

Исследование хронической токсичности и противовоспалительных свойств препарата Дилепт

Алексеева С.В., Сорокина А.В., Мирошкина И.А., Кузнецова О.С., Коваленко Л.П., Дурнев А.Д.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Резюме. Проведено изучение хронической токсичности препарата Дилепт при ежедневном пероральном введении в течение 6 месяцев в дозах 16 мг/кг и 160 мг/кг самцам и самкам крыс и кроликов. Развёрнутое клинико-лабораторное исследование не выявило токсических эффектов препарата за исключением обратимых дистрофических явлений в почках, печени, сердце, обратимого увеличения содержания креатинина в моче и дегенеративных форм эритроцитов у крыс, получавших препарат в дозе 160 мг/кг. Оценка противовоспалительных свойств Дилепта в реакции воспаления на конканавалин А показала, что Дилепт в дозах 0,1 и 10 мг/кг при в/б введении мышам проявляет выраженную противовоспалительную активность. У Дилепта не выявлено аллергизирующих свойств.

Ключевые слова: Дилепт, хроническая токсичность, реакция воспаления на конканавалин А, мыши, крысы, кролики

Experimental study of chronic toxicity and anti-inflammatory properties of the drug Dilept

Alekseeva S.V., Sorokina A.V., Miroshkina I.A., Kuznestova O.S., Kovalenko L.P., Durnev A.D.
FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Abstract. The purpose of this study is to evaluate the chronic toxicity of the drug dilept upon a daily orally administration for 6 months at doses of 16 and 160 mg/kg. Detailed clinical and laboratory examinations did not reveal any chronic toxic effect in animals except for reversible dystrophic changes in heart, kidneys, liver, reversible high level of creatinine in urine and degenerative forms of red blood cells in rats treated with drug at dose 160 mg/kg. Evaluation of anti-inflammatory properties of dilept in the inflammatory reaction induced by concanavalin A showed that at doses of 0,1 and 10 mg/kg i.p. in mice led to a significant suppression of the inflammatory response. Study showed that dilept has no allergenic properties.

Keywords: Dilept, chronic toxicity, acute exudative inflammation by concanavalin A, mice, rat, rabbit

Автор, ответственный за переписку:

Алексеева Светлана Витальевна – ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8;
e-mail: alexeeva.sv@mail.ru

Введение

Дилепт, метиловый эфир N-капроил-L-пролил-L-тирозина — оригинальный дипептидный атипичный нейрелептик, разработанный в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». В основе химической структуры лежит аминокислотная последовательность Pro-Туг, фрагмент нейротензина — эндогенного тридекапептида, играющего важную роль в патогенезе шизофрении [1].

Дилепт обладает антипсихотической активностью, а также проявляет положительный мнемотропный эффект, что позволяет прогнозировать его эффективность не только в отношении негативной симптоматики шизофрении, а также при купировании психотических расстройств при болезни Альцгеймера [2].

Необходимым этапом разработки Дилепта явилась доклиническая оценка его безопасности.

Цель исследования

Оценка хронической токсичности Дилепта, а также его аллергизирующих и противовоспалительных свойств.

Материалы и методы

Хроническую токсичность Дилепта оценивали на самцах и самках беспородных белых крыс массой 180–200 г и кроликах породы шиншилла массой 1,5–2 кг.

Аллергизирующие свойства Дилепта исследованы в экспериментах на морских свинках альбиносах массой 250–300 г, противовоспалительные эффекты на мышах СВА массой 18–20 г.

Все животные были получены из сертифицированных питомников и содержались в условиях вивария ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» при свободном доступе к воде и корму.

При оценке хронической токсичности препарат в виде суспензии на 1% крахмале вводили крысам

и кроликам перорально 1 раз в сутки в течение шести месяцев в дозе, соответствующей терапевтической — 16 мг/кг и превышающей её в десять раз — 160 мг/кг. При оценке аллергенности препарат использовали в тех же дозах по стандартным схемам иммунизации, в экспериментах по выявлению противовоспалительной активности Дилепт вводили в/б дозах 0,1 и 10 мг/кг.

Объём и продолжительность исследования, набор использованных методов, регистрируемых параметров и другие условия проведения исследования регламентировались соответствующим Руководством [3]. В экспериментах использовали современное лабораторное оборудование, прошедшее соответствующую поверку; электрокардиограф ЭК 1Т-03М, гемоанализатор (Лаборскель), установка «Открытое поле». Биохимический анализатор Stat Fax, анализатор мочи Clinitek Status, компьютеризированная система микроскопии МЕКОС-Ц1 и др.

Все анализы выполнялись до начала эксперимента, через 3 и 6 месяцев, не позже 24 ч после последнего введения препарата, за исключением «отставленной» группы, в которой измерения выполняли через 30 дней после последнего введения препарата.

Всех животных опытных и контрольных групп подвергали патологоанатомическому вскрытию с последующей оценкой микроскопической картины важнейших внутренних органов.

Изучение аллергизирующих и противовоспалительных свойств Дилепта проводили согласно методическим рекомендациям [4].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы Statistica 10.

Результаты выражали в виде средней арифметической и её средней ошибки, проверку данных на нормальность распределения выборок определяли по критерию Шапиро–Уилка, статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью непарного *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В результате проведённого исследования установлено, что 6-месячное введение Дилепта крысам и кроликам обоего пола в дозах 16 и 160 мг/кг перорально не вызывает выраженных изменений массы тела, общего состояния и поведенческих реакций животных в тесте «открытое поле». Дилепт не влияет на биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных животных и физико-химические свойства мочи у крыс, за исключением увеличения содержания креатинина в моче, которое имеет обратимый характер. Дилепт в использованных дозах не вызывает выраженных изменений показателей ЭКГ. В ходе эксперимента не установлено влияния препарата на ритм, глубину и частоту дыхания у исследованных животных.

Дилепт не оказывает повреждающего действия на систему крови, за исключением появления дегенеративных форм эритроцитов у крыс, получавших препарат в дозе 160 мг/кг. Так, в крови самцов и самок отмечалось уменьшение количества дискоидных нормоцитов и появление пойкилоцитных форм (рис. 1), у самцов число анизохромных эритроцитов было значимо выше контрольного показателя (рис. 2). Однако

Таблица 1

Морфометрические показатели эритроцитов крыс, получавших препарат Дилепт в дозах 16 мг/кг и 160 мг/кг в течение 6 мес. по сравнению с контролем

Показатели	Крысы самки <i>n</i> = 6				Крысы самцы <i>n</i> = 6			
	контроль	16 мг/кг	160 мг/кг	160 мг/кг «отстав. гр.»	контроль	16 мг/кг	160 мг/кг	160 мг/кг «отстав. гр.»
Морфология клеток								
Дискоциты%	99,6 (98,8÷99,7)	99,5 (99,4÷99,8)	89,5* (88,8÷89,8)	99,20* (97,6÷99,6)	99,7 (99,2÷99,8)	99,5 (99,4÷99,8)	89,2* (86,8÷89,8)	99,65* (99,35÷99,70)
Пойкилоциты%	0,4 (0,3÷0,5)	0,5 (0,2÷0,6)	10,5* (4,2÷14,3)	0,80* (0,25÷2,45)	0,3 (0,2÷0,8)	0,9 (0,5÷1,0)	10,8 (3,2÷15,2)	0,35* (0,30÷1,50)
Анизоцитоз%	6,0 (6,0÷7,0)	6,0 (6,0÷7,0)	11,0* (6,0÷15,0)	5,0 (5,0÷6,5)	7,0 (7,0÷8,0)	7,0 (7,0÷8,0)	12,0 (9,0÷14,0)	8,5 (8,0÷10,0)
Анизохромия%	16,0 (15,0÷18,0)	16,0 (15,0÷17,0)	17,5 (15,5÷23,5)	13,0 (13,0÷16,0)	16,0 (15,0÷21,0)	18,5 (16,0÷24,0)	27,0* (22,0÷33,0)	18,0* (15,0÷20,0)
Политохроматофи%	2,0 (2,0÷3,0)	2,0 (1,0÷3,0)	4,5 (2,5÷6,0)	2,0 (1,5÷3,0)	3,0 (3,0÷5,0)	2,5 (2,0÷4,0)	3,0 (0,0÷7,0)	1,5 (1,0÷2,0)
Эритроцитометрия								
Диаметр эритроц. мкм	6,50 (6,34÷6,69)	6,39 (6,25÷6,45)	6,44 (6,37÷6,54)	6,28* (6,13÷6,40)	6,27 (6,19÷6,51)	6,35 (6,20÷6,61)	6,52 (6,41÷6,63)	6,36 (6,25÷6,49)
Кэф.овалоцитоза	0,95 (0,93÷0,95)	0,95 (0,95÷0,96)	0,95 (0,95÷0,96)	0,95 (0,94÷0,96)	0,95 (0,94÷0,96)	0,96 (0,94÷0,96)	0,97 (0,95÷0,98)	0,94 (0,93÷0,95)
<p>Примечание: данные представлены в виде медиан групп и 25% и 75% квартилей; * — различие с контролем достоверно с уровнем значимости $p < 0,05$ (обработка проведена с использованием критерия Манна-Уитни). * — статистически значимые различия ($p < 0,05$) между 3 и 4 группами.</p>								

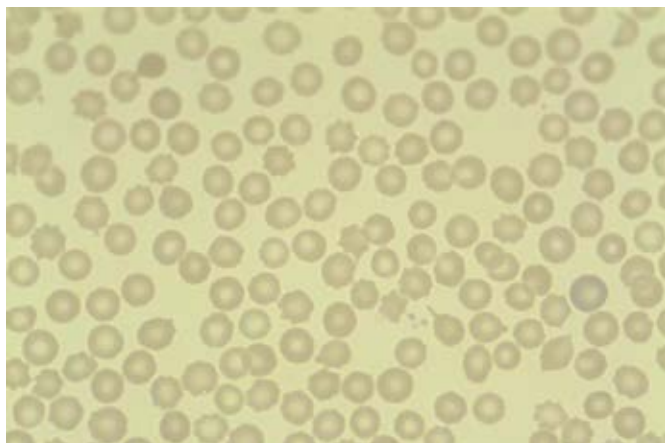


Рис. 1. Пойкилоцитные эритроциты в периферической крови самки № 28, через 6 мес. введения препарата Дилепт в дозе 160 мг/кг. Окраска по Романовскому. Увеличение 100×10

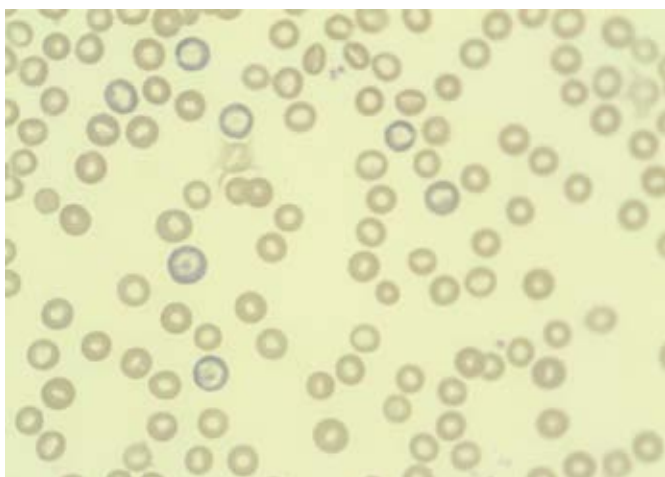


Рис. 2. Анизохромия в периферической крови самца № 33, через 6 мес. введения препарата Дилепт в дозе 160 мг/кг. Окраска по Романовскому. Увеличение 100×10

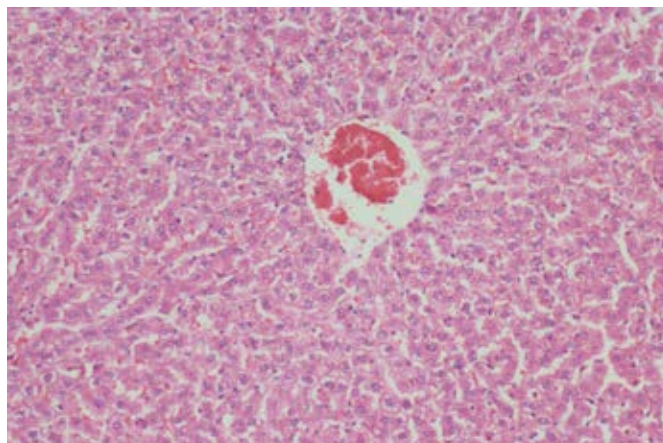


Рис. 3. Печень крысы № 26, которой перорально вводили Дилепт в дозе 160 мг/кг. Увеличение 10×10

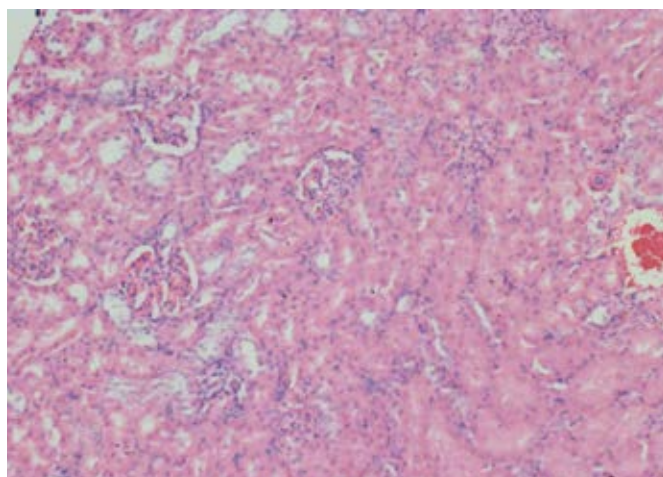


Рис. 4. Почка крысы № 26, которой перорально вводили Дилепт в дозе 160 мг/кг. Увеличение 10×10

выявленные изменения были обратимы и не наблюдались у крыс «отставленной» группы, исследованных через месяц после отмены препарата (табл. 1).

Описанные данные согласуются с результатами гистологических исследований селезёнки, где обнаружено значительное увеличение содержания гемосидерина, пигмента, образующегося при ускоренном распаде эритроцитов и выбросе гемоглобина.

Кроме того, после шестимесячного введения препарата в дозе 160 мг/кг отмечены дистрофические процессы различной степени выраженности в печени (рис. 3), почках (рис. 4) и сердце, однако, как показали исследования животных «отставленной» группы эти изменения носят обратимый характер.

При изучении аллергизирующих свойств Дилепта было установлено, что его введение в дозах 16 и 160 мг/кг не приводило к усилению реакции общей анафилаксии у животных опытных групп на белок куриного яйца (БКЯ). При иммунизации морских

свинок Дилептом в дозах 16 и 160 мг/кг в смеси с полным адьювантом Фрейнда аллергических реакций не обнаружено. Однократное введение Дилепта в дозе 16 мг/кг не оказывало значимого влияния на реакцию воспаления на конканавалин А (Кон А). Однократное пероральное введение препарата в дозе 160 мг/кг вызывало выраженное подавление реакции воспаления на Кон А на 42,9%.

Таким образом, Дилепт при введении в дозах 16 мг/кг и 160 мг/кг не вызывает аллергических реакций немедленного и замедленного типа и псевдоаллергических реакций и оказывает противовоспалительное действие при пероральном введении в дозе 160 мг/кг.

Известно, что при хронизации воспалительного процесса возникает усиление синтеза провоспалительных цитокинов, нарушение баланса Th1 и Th2 хелперов, что приводит к выраженным неврологическим нарушениям и онкологическим заболеваниям. В последние годы накопилось достаточное количество

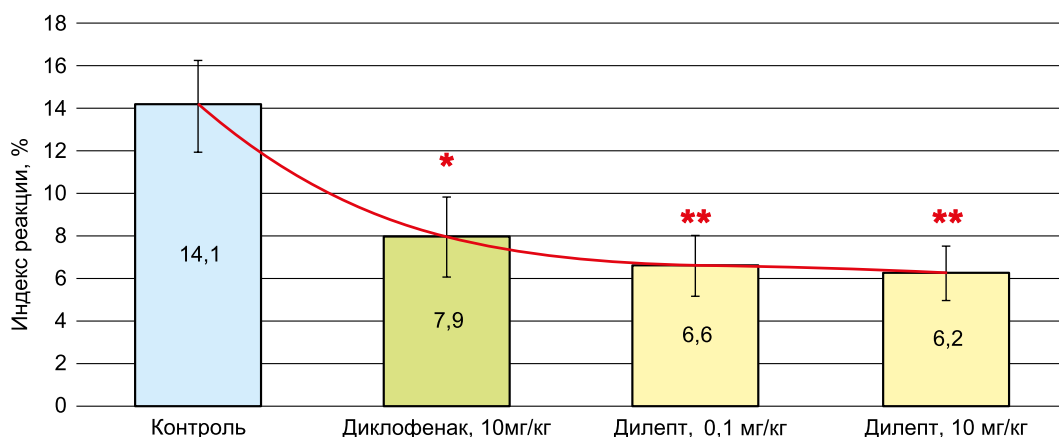


Рис. 5. Противовоспалительные свойства Дилепта и Диклофенака в реакции воспаления на канавалин А.

Примечание: $n = 10$ — количество животных в группе; * — $p < 0,05$ достоверность различий по сравнению с контрольной группой по непарному t -критерию Стьюдента; ** — $p < 0,01$ достоверность различий по сравнению с контрольной группой по непарному t -критерию Стьюдента

данных, свидетельствующих о вовлеченности воспалительных реакций в патогенез психических и нейродегенеративных заболеваний, в частности повышение содержания провоспалительного ИЛ-6 у пациентов с болезнью Альцгеймера и Паркинсона может служить молекулярным диагностическим маркером этих заболеваний [7, 8]. Участие воспаления в патогенезе и симптомообразовании болезни Альцгеймера и Паркинсона, предполагает необходимость исследования потенциальных терапевтических возможностей противовоспалительных препаратов при этих заболеваниях. В связи с этим, для нейролептиков актуально наличие сопряженной противовоспалительной активности.

При изучении противовоспалительной активности в реакции воспаления на Кон А препарата Дилепт, который вводили в/б однократно в дозах 0,1 мг/кг и 10 мг/кг, и препарат сравнения Диклофенак, который вводили в/б в дозе 10 мг/кг, было установлено, что

Дилепт обладает выраженной противовоспалительной активностью по сравнению с препаратом сравнения Диклофенак (рис. 5).

Таким образом, 6-месячное изучение хронической токсичности препарата Дилепт при пероральном введении в дозах 16 и 160 мг/кг в не выявило токсических эффектов препарата за исключением дистрофических явлений в почках, печени и сердце и появления дегенеративных форм эритроцитов и увеличения содержания креатинина в моче у крыс, получавших препарат в дозе 160 мг/кг. Указанные изменения имели обратимый характер. При введении препарата в дозах 16 мг/кг и 160 мг/кг не обнаружено аллергических реакций немедленного и замедленного типа и псевдоаллергических реакций. Дилепт в малых дозах при в/б введении обладает выраженной противовоспалительной активностью, что, возможно, является составляющей его комплексного нейротропного действия.

Литература

1. Грушевская Л.Н., Гусев М.В., Бlynская Е.В. и др. Разработка состава, технологии изготовления и стандартизации твердой дозированной лекарственной формы нового атипичного нейролептика. Дилепта. Вестн. Моск. Ун-та. Серия 2. Химия, 2013; 54: 5: 288–294.
2. Шубенина Е.В., Островская Р.У., Кудрин В.С. и др. Экспериментальное изучение влияния дипептидного аналога нейротензина Дилепта на дофаминергические системы прилежащего ядра головного мозга. Казанский медицинский журнал. 2011; 92: 3: 408–411.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. М.: 2005; 41–54.
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Методические рекомендации по оценке аллергизирующих свойств лекарственных средств. М.: 2012; 51–63.
5. Хлопушина Т.Г., Кринская А.В., Коваленко Л.П. и др. — Влияние хлоридов на фармакокинетику антипирина у интактных и сенситизированных морских свинок. Бюл. exper. биол. 1991; 7: 67–69.
6. Kimber I., Kerkvliet N.I., Taylor S.L. et al. — Toxicology of protein allergenicity: prediction and characterization. Toxicol. Sci. 1999; 48: 157–162.
7. Андросова Л.В., Михайлова Н.М., Зозуля С.А. и др. Маркеры воспаления при шизофрении позднего возраста. Журнал неврологии и психиатрии. 2014; 12: 60–64.
8. Торган Т.И. Воспалительные механизмы синдрома усталости при болезни Паркинсона. Автореферат канд дисс. мед. наук, Пермь, 2013.



- Независимая научная организация в области изучения экономики программ здравоохранения
- Более 200 исследований в области оценки медицинских технологий
- Опубликовано около 210 научных работ в рецензируемых медицинских журналах
- Партнёры – 40 ведущих зарубежных и российских фармацевтических компаний

Основные направления научной деятельности

- разработка научно-методических основ фармакоэкономических, фармакоэпидемиологических исследований и оценки качества жизни
- развитие методологии проведения оценки медицинских технологий

ПОЛНЫЙ СПЕКТР УСЛУГ ПО ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ

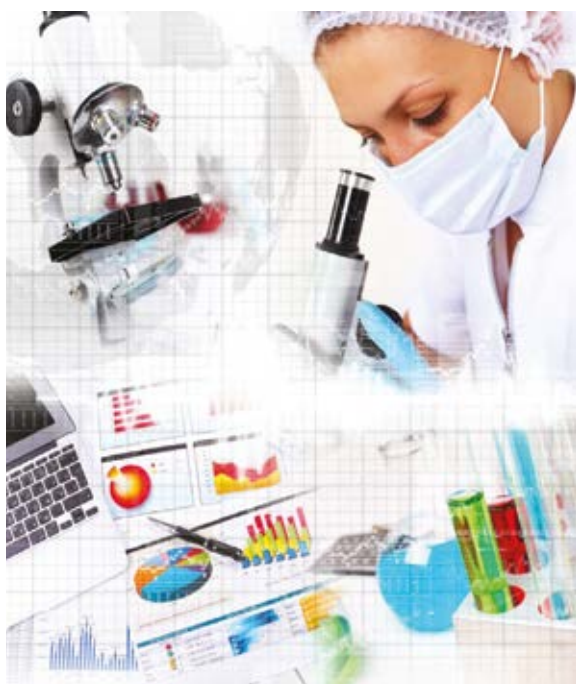
- фармакоэкономические исследования
- фармакоэпидемиологические исследования
- наблюдательные неинтервенционные исследования
- непрямые сравнительные исследования
- оценка технологий здравоохранения
- оценка качества жизни, связанного со здоровьем
- систематический литературный обзор и мета-анализ
- разработка математических моделей и локальная адаптация
- анализ больших баз данных
- создание мобильных приложений и интерактивных онлайн-презентаций
- формирование доказательной базы
- экспертиза и разработка клинико-экономического досье
- образовательные услуги
- информационно-консультационные услуги



Награждён в 2013 и 2014 гг. Всероссийской социальной премией в области организации здравоохранения, фармакоэкономики и рациональной фармакотерапии «Da.Signa»



Маркет Аксес Солюшенс — это комплекс услуг по продвижению лекарственных средств, медицинского оборудования и медицинских технологий



Миссия:

Выявляя и продвигая новые медицинские технологии, повышать качество оказания медицинской помощи и эффективность системы здравоохранения

Фокус:

- Формирование уникального восприятия ценности продукта
- Позиционирование продукта на рынке
- Определение целевых областей применения
- Эффективное взаимодействие PR

Наши услуги:

- Анализ рынка и системы здравоохранения
- Маркетинговые исследования
- Разработка стратегии
- Регуляторные задачи
- Клинические исследования
- Оценка медицинских технологий
- Определение ценовой политики и целевого финансирования
- Построение эффективных бизнес-процессов для фармацевтических компаний



Мы всегда рады сотрудничеству:

☎ +7 (910) 400-88-87

✉ info@marketaccess.ru

🌐 www.Market-Access-Solutions.ru



Издательство ОКИ

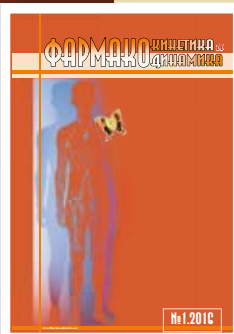
ООО «Издательство ОКИ» выпускает 4 периодических научных специализированных медико-фармацевтических журналов, предназначенных для врачей, провизоров, фармацевтов, специалистов НИИ, преподавателей и студентов медицинских и фармацевтических ВУЗов, организаторов здравоохранения, клинических исследователей, фармакологов, сотрудников фармацевтических компаний, служащих регулирующих органов, членов Комитетов по Этике.

Сайт издательства: www.izdat-oki.ru



Журнал «**Качественная клиническая практика**» публикует материалы по планированию и проведению клинических исследований лекарственных средств, фармакоэкономике, фармакоэпидемиологии, биомедицинской этике, фармаконадзору, которые используются в преподавательской работе во многих медицинских ВУЗах.

Сайт журнала: www.clinvest.ru



Журнал «**Фармакокинетика и Фармакодинамика**» освещает фундаментальные и прикладные аспекты доклинических и клинических исследований фармакокинетики, в частности терапевтического лекарственного мониторинга, фармакодинамического и биофармацевтического изучения препаратов, их взаимодействия, оценки их биодоступности и биоэквивалентности.

Сайт журнала: www.pharmacokinetica.ru



Журнал «**Фармакогенетика и фармакогеномика**» публикует оригинальные статьи о проведённых клинических, клинико-экспериментальных и фундаментальных научных работах, обзоры, лекции, описания клинических случаев, а также вспомогательные материалы по всем актуальным проблемам персонализированной медицины

Сайт журнала: www.pharmacogenetics-pharmacogenomics.ru



Журнал «**Антибиотики и химиотерапия**» освещает проблемы поиска и получения новых антибиотиков, ферментов, биологически активных веществ, а также вопросы экспериментальной химиотерапии бактериальных и вирусных инфекций.

Сайт журнала: www.antibiotics-chemotherapy.ru

Тел.: +7 (910) 449-22-73;
e-mail: clinvest@mail.ru

