

УДК 615.27:615.9

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-6-59-62

ТОКСИЧНОСТЬ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ АКТИВНОГО КЛАТРАТНОГО КОМПЛЕКСА 3-(2-ФЕНИЛЭТИЛ)-2-ТИОКСО- 1,3-ТИАЗОЛИДИН-4-ОНА С β -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

К.Т. Еримбетов^{1,2}, Р.А. Земляной¹,
Е.В. Бондаренко², А.Я. Гончарова²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», 249013, РФ, Калужская обл. г. Боровск, пос. Институт

²ООО «Научно-исследовательский центр «Парк активных молекул», РФ, Калужская обл., г. Обнинск

Разработан впервые активный клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином в виде нанопорошка со средним размером частиц 40,5 нм, обладающий широким спектром фармакологических свойств. По результатам токсикометрии имеются все основания активный клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином отнести к VI классу относительно безвредных лекарственных веществ по Hodge и к 5 классу токсичности, в соответствии с ГОСТ 32644-2014.

Ключевые слова: роданины, 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он, β -циклодекстрин, клатратные комплексы, фармацевтическая субстанция, острая токсичность, наночастицы.

Цит: К.Т. Еримбетов, Р.А. Земляной, Е.В. Бондаренко, А.Я. Гончарова. Токсичность при однократном внутрижелудочном введении активного клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином. Токсикологический вестник. 2020; 6:59-62

Введение. В настоящее время весьма перспективным является класс соединений, относящихся к роданинам, на основе которых можно создать средства медицинского и ветеринарного применения. Соединения роданинового ряда – это органические молекулы, содержащие остатки 4-оксо-2-тиоксо-1,3-тиазолидина [1]. Роданины могут проявлять физиологические и фармакологические эффекты и в связи с этим они являются перспективными соединениями для разработки лекарственных средств, так и биологически активных добавок к кормам. Одним из фармакологически активных соединений из выше упомянутого класса является 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он. По данным литературы установлено его ингибирующее действие в отношении фермента киназы гликогенсинтазы 3 β (GSK3 β). Для соединения 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она ингибирующая актив-

ность, выраженная в виде IC₅₀, составляет 35 мкМ [2, 3]. GSK3 β участвует в регуляции примерно 50 белков и локализован как в цитозоле, так и внутри ядра. GSK3 β играет ключевую роль в регуляции усвоения глюкозы и ее конверсии в гликоген, усиления синтеза мышечного белка, увеличения пула рецепторов стероидных гормонов, готовых к активации агонистами, что возможно получение анаболического эффекта при применении 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она [4, 5, 6, 7].

В настоящее время 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он относится к малоизученным молекулам и по физико-химическим свойствам – к нерастворимым в водной среде соединениям. В связи с этим актуальным является разработка на основе данного соединения клатратного комплекса с β -циклодекстрином, позволяющего повысить показатели растворимости,

Еримбетов Кенес Тагаевич (Erimbetov Kenes Tagaevich) – доктор биологических наук, научный руководитель аспиранта Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФГБНУ Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, руководитель Службы доклинических и клинических исследований, ООО «Научно-исследовательский центр Парк Активных Молекул», erimbetovkt@mail.ru

Земляной Руслан Александрович (Zemlyanoy Ruslan Alexandrovich) – аспирант, ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. Л.К. Эрнста», г. Боровск, Калужская обл., ledifav@yandex.ru

Бондаренко Екатерина Валерьевна (Bondarenko Ekaterina Valer'evna) – кандидат биологических наук, кандидат биологических наук, зам. директора ИБМИ ООО «Научно-исследовательский центр Парк Активных Молекул», тел.: 89105228624, E-mail: bondarenko@pam-alliance.ru

Гончарова Анна Яковлевна (Goncharova Anna Yakovlevna) – кандидат биологических наук, директор ООО «Научно-исследовательский центр Парк Активных Молекул», goncharova@pam-alliance.ru

биодоступности, и проведение токсикологических исследований. Клатраты - это супрамолекулярные соединения; образующиеся при включении молекул одного вида, называемых гостями, в полости кристаллического каркаса, построенного из молекул другого вида, называемых хозяевами (решетчатые клатраты), или в полость одной большой молекулы-хозяина (молекулярные клатраты). Предлагается для токсикологических исследований так называемый молекулярный активный клатрат 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином.

Цель работы: Изучение токсичности при однократном внутрижелудочном введении нового активного клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином в экспериментах на крысах Wistar.

Материалы и методы исследования. Активный клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином был синтезирован твердофазным методом на шаровой мельнице Активатор 2S. Размеры полученных частиц были измерены на приборе Zetasizer Nano ZS. Анализировали наработанные клатратные комплексы 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином при их разных соотношениях методами спектроскопий в УФ диапазоне.

В соответствии с методическими рекомендациями, приведенными в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [8] и монографии [9] исследована острая токсичность фармацевтической субстанции и клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином. Оценку острой токсичности фармацевтической субстанции и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином проводили при их однократном внутрижелудочном введении крысам в возрастающих дозах с анализом причин наступления гибели и клинической картины интоксикации. Класс токсичности изучаемых веществ определяли в соответствии с ГОСТ 32644-2014 и классификацией Hodge et al. [10, 11].

Две серии экспериментов проведены на крысах Wistar обоего пола с массой тела 190-230 г, возраст 12-13 недель. В первом эксперименте проведена оценка острой токсичности фармацевтической субстанции 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он. Во втором эксперименте - клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином. В обоих экспериментах были сформированы 6 групп крыс по 5 животных обоего пола. Крысы содержались в клетках Т-4 по 5 особей в условиях искусственного освещения (12 часов светлого и темного времени) с принудительной 16-кратной в час вентиляцией, при температуре 20-22 °С и относительной

влажности 50-65% на подстилке из древесных стружек, простерилизованных в сухожаровом шкафу. Крысы имели свободный доступ к гранулированному корму и питьевой воде. Длительность наблюдения за подопытными животными после введения фармацевтической субстанции 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином составила 14 суток. Крысы первые двое дней после их введения находились под непрерывным наблюдением. При этом регулярно фиксировалось общее состояние, особенности поведения и двигательной активности, регистрировались сроки развития интоксикации и гибели животных, изменения массы тела выживших особей.

Как указывалось, выше фармацевтическая субстанция 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он не растворима в водной среде. В связи с этим для лучшего дозирования фармацевтической субстанции 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином готовили однородную суспензию их в 3 % крахмальном геле. Для этого использовали картофельный крахмал (ГОСТ 7699-78). Свежеприготовленные суспензии фармацевтической субстанции и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином вводили в желудок металлическим зондом крысам (самцам и самкам) в диапазоне доз от 2000 до 14000 мг/кг и от 6000-16000 мг/кг массы тела, соответственно. Исследование острой токсичности высоких доз препаратов осуществляли путем 3-х кратного с интервалом 1 час внутрижелудочного введения крысам 1/3 указанных доз.

Параметры острой токсичности фармацевтической субстанции 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином при внутрижелудочном введении крысам обоего пола оценивали по методу пробит-анализа Литчфилда-Уилкоксона [12, 13].

С полученными данными была проведена статистическая обработка с применением параметрических и непараметрических методов. Различия между группами считались статистически значимыми при $P \leq 0,05$ [12].

Результаты и обсуждение. В процессе разработки впервые синтезированы новые клатратные комплексы 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином при масс. соотношении от 1:5 до 1:10. Новые клатратные комплексы представляют собой порошок со средним размером частиц 40,5 нм. Для дальнейших исследований был выбран клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином при масс. соотношении 1:5.

Проведенные исследования показали, что внутрижелудочное однократное введение крысам

Таблица

Результаты исследования токсичности при однократном внутрижелудочном введении крысам клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином

Дозы, мг/кг	Общее количество крыс	Количество павших животных	Клиника интоксикации
2000	5♂+5♀	0	повышенная двигательная и исследовательская активность - увеличилось количество вертикальных стоек и изученных отверстий в клетке.
4000	5♂+5♀	0	признаки умеренной возбудимости - биение хвостом, индивидуальный и взаимный груминг, приноживание
6000	5♂+5♀	0	повышенная двигательная и исследовательская активность - увеличилось количество вертикальных стоек и изученных отверстий в клетке, признаки умеренной возбудимости - биение хвостом, индивидуальный и взаимный груминг, приноживание
8000	5♂+5♀	0	умеренная угнетенность, заторможенность, скученность
12000	5♂+5♀	0	умеренная угнетенность, заторможенность, скученность, сниженная двигательная активность,
16000	5♂+5♀	0	умеренная угнетенность, связанное с введением больших объемов жидкостей, сниженная двигательная активность, заторможенность, скученность, затрудненное дыхание

фармацевтической субстанции 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-он в виде суспензий в 3% крахмальном геле в диапазоне испытанных доз от 2000 до 14000 мг/кг не вызывает гибели животных за 14-суточный период наблюдения. В первые 15-20 минут после ее введения отмечено повышение двигательной и исследовательской активности - увеличилось количество вертикальных стоек и изученных отверстий в клетке, наблюдались также признаки умеренной возбудимости - биение хвостом, индивидуальный и взаимный груминг, приноживание. Этот период затем сменялся угнетением, заторможенностью, скученностью. В течение последующих двух недель наблюдения не выявлено каких-либо отклонений в состоянии и поведении животных. Они активны, подвижны, хорошо поедают корм, шерсть гладкая, блестящая.

В таблице представлены результаты оценки острой токсичности клатратного комплекса 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином. Из данных таблицы следует, что внутрижелудочное однократное его введение в дозах 2000-16000 мг/кг массы тела не вызывало гибели животных. За период наблюдения не отмечено заметных изменений во внешнем виде, в поведении крыс, подвижность и поедание корма сохраняются на прежнем уровне. Клинические признаки интоксикации носили транзиторный характер. Введение в желудок крысам фармацевтической субстанции и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином в макси-

мальной из испытанных дозах 14000-16000 мг/кг наблюдалось умеренное угнетение животных, связанным с введением больших объемов жидкостей. При этом гибели крыс не было отмечено. Не обнаружено различий между самками и самцами в чувствительности к токсическому действию как фармацевтической субстанции, так ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином при их внутрижелудочном введении крысам.

В связи с отсутствием гибели животных при назначении высоких доз фармацевтической субстанции и ее клатратного комплекса с β -циклодекстрином и ограничениями по максимально допустимому объему введения жидкостей в желудок для крыс – 5,0-6,0 мл не было возможности установить их ЛД₅₀.

По результатам токсикометрии можно заключить, что оригинальный клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином, обладающий широким фармакологическим действием относится в соответствии с классификацией Hodge et al. к VI классу относительно безвредных лекарственных веществ, а согласно ГОСТу 32644-2014 к 5 классу токсичности.

Выводы:

На основе твердофазного метода синтеза впервые получен и изучен активный клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином, имеющий наноразмерную форму со средним размером частиц 40,5 нм.

По результатам исследований острой токсичности клатратный комплекс 3-(2-фенилэтил)-2-тиоксо-1,3-тиазолидин-4-она с β -циклодекстрином можно отнести к VI классу относительно без-

вредных лекарственных веществ по Hodge и к 5 классу токсичности, в соответствии с ГОСТ 32644-2014.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ravinder Singh Bhatti. Recent Pharmacological Developments on Rhodanines and 2,4-Thiazolidinediones // Ravinder Singh Bhatti, Sakshi Shah, Suresh, Pawan Krishan, Jagir S. Sandhu // *Int. J. Med. Chem.* 2013; 2013: 16 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/793260>.
2. Martinez A., Alonso M., Castro A., Dorronsoro L., Gelpi J. L., Luque F. J., Pérez C., Moreno F. J. SAR and 3D-QSAR Studies on Thiadiazolidinone Derivatives: Exploration of Structural Requirements for Glycogen Synthase Kinase 3 Inhibitors. *J Med Chem.* 2005; 48:7103-7112.
3. Martinez A., Alonso M., Castro A., Pérez C., Moreno F. J. First Non-ATP Competitive Glycogen Synthase Kinase 3 α (GSK-3 α) Inhibitors: Thiadiazolidinones (TDZD) as Potential Drugs for the Treatment of

Alzheimer's. *J Med Chem.* 2002; 45:1292-1299.
4. Земляной Р.А., Еримбетов К.Т., Бондаренко Е.В., Гончарова А.Я., Фрог Е.С. Создание клатратного комплекса β -циклодекстрина с производным роданина // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2018; 81:91.
5. Розиев Р.А., Гончарова А.Я., Еримбетов К.Т., Подгородниченко В.К., Хомиченко В.В., Новожилова Н.Е. Производное роданина и средство для профилактики опухолевых заболеваний // Патент на изобретение РФ № 2521390. 27.06.2014 Бюл. № 18.
6. Розиев Р.А., Гончарова А.Я., Еримбетов К.Т., Подгородниченко В.К., Хомиченко В.В. Средство, обладающее антипролиферативным и антимиастатическим действием, для

лечения опухолевых заболеваний // Патент на изобретение РФ № 2522449. 10.07.2014 Бюл. № 19.
7. Erimbetov K.T., Obvintseva O.V., Fedorova A.V., Zemlyanoy R.A., Solovieva A.G. Phenotypic regulation of animal skeletal muscle protein metabolism // *Ukrainian Journal of Ecology.* 2019; 9 (4):651-656.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под редакцией Миронов А.Н. - М.: Гриф и К, 2012 – 944 с.
9. Безопасность лекарств: от доклиники к клинике: монография. Под редакцией А.Л. Хохлова. Москва-Ярославль: ООО «Фотолайф», 2018, - 275 с.
10. ГОСТ-32644-2014 Методы испытания по воздействию химической продукции

на организм человека. Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности. 2015.
11. Hodge H.C., Gosselin R.E., Smith R.P., Gleason M.N. *Clinical Toxicology of Commercial Products // Acute Poisoning.* 4th ed., Williams & Wilkins, Baltimore. 1975; 427.
12. Жаворонков Л.П. Основы прикладной медико-биологической статистики. Методическое пособие. Обнинск: ФГБУ МРНЦ Минздрава России. 2012. - 60 с.
13. Проzorovskiy V.B. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований. Психофармакология и биологическая наркологию. 2007; 7 (3):2090-2120.

REFERENCES

1. Ravinder Singh Bhatti. Recent Pharmacological Developments on Rhodanines and 2,4-Thiazolidinediones // Ravinder Singh Bhatti, Sakshi Shah, Suresh, Pawan Krishan, Jagir S. Sandhu // *Int. J. Med. Chem.* 2013; 2013: 16 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/793260>.
2. Martinez A., Alonso M., Castro A., Dorronsoro L., Gelpi J. L., Luque F. J., Pérez C., Moreno F. J. SAR and 3D-QSAR Studies on Thiadiazolidinone Derivatives: Exploration of Structural Requirements for Glycogen Synthase Kinase 3 Inhibitors. *J Med Chem.* 2005; 48:7103-7112.
3. Martinez A., Alonso M., Castro A., Pérez C., Moreno F. J. First Non-ATP Competitive Glycogen Synthase Kinase 3 α (GSK-3 α)

Inhibitors: Thiadiazolidinones (TDZD) as Potential Drugs for the Treatment of Alzheimer's. *J Med Chem.* 2002; 45:1292-1299.
4. Zemlyanoy R.A., Erimbetov K.T., Bondarenko E.V., Goncharova A.Ya., Frog E.S. Development of a clathrate complex of β -cyclodextrin with a derivative of rhodanine // *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology.* 2018; 81: 91. (In Russian)
5. Roziev R.A. et al. A derivative of rhodanine and a means for the prevention of tumor diseases // *Patent RF, N 2521390; 2014.* (In Russian)
6. Roziev R.A. et al. An agent with antiproliferative and antimetastatic action for the treatment of tumor diseases //

Patent RF, N 2522449; 2014. (In Russian)
7. Erimbetov K.T., Obvintseva O.V., Fedorova A.V., Zemlyanoy R.A., Solovieva A.G. Phenotypic regulation of animal skeletal muscle protein metabolism // *Ukrainian Journal of Ecology.* 2019; 9 (4):651-656.
8. Guidelines for preclinical studies of drugs. Part one. Edited by A. Mironov - M.: Grif and K, 2012 - 944 p. (In Russian)
9. Drug safety: from preclinic to clinic: monograph. Edited by A.L. Khokhlova. Moscow-Yaroslavl: LLC Photolife, 2018, - 275 p. (In Russian)
10. GOST-32644-2014 Test methods for the effects of chemical products on the human body. Acute oral toxicity is a method for determining the class of acute toxicity.

2015. (In Russian)
11. Hodge H.C., Gosselin R.E., Smith R.P., Gleason M.N. *Clinical Toxicology of Commercial Products // Acute Poisoning.* 4th ed., Williams & Wilkins, Baltimore. 1975; 427.
12. Zhavoronkov L.P. *Fundamentals of applied biomedical statistics.* Toolkit. Obninsk: Federal State Budgetary Institution MRRС of the Ministry of Health and Social Development of Russia. 2012. - 60 p. (In Russian)
13. Prozorovsky V.B. *Statistical processing of pharmacological research results.* Psychopharmacology and biological narcology. 2007; 7 (3): 2090-2120. (In Russian)

K.T. Erimbetov^{1,2}, R.A. Zemlyanoy¹, E.K. Bondarenko², A.Ya. Goncharova²

TOXICITY UNDER A SINGLE INTRAGASTRIC ADMINISTRATION OF THE ACTIVE CLATHRATE COMPLEX OF β -CYCLODEXTRIN WITH 3-(2-PHENYLETHYL)-2-THIOXO-1,3-THIAZOLIDIN-4-ONE

¹All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition - a branch of the Federal Science Center of Animal Husbandry named after academician L.K. Ernst, 249013, Kaluga Region, Russian Federation

²Research Center «Park of Active Molecules», Obninsk, Kaluga region, Russian Federation

The clathrate complex of 3-(2-phenylethyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one with β -cyclodextrin in the form of a nanopowder with an average particle size of 40.5 nm, with a wide range of pharmacological properties, was developed for the first time. It belongs to class VI of relatively harmless drugs according to Hodge and to class 5 in accordance with GOST 32644-2014.

Keywords: rodanins, 3-(2-phenylethyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one, β -cyclodextrin, clathrate complexes, pharmaceutical substance, acute toxicity, nanoparticles.

Quote: K.T. Erimbetov, R.A. Zemlyanoy, E.K. Bondarenko, A.Ya. Goncharova. Toxicity under a single intragastric administration of the active clathrate complex of β -cyclodextrin with 3-(2-phenylethyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one. *Toxicological Review.* 2020; 6:59-62

Переработанный материал поступил в редакцию 04.07.2020 г.