

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ И АЛЛЕРГИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ НОВОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ ДИИНДОЛИЛМЕТАНА

В.М. Друх¹, кандидат медицинских наук,
М.А. Пальцев², доктор медицинских наук, академик РАН,
В.И. Киселев¹, доктор биологических наук, член-корреспондент РАМН,
И.Н. Кузнецов³, кандидат биологических наук,
Л.А. Ашрафян⁴, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАМН,
Е.Л. Муйжнек⁵, кандидат биологических наук,
О.И. Пчелинцева¹

¹Российский университет дружбы народов,

²Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»,

³«Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» МЗ РФ,

⁴Российский научный центр рентгенорадиологии МЗ РФ,

⁵Закрытое акционерное общество «МираксБиоФарма», Москва

E-mail: pchelintseva87@mail.ru

Проведено доклиническое экспериментальное изучение токсических и аллергизирующих свойств фармацевтической композиции дииндолилметана в различных дозировках. Установлено, что исследуемый препарат относится к V классу токсичности (практически нетоксичные лекарственные вещества) и не оказывает аллергизирующего действия.

Ключевые слова: : токсичность, доклинические исследования, дииндолилметан

THE STUDY OF TOXIC AND ALLERGENIC PROPERTIES OF THE NEW PHARMACEUTICAL COMPOSITION OF DIINDOLYLMETHANE

V.M. Druh¹, M.A. Paltcev², V.I. Kiselev¹, I.N. Kuznetsov³, L.A. Ashrafyan⁴, E.L. Muynjek⁵, O.I. Pchelintseva¹

¹Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation, ²National Research centre «Kurchatov Institute», Moscow, Russian Federation, ³Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, Moscow, Russian Federation, ⁴Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russian Federation, ⁵JSC «MiraxBiopharma», Moscow, Russian Federation

Preclinical experimental study of toxic and allergenic properties of new pharmaceutical composition of diindolylmethane was carried on in various doses. It was established that tested drug refers to toxicity class V (almost non-toxic pharmaceutical substance) and has no allergenic activity.

Key words: toxicity, preclinical study, diindolylmethane

ВВЕДЕНИЕ

Перед изучением возможности применения любого лекарственного средства (ЛС) у человека необходимо проведение тщательных доклинических испытаний. Основным разделом доклинического исследования ЛС является изучение его токсических эффектов на животных. Правилами надлежащей лабораторной практики и Хельсинкской декларацией оговариваются нормы для изучения токсичности нового ЛС либо субстанции. Чем тщательнее изучена токсичность на животных, тем меньше нежелательных реакций может возникнуть при клинических испытаниях [1].

В результате токсикологического изучения появляется информация о возможности дальнейшего использования исследуемого вещества, устанавливаются возможные побочные эффекты, диапазон доз и формулируются ограничения в применении нового ЛС.

С учетом постоянно возрастающей смертности населения от онкологических заболеваний перспективным направлением является поиск природных и синтетических противоопухолевых соединений, способных остановить развитие предраковых состояний.

В связи с этим была разработана новая фармацевтическая композиция с противоопухоле-

вым действием, в состав которой входит дииндолилметан. В условиях *in vitro* микромолярные концентрации дииндолилметана эффективно подавляли пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, а также их способность образовывать сосуды. *In vivo* введенный подкожно экспериментальным животным дииндолилметан (в дозе 5 мг/кг, ежедневно) на 74% подавлял патологический неопластический ангиогенез [3, 4]. Помимо антипролиферативного и антиангиогенного действия, дииндолилметан способен подавлять местные воспалительные реакции, которыми нередко сопровождаются гипер- и неопластические процессы в гормонально-зависимых органах и тканях, а также индуцировать апоптотические процессы клеток с опухолевыми свойствами.

В связи с высокой противоопухолевой активностью дииндолилметана разработка и изучение препаратов на его основе является одной из актуальных задач современной фармакологии.

Целью экспериментального исследования было изучение на грызунах общей и специфической токсичности, а также аллергизирующих свойств новой фармацевтической композиции. Данные исследования позволили выявить наиболее чувствительные к веществу ткани и оценить переносимость и безопасность применения изучаемой фармацевтической композиции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование острой токсичности проведено на 156 белых нелинейных мышах и крысах (самцы и самки в возрасте 3 мес), изучение субхронической токсичности — на 200 крысах, аллергизирующих свойств — на 36 морских свинок. До начала исследования животные были случайным образом распределены на группы в зависимости от принимаемой дозы препарата. Группы были однородными по отсутствию у животных внешних признаков заболеваний и массе тела ($\pm 20\%$).

Перед проведением исследований всех животных содержали на 30-дневном карантине, во время которого грызунов осматривали дважды в день. Животные, не соответствующие установленным критериям, были исключены из исследования в период карантина.

Исследуемая фармацевтическая композиция («Инфемин») состояла из активного вещества — 3,3 дииндолилметана и вспомогательных компонентов, обеспечивающих его биодоступность.

Всем лабораторным животным препарат вводили внутривенно через атравматичный металлический зонд. Точность дозирования достигалась изменением вводимого объема. Введение осуществляли медленно. Контрольные живот-

ные получали аналогичный объем растворителя — растительное масло.

Изучаемый диапазон доз в пересчете на дииндолилметан для исследования острой токсичности составил от 100 до 5000 мг/кг с последующим наблюдением в течение 14 сут. Для изучения субхронической токсичности препарат вводили ежедневно на протяжении 90 дней в 3 дозах: минимальной — 10 мг/кг; предполагаемой максимальной — 1000 мг/кг и промежуточной — 100 мг/кг в пересчете на дииндолилметан.

Для оценки возможного развития анафилактического шока (в индексах по Weigle) препарат вводили морским свинкам в дозах 10 мг/кг и 1000 мг/кг в пересчете на дииндолилметан в течение 5 дней. Через 14 дней после окончания введения препарата всем опытным и контрольным животным внутривенно была введена разрешающая доза препарата в виде водной эмульсии 100 мг/кг дииндолилметана.

Статистическую значимость различий между группами рассчитывали для количественных данных с помощью критерия Стьюдента, для бинарных данных — с применением критерия Фишера. Средние летальные дозы рассчитывали по В.Б. Прозоровскому [2]. Высокие дозы достигались повторными введениями препарата с интервалом 15 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После введения препарата группы, в которых исследовали острую токсичность, не различались по массе животных, количеству потребляемой воды и пищи. Животные опытной группы (получавшие препарат) по поведению и внешнему состоянию не отличались от контрольных. Половых различий в гибели животных при внутривенном введении дииндолилметана не зарегистрировано.

В ходе проведенных исследований установлено, что вводимый препарат ни в одной из групп не вызвал летальных исходов (табл. 1, 2). По данным вскрытия и макроскопического исследования, острое внутривенное введение фармацевтической композиции в изучаемых дозах мышам и крысам того и другого пола не вызывало макроскопических изменений внутренних

Таблица 1

ЛЕТАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРИ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ МЫШАМ

| Пол | Доза в пересчете на активный компонент, мг/кг | | | |
|-------|---|-----|-----|------|
| | 100 | 300 | 500 | 1000 |
| Самцы | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 |
| Самки | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 |

Таблица 2

ЛЕТАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРИ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ КРЫСАМ

| Пол | Доза в пересчете на активный компонент, мг/кг | | | | | | |
|-------|---|-----|-----|------|------|------|------|
| | 100 | 300 | 500 | 1000 | 1500 | 3000 | 5000 |
| Самцы | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 |
| Самки | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 |

Примечание. В числителе – летальный исход, в знаменателе – всего животных (здесь и в табл. 2).

Таблица 3

ВЛИЯНИЕ ДИИНДОЛИЛМЕТАНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ
У БЕЛЫХ КРЫС ЧЕРЕЗ 90 ДНЕЙ (M±M)

| Показатель | Основная группа | Контрольная группа | Доза дииндолилметана | | |
|-----------------------------------|-----------------|--------------------|------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | | минимальная (10 мг/кг) | максимальная (1000 мг/кг) | промежуточная (100 мг/кг) |
| Гемоглобин, г/л | 142±3 | 138±3 | 139±1 | 145±4 | 141±5 |
| Гематокрит | 0,43±0,2 | 0,43±0,2 | 0,41±0,14 | 0,43±0,15 | 0,39±0,24 |
| Эритроциты, • 10 ¹² /л | 7,6±0,6 | 7,5±0,4 | 7,9±0,2 | 7,7±0,5 | 6,6±0,4 |
| Цветовой показатель, пг | 19,1±0,5 | 20,5±0,5 | 20,3±0,4 | 21,3±0,7 | 19,2±0,2 |
| Объем эритроцитов, фл | 58,4±0,4 | 56,2±0,4 | 57,3±0,5 | 58,4±0,3 | 59,8±0,5 |
| СОЭ, мм/ч | 4,5±0,5 | 4,7±0,4 | 4,2±0,4 | 4,5±0,5 | 4,5±0,4 |
| Тромбоциты, • 10 ⁹ /л | 625±25 | 635±20 | 659±20 | 606±23 | 649±26 |
| Лейкоциты, • 10 ⁹ /л | 20,2±1,2 | 19,9±1,0 | 19,2±1,3 | 18,3±1,0 | 19,0±1,6 |
| Палочкоядерные нейтрофилы, % | 0,4±0,1 | 0,4±0,1 | 0,4±0,09 | 0,4±0,08 | 0,4±0,09 |
| Сегментоядерные нейтрофилы, % | 12,7±1,1 | 12,2±1,1 | 11,9±1,0 | 12,9±1,3 | 13,7±1,1 |
| Базофилы, % | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Эозинофилы, % | 2,3±0,3 | 2,1±0,5 | 2,2±0,3 | 2,3±0,2 | 2,2±0,2 |
| Моноциты, % | 2,4±0,3 | 2,1±0,5 | 2,8±0,2 | 2,4±0,2 | 2,7±0,3 |
| Лимфоциты, % | 77±1,0 | 77±0,5 | 76±0,4 | 76±1,0 | 63±3 |
| Плазматические клетки, % | 0,3±0,09 | 0 | 0 | 0,2±0,09 | 0,2±0,09 |
| Продолжительность свертывания, с | 48,7±2,7 | 46,0±2,8 | 46,9±2,1 | 45,6±2,7 | 46,1±3,0 |

и эндокринных органов, головного мозга, а также слизистой оболочке желудка и кишечника.

Проведенные исследования показали, что изучаемая фармацевтическая композиция при остром введении экспериментальным животным практически не оказывала токсического действия.

Результаты токсикометрии, данные наблюдений за экспериментальными животными на протяжении 14 дней после острого введения позволяют отнести изучаемую фармацевтическую композицию к V классу: практически нетоксичные ЛС.

С учетом невысокой токсичности препарата, показанной в остром эксперименте, для оценки

субхронической токсичности был установлен срок наблюдения 90 дней. Выбор регистрируемых показателей определялся требованиями нормативных документов для государственной регистрации новых фармацевтических веществ.

В результате экспериментального внутрижелудочного введения фармацевтической композиции грызунам не отмечено ее негативного влияния на биохимические параметры крови, что свидетельствует об относительной безвредности препарата (табл. 3).

Для изучения алергизирующих свойств фармацевтической композиции была оценена возможность развития анафилактического

шока после внутривенного введения композиции морским свинкам обоего пола. У всех животных, получавших препарат в изучаемых дозах, не выявлено признаков даже умеренного шока.

ВЫВОДЫ

1. В ходе эксперимента установлено, что изучаемая фармацевтическая композиция на основе дииндолилметана («Инфемин») относится к V классу токсичности (практически нетоксичные лекарственные вещества).

2. В ходе изучения острой токсичности гендерных различий в группах не обнаружено.

3. Исследование субхронической токсичности также показало хорошую переносимость изучаемого препарата.

4. Препарат не обладает аллергизирующими свойствами.

Полученные в ходе исследования результаты позволяют признать перспективной дальнейшую разработку препарата с последующим проведением доклинических исследований фармацевтической активности.

Научно-исследовательские и опытно-конструкторские работы выполняются в ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» в рамках исполнения комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства «Производство лекарственных средств на основе биотехнологий для лечения социально-значимых заболеваний», финансируемого Министерством образования и науки Российской Федерации в соответствии с постановлением Правительства РФ №218.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. – М., 2008.
2. Прозоровский В.Б. // Фармакология и токсикология. – 1978; 4: 497–502.
3. Chang X., Tou J., Hong C. et al. 3,3'-Diindolylmethane inhibits angiogenesis and the growth of transplantable human breast carcinoma in athymic mice // *Carcinogenesis*. – 2005; 264 (4): 771–8.
4. McCarty M.F., Block K.I. Multifocal angiostatic therapy: an update // *Integrative Cancer Therapies*. – 2005; 4 (4): 301–14.