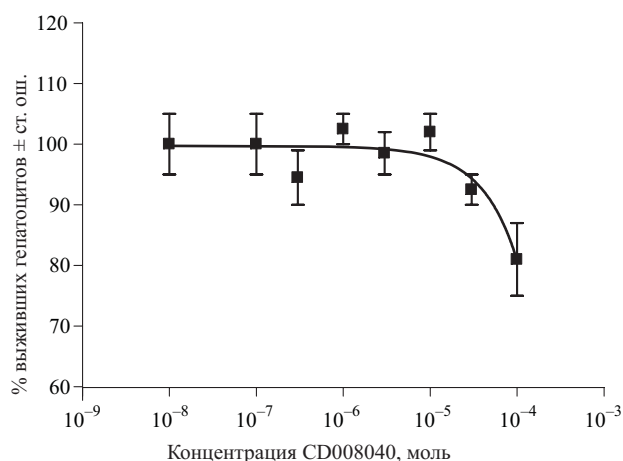


Рис. 2. Определение значения IC_{50} CD-008-040 разрушения первичных гепатоцитов человека.

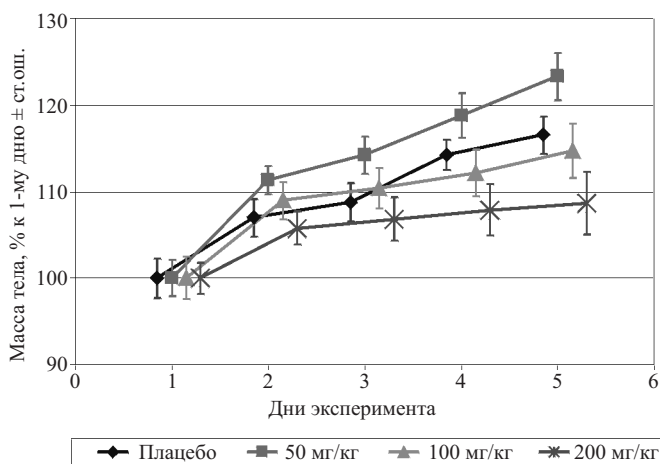


Рис. 3. Определение максимально переносимой дозы соединения CD-008-040 при введении внутрибрюшинно мышам в дозах 50, 100 и 200 мг/кг.



для мочевины —

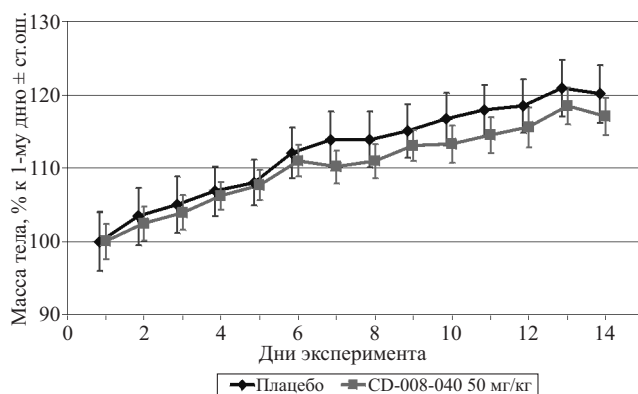
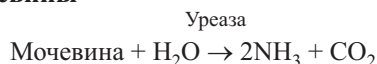
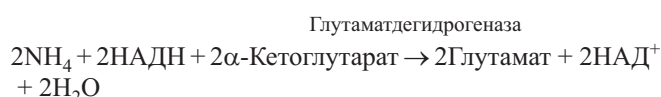
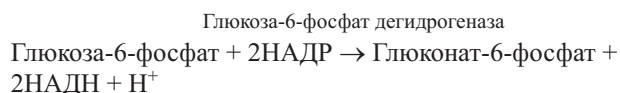


Рис. 4. Субхроническая токсичность соединения CD-008-040 при введении внутрибрюшинно мышам в дозе 50 мг/кг в течение 14 суток.



для ГЛЮКОЗЫ —



Измерения проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Sapphire 120 (“Audit Diagnostics”, Ирландия) с использованием соответствующих диагностических наборов для фотометрического определения в сыворотке/плазме крови (“Audit Diagnostics”, Ирландия). Оптическую плотность измеряли при длине волны 340 нм.

Результаты обрабатывали с помощью пакета статистических программ Statistica 6.0. Рассчитывали средние арифметические значения величин, стандартную ошибку средней и коэффициент вариации. Достоверность различий для сравниваемых групп оценивали по *t*-критерию Стьюдента при *p* < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований по изучению острой и субхронической токсичности свидетельствуют о том, что соединение CD-008-040 может быть отнесено к категории веществ, обладающих умеренной токсичностью. Это подтверждается сравнительно высокой величиной IC_{50} на клеточной модели ($\gg 100$ мкМ, рис. 2), а также LD_{50} (654 ± 76 мг/кг) и максимально переносимой дозы (200 мг/кг) у мышей.

При введении животным CD-008-040 в дозе 50 мг/кг в течение 14 дней их масса, внешний вид и координация движений не отличались от соответствующих показателей контрольной группы мышей (рис. 3 и 4). Биохимические показатели плазмы крови у контрольной и опытной групп мышей при этом также существенно не изменялись (рис. 5 и 6).

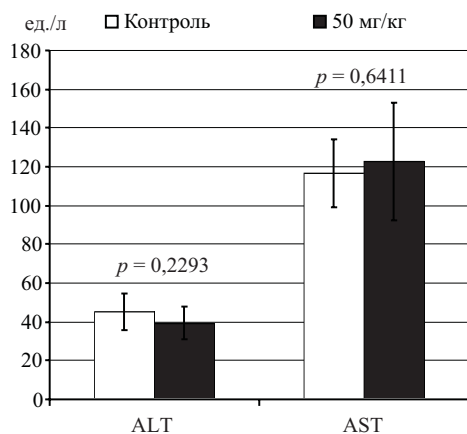


Рис. 5. Активность ALT и AST (средняя \pm доверительный интервал) в плазме крови контрольных и экспериментальных мышей.

ВЫВОДЫ

1. При определении острой токсичности соединения CD-008-040 на мышах LD_{50} составила 654 ± 76 мг/кг (внутрибрюшинно); при изучении цитотоксичности величина IC_{50} на первичных гепатоцитах человека $\gg 100$ мкМ.

2. Субхроническое введение CD-008-040 (14 дней по 50 мг/кг, внутрибрюшинно) не выявило существен-

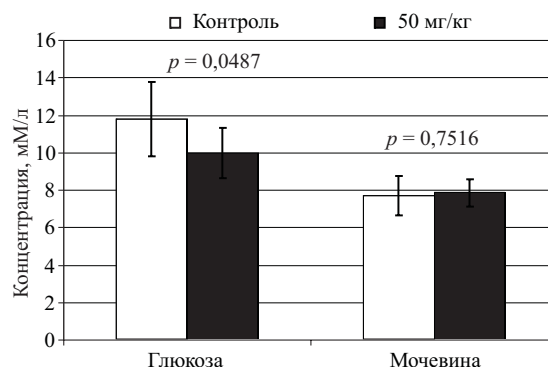


Рис. 6. Концентрация глюкозы и мочевины (средняя \pm доверительный интервал) в плазме крови контрольных и экспериментальных мышей.

ных изменений массы, внешнего вида животных и биохимических показателей крови по сравнению с контрольной группой мышей.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Иващенко, М. Г. Кадиева, Д. В. Кравченко и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **73** (3), 28 – 30 (2010).

Поступила 07.09.09

TOXICITY OF ETHYL-3-(8-FLUORO-2-METHYL-2,3,4,5-TETRAHYDROPYRIDO[4,3-B]INDOL-5-YL)-PROPIONATE DIHYDROCHLORIDE POSSESSING ANTIALLERGIC PROPERTIES

A. V. Ivashchenko¹, M. G. Kadieva^{2*}, O. D. Mit'kin², D. V. Kravchenko², R. M. Salimov², E. I. Skrabelinskaya², Yu. A. Fedotov², and Ya. V. Lavrovskii¹

¹ ChemDiv (Chemical Diversity) Inc., 92121 San Diego, CA, United States

² Chemical Diversity Research Institute, ul. Rabochaya 2a, Khimki, Moscow oblast, 141400, Russia

* e-mail: kadieva@ihr.ru

The toxicity of new γ -carboline derivative [ethyl 3-(8-fluoro-2-methyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H- γ -carbolin-5-yl)-propionate dihydrochloride, CD-008-040] has been studied.

Key words: 2,3,4,5-Tetrahydro-1H- γ -carbolines, acute toxicity, subchronic toxicity