

© Луценко Р.В., Сидоренко А.Г., Власенко Н.О., Луценко О.А.

УДК: 577.1:61:612.08

DOI <https://doi.org/10.31718/mep.2022.26.1-2.05>

ВСТАНОВЛЕННЯ СЕРЕДНЬОЇ ЕФЕКТИВНОЇ ДОЗИ 2-ГІДРОКСИ-Н-НАФТАЛЕН-1-ІЛ-2-(2-ОКСО-1,2-ДИГІДРО-ІНДОЛ-3-ІЛІДЕН)-АЦЕТАМІДУ НА МОДЕЛІ «ПОВЕДІНКА, ЩО КАРАЄТЬСЯ»

Луценко Р.В., Сидоренко А.Г., Власенко Н.О., Луценко О.А.

Полтавський державний медичний університет

Derivatives of 2-oxoindoline demonstrate significant biological and pharmacological activity, including diuretic, anti-inflammatory, antitumor, antiviral, antibacterial, analgesic, sedative, anticonvulsant and other effects. The aim of this research is to establish the average effective dose of 2-hydroxy-n-naphthalene-1-yl-2-(2-oxo-1,2-dihydro-indol-3-ylidene)-acetamide (compound 18) as a potential anxiolytic, as well as its therapeutic index. Materials and methods of research. The experiments were performed on 36 albino adult male Wistar rats. The average effective dose (ED_{50}) of compound 18 for anxiolytic activity was investigated in the «punishable behavior» test. Rats were divided into 6 groups of 6 animals each. The dose range for the intraperitoneal route of administration was (1, 3, 6; 12, 24, 48 mg/kg). Results and discussion. The «punishable behavior» model, Vogel variant, determined the average effective dose (ED_{50}) and dose-response relationship for 2-hydroxy-n-naphthalene-1-yl-2-(2-oxo-1,2-dihydro-indol-3-ylidene)-acetamide (compound 18) with a single intraperitoneal injection. Analysis of the results shows that the maximum dose that did not cause the effect was 1.0 mg/kg, the minimum effective dose ED_{16} was 4.5 mg/kg, and the maximum effective dose ED_{100} was 48 mg/kg. Conclusion. Experimentally determined ED_{50} of compound 18 in rats when administered intraperitoneally in the «punishable behavior» test, variant Vogel, was 11.9 ± 2.85 mg/kg. The ED_{50} confidence margins were $(4.92 \div 18.9)$ mg/kg. According to the therapeutic index, substance 18 exceeds diazepam by 14.8 times.

Key words: 2-oxoindolins, average effective dose, anxiolytic action.

Похідні 2-оксоіндоліну виявляють значну біологічну й фармакологічну активність, зокрема сечогінну, протизапальну, протипухлинну, противірусну, антибактеріальну, знеболювальну, седативну, протисудомну та інші. Мета роботи – встановлення середньої ефективної дози 2-гідрокси-н-нафтален-1-іл-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду (сполуки 18), як потенційного анкіолітика та його терапевтичний індекс. Матеріали та методи дослідження. Досліди виконані на 36 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar. Середню ефективну дозу (ED_{50}) сполуки 18 за анкіолітичною дією досліджували у тесті «поведінка, що карається». Щурів розділили на 6 груп по 6 тварин у кожній. Діапазон доз при внутрішньоочеревинному шляху введення становив (1, 3, 6; 12, 24, 48 мг/кг). Результати та їх обговорення. На моделі «поведінка, що карається», варіант Vogel, визначали середню ефективну дозу (ED_{50}) й залежність «доза-ефект» для 2-гідрокси-н-нафтален-1-іл-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду (сполуки 18) при однократному внутрішньоочеревинному введенні. Аналіз результатів свідчить, що максимальна доза, яка не викликала ефекту, дорівнювала 1,0 мг/кг, мінімальна ефективна доза доза ED_{16} – 4,5 мг/кг, максимальна ефективна доза ED_{100} становила 48 мг/кг. Висновок. експериментально визначена ED_{50} сполуки 18 на щурах при внутрішньоочеревинному введенні у тесті «поведінка, що карається» варіант Vogel дорівнювала $11,9 \pm 2,85$ мг/кг. Довірчі межі ED_{50} становили $11,9 (4,92 \div 18,9)$ мг/кг. За терапевтичним індексом речовина 18 перевищує препарат порівняння діазепам у 14,8 рази.

Ключові слова: 2-оксоіндоліни, середня ефективна доза, анкіолітична дія.

Вступ

Природні та синтетичні гетероциклічні сполуки є одним з ключових джерел для створення нових лікарських препаратів. До цієї когорти речовин належить індол та його похідні, що виступають основою для створення важливих фармацевтичних препаратів, які виявляють широкий спектр фармакологічних ефектів і застосовуються у різних областях медицини [14]. При цьому оксоіндоли виявляють значну біологічну й фармакологічну активність, зокрема сечогінну, протизапальну, протипухлинну, противірусну, антибактеріальну, знеболювальну, седативну, протисудомну та інші [11, 12, 13]. Особливий інтерес представляють похідні 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти, вони структурно подібні до серотоніну, тому вочевидь, можуть зв'язуватись з точками специфічної взаємодії

психотропних препаратів та регулювати активність відповідних структур у головному мозку [2].

Показано, що похідні 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти малотоксичні, всмоктуються в кишечнику [1]. У них показані ноотропні, антигіпоксичні, антиамнестичні, церебропротекторні й антидепресивні властивості [5, 6, 10]. Докладно вивчалась дія етилового естеру 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти при скополаміновій амнезії та церебральній ішемії [3, 8]. Ці речовини покращували процеси навчання і пам'яті, при цьому позитивно активували всі три фази пам'яті та покращували розумову активність тварин за умов стресу [7, 8].

У сполуки з цієї групи у поведінкових тестах: «відкрите поле», «вимушене плавання» і «підвішування за хвіст» сприяли адаптації до стресорів середньої аверсивності, зокрема зменшували відчуття депресивності та страху при інтраперитонеальному введенні [9, 10].

*Цитування при атестації кадрів: Луценко Р.В., Сидоренко А.Г., Власенко Н.О., Луценко О.А. Встановлення середньої ефективної дози 2-гідрокси-н-нафтален-1-іл-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду на моделі «поведінка, що карається» // Проблеми екології і медицини. – 2022. – Т. 26, № 1-2. – С. 19-21.

Таким чином, накопичені відомості стосовно психотропної дії похідних 2-оксоіндолін-3-глюксоинової кислоти, зокрема анксиолітичної, які потребують подальших досліджень, зокрема стосовно вивчення анксиолітичних і екстра церебральних властивостей, що безумовно потребує встановлення середньої ефективної дози сполуки-лідера (2-гідрокси-п-нафтален-1-іл-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду) за анксиолітичною активністю.

Мета роботи – встановлення середньої ефективної дози 2-гідрокси-п-нафтален-1-іл-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду (сполуки 18), як потенційного анксиолітика та його терапевтичний індекс.

Матеріали та методи дослідження

Досліди виконані на 36 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar, які знаходились в стандартних умовах віварію у клітках по 4 - 5 тварин, знаходились на харчовому раціоні у вигляді кормової суміші й мали вільний цілодобовий доступ до води з автоматизованих поїлок. Експериментальні дослідження, що проводились відповідають вимогам Європейської конвен-

ції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілях» (Страсбург, 1985), Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (№3446 – IV 21.02.06). Сполуку 18 (2-гідрокси-п-нафтален-1-іл-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду) ек tempore суспендували у воді для ін'єкцій з краплею емульгатора «Твін-80». Середню ефективну дозу (ED₅₀) сполуки 18 за анксиолітичною дією досліджували у тесті «поведінка, що карається». Щурів розділили на 6 груп по 6 тварин у кожній. Діапазон доз при внутрішньоочеревинному шляху введення становив (1, 3, 6; 12, 24, 48 мг/кг). Середню ефективну дозу речовини 18 визначали за методом Cr. Karber [8, 9].

Результати та їх обговорення

На моделі «поведінка, що карається», варіант Vogel, визначали середню ефективну дозу (ED₅₀) й залежність «доза-ефект» для сполуки 18 при внутрішньоочеревинному введенні (табл. 1).

Таблиця 1.
Розрахунки середньої ефективної дози сполуки 18 на щурах при внутрішньоочеревинному введенні за даними тесту «поведінка, що карається» (n=6)

Дослідні групи	Доза, мг/кг					
	1	3	6	12	24	48
Кількість щурів, у яких речовина, що досліджується вірогідно не впливала на кількість підходів до поїлки, од	6	4	3	2	1	0
Кількість тварин, у яких сполука збільшувала кількість підходів до поїлки, од	0	2	3	4	5	6
z	1,0	2,5	3,5	4,5	5,5	
d	2	3	6	12	24	
zd	2	7,5	21	54	132	
Σ(zd)	216,5					

Примітка: n – кількість тварин у групі.

Аналіз результатів свідчить, що максимальна доза, яка не викликала ефекту, дорівнювала 1,0 мг/кг, мінімальна ефективна доза ED₁₆ – 4,5 мг/кг, максимальна ефективна доза ED₁₀₀ становила 48 мг/кг.

Отримані результати можна відобразити графічно (рисунок).

$$ED_{50} = ED_{100} - \frac{\sum(zd)}{n} = 48 - \frac{216,6}{6} = 48 - 36,1 = 11,9 \text{ (мг/кг)}$$

З графіку стандарт розподілу розраховуємо

$$S = \frac{ED_{84} - ED_{16}}{2} = \frac{24,2 - 2,1}{2} = 11,1$$

За формулою Геддама

$$S_{ED50} = \sqrt{\frac{K \cdot s \cdot d}{n}} = \sqrt{\frac{0,5641 \cdot 11 \cdot 7,8}{6}} = \pm 2,85 \text{ мг/кг}$$

Примітки: S – стандарт розподілу, d – середньоарифметичний інтервал між дозами, n – кількість груп тварин у досліді, K = 0,564

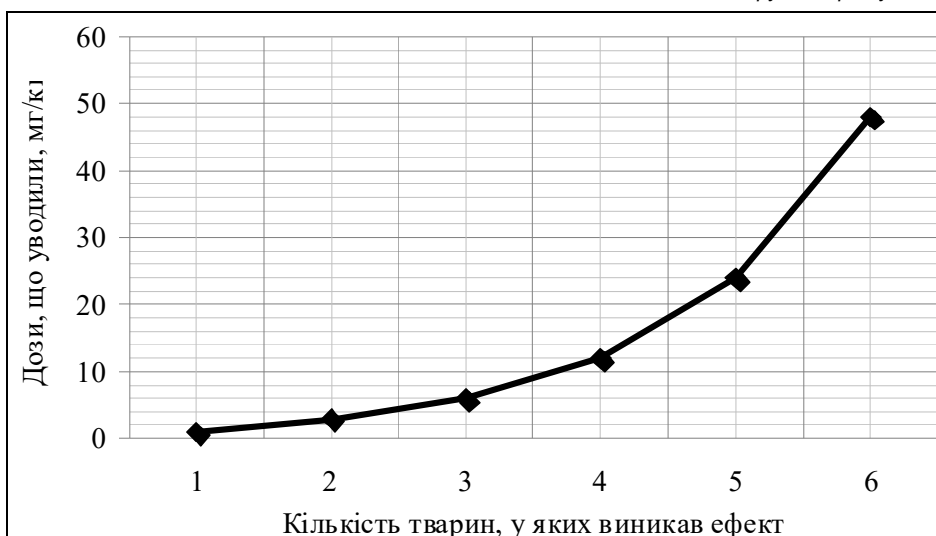


Рисунок. Представлена графічна залежність «доза-ефект» при застосуванні речовини 18 у тесті «поведінка, що карається», варіант Vogel при одноразовому внутрішньоочеревинному введенні.

Довірчі межі ED₅₀:

$$11,9 - 2,45 \cdot 2,85 = 11,9 - 6,98 = 4,92 \text{ (мг/кг)}$$

$$11,9 + 2,45 \cdot 2,85 = 11,9 + 6,98 = 18,88 \text{ (мг/кг)}$$

Отже, експериментально визначена ED₅₀ сполуки 18 на щурах при внутрішньоочередовинному введенні у тесті «поведінка, що карається» варіант Vogel дорівнювала 11,9±2,85 мг/кг. Довірчі межі ED₅₀ становили 11,9 (4,92÷18,9) мг/кг. Отримані результати підтверджують відомості з літератури та наші припущен-

ня, оскільки на етапі скринінгу використовували дозу сполук 12 мг/кг [Луценко Казань].

З метою визначення надважливого показника широти терапевтичної дії речовини 18, що свідчить про її безпечність, зробили розрахунки значення терапевтичного індексу та відносного терапевтичного індексу. Отримані результати для аміду 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти (сполука 18) доцільно порівняти зі значеннями референт-препарату діазепаму. Отримані результати порівняння представлені в табл. 2.

Таблиця 2.

Порівняльна характеристика гострої токсичності та ED₅₀ сполуки 18 і діазепаму

Сполука що досліджується / препарат порівняння	ED ₅₀ , мг/кг	LD ₅₀ , мг/кг	Терапевтичний індекс	Відносний терапевтичний індекс
Речовина 18	11,9	3250*	273,1	14,8
Діазепам	2	37**	18,5	1

Примітка: * – [7].

** – за даними [паспорт безпечності ЕС №1907/2006 з поправками №1272/2008].

Узагальнюючи отримані результати, можемо зробити висновок, що сполука 18 (2-гідрокси-п-нафтален-1-іл-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду) є менш токсичною за діазепам у 88 разів [7], а також викликає анксиолітичну дію у більшій дозі в 6 разів, перевищує препарат порівняння за значенням відносного терапевтичного індексу в 14,8 разу. Близькі результати виявлені при вивченні гострої токсичності інших похідних 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти в інших видів тварин [10, 76].

Висновок

На щурах при внутрішньоочередовинному введенні встановлена анксиолітична ED₅₀, яка дорівнювала 11,9±2,85 мг/кг. За терапевтичним індексом речовина 18 перевищує препарат порівняння діазепам у 14,8 разу.

Література

1. Березнякова М. Є., Нікітенко А. О. Визначення ефективної дози і гострої токсичності хінолінетану. *Запорожский медицинский журнал*. 2010. Т. 12, №1. С. 49–50.
2. Веселовский А. В., Иванов А. С., Медведев А. Е. Компьютерное моделирование моноаминоксидаз. *Биомедицинская химия*. 2015. Т. 61, № 2. С. 265–271.
3. Доклінічне вивчення ноотропної активності та супутніх психотропних властивостей похідних 2-оксоіндоліну / О. В. Шатілов, С. Ю. Штриголь, С. В. Колісник, В. В. Болотов. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2009. Т. 9, вип. 2 (26). С. 139–142.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / [Літвінова Н.В., Філоненко - Патрушева М. А., Французова С. Б. та ін.]: під ред. О.В. Стефанова. – К.: Авицена. – 2001. – 528 с.
5. Зв'язок «структура–дія–активність» у ряду похідних 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти / І. І. Шевцов, В. І. Березняков, Е. Л. Торянік, С. В. Колісник. *Медична хімія*. 2006. Т. 8. № 1. С. 67 – 71.

6. Ковальова С.В. Синтез, властивості та біологічна активність ефірів та амідів 2-оксоіндолінкарбонових кислот: дис. ... канд. фармац. наук: 15.00.02 / НФаУ. Х., 1999. 146 с.
7. Луценко Р. В. Встановлення токсичності 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідроіндол-3-іліден)-ацетаміду *Вісник проблем біології і медицини*. 2017. Вип. 4, Т. 1 (139). С. 190–193.
8. Ноотропні, антигіпоксичні та церебропротекторні властивості похідних (2-оксоіндолініліден-3)-оцтової кислоти / О. В. Шатілов, С. Ю. Штриголь, С. В. Колісник, В. В. Болотов. *Буковинський медичний вісник*. 2012. Т. 16, № 3(63). С. 118–123.
9. Сидоренко А. Г. Пошук антидепресантів серед похідних 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.05/ НФаУ. Х., 2016. 185 с.
10. Сидоренко А. Г., Луценко Р. В. Антидепресивна активність похідних 2-оксоіндолін-3-глюксілової кислоти при моделюванні клофелінової депресії. Актуальні проблеми сучасної медицини: *Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2012. Т. 12, вип. 4 (40). С. 161–164.
11. Csende F. Investigation of the intramolecular cyclization of the thiophene substituted cyclohexane skeleton gamma-oxocarboxylic acid and synthesis of some N-heteroaryl isoindole derivatives. *Acta Pharm Hung*. 2011. Vol. 81 (2). P. 59–62.
12. Saravanan G., Alagarsamy V. G., Prakash C. R. Synthesis, analgesic, antiinflammatory and ulcerogenic properties of some novel N'-((1-(substituted amino)methyl)-2-oxoindolin-3-ylidene)-4-(2-(methyl/phenyl)-4-oxoquinazolin-3 (4H)-yl) benzohydrazide derivatives. *Drug Discov Ther*. 2012. Vol. 6, № 2. P. 78–87.
13. Synthesis and anticancer potential of certain novel 2-oxo-N'-(2-oxoindolin-3-ylidene)-2H-chromene-3-carbohydrazides / H.A. Abdel-Aziz et al. *Eur J Med Chem*. 2013. Vol. 70. P. 358–363.
14. Williams R. B., Hu J. F., Olson K. M. Antibiotic indole sesquiterpene alkaloid from Greenwayoden-dron suaveolens with a new natural product framework. *J. Nat Prod*. 2010. Vol. 28, № 73(5). P. 1008–1011.

Матеріал надійшов до редакції 20.01.2022 р.