

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Рекомендована д.м.н., професором С.М.Дроговоз

УДК 616.36-002:547.455.623'233.1]001.89

ВИВЧЕННЯ АНТИЦИТОЛІТИЧНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ ПРИ ГОСТРОМУ УРАЖЕННІ ПЕЧІНКИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

С.В.Місюрьова, І.А.Зупанець, С.Г.Ісаєв, О.І.Павлій

Національна фармацевтична академія України

На моделі гострої жирової дистрофії печінки вивчена антицитолітична та антиоксидантна активність 2-D-(+)-глюкозиламонійних солей етилових ефірів R-N-оксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти (10 сполук). Установлено, що Br-заміщені 2-D-(+)-глюкозиламонійні солі етилових ефірів R-N-оксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти проявляють виражену антицитолітичну та незначну антиоксидантну дію. Введення нітрогрупи до структури досліджуваних сполук приводить до достовірного підвищення антиоксидантного ефекту, але й до одночасної втрати антицитолітичної активності. Проведені дослідження показали, що вивчена група 2-D-(+)-глюкозиламонійних солей етилових ефірів R-N-оксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти є перспективною в плані подальшого пошуку серед них сполук з антиоксидантною і мембраностабілізуючою дією. Глюкозаміну гідрохлорид і глюкозиламонійна сіль етилового ефіру 4-карбетоксиоксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти є перспективними сполуками щодо створення на їхній основі гепатопротекторних засобів.

В основі токсичної дії хімічних речовин на живі системи лежить їхня здатність порушувати біохімічні процеси, що складають основу життєдіяльності: синтез білка, дихання, окисне фосфорилування, метаболізм ксенобіотиків [5, 9]. Шляхом впливу на ці процеси можна деякою мірою запобігати порушень клітинного гомеостазу, тобто чинити протекторну дію. Загальним у дії протекторів є їхня здатність стабілізувати мембрани, що, у свою чергу, залежить від двох процесів: зменшення руйнування мембран (у першу чергу, продуктами перекисного окислення ліпідів) і відновлення їхньої цілісності і функціональної активності [9, 15].

Численні літературні дані свідчать, що глюкозамін має широкий спектр фармакологічної актив-

ності: протизапальної, анальгезуючої, антигіпоксичної, дезінтоксикаційної та ін. [4, 7, 8, 16, 17]. У результаті раніше проведених досліджень також установлено, що похідні оксамінових кислот і глюкозаміну проявляють протизапальну, анальгезуючу, антигіпоксичну, антиалергічну і протишокову дію [1, 2, 3, 6, 12].

Приймаючи до уваги дані про механізми патологічних процесів у печінці та отримані за останні роки дані щодо високої фармакологічної активності аміноцукру глюкозаміну, ми вивчили гепатопротекторні властивості як самого аміноцукру, так і його похідних.

Похідні глюкозаміну в цьому дослідженні представлені 2-D-(+)-глюкозиламонійними солями етилових ефірів R-N-оксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти (10 сполук). Ці речовини були синтезовані професором О.І.Павлієм і доцентом С.Г.Ісаєвим на кафедрах фармакогнозії та фармацевтичної хімії Національної фармацевтичної академії України.

Метою нашого дослідження стало вивчення антицитолітичної та антиоксидантної активності глюкозаміну гідрохлориду та його похідних на моделі токсичного ураження печінки тетрахлорметаном.

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були обрані:

— глюкозаміну гідрохлорид — субстанція фірми "Sigma" (США), яка представляє кристалічну, легко розчинну у воді речовину (див. схему 1).

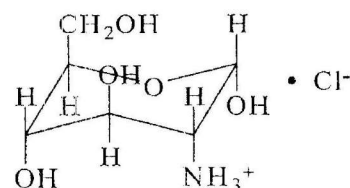


Схема 1

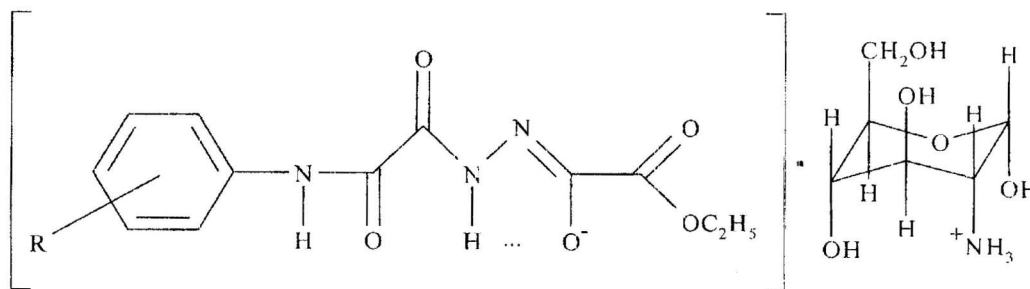


Схема 2

— 2-D-(+)-глюкозиламонійні солі етилових ефірів R-N-оксанілоїлгідрозиду щавлевої кислоти під шифрами 1.1. — 1.10. (таблиця) із загальною формулою, представленою на схемі 2.

Сполуки цієї групи являють собою кристалічні речовини важко розчинні у воді, погано розчинні в спирті, але добре розчинні в диметилформаміді.

Вивчення антицитолітичної та антиоксидантної активності глюкозаміну гідрохлориду та його похідних проводили на моделі гострої жирової дистрофії печінки у 212 білих мишей масою 17-23 г. Патологію викликали однократним введенням 50% масляного розчину тетрахлорметану внутрішньошлунково з розрахунку 10 мл/кг маси тіла тварини [5].

Глюкозаміну гідрохлорид вводили в дозі 50 мг/кг (DE₅₀ за протизапальним ефектом), а 2-D-(+)-глюкозиламонійні солі R-N-оксанілоїлгідрозиду щавле-

вої кислоти — в дозі 25 мг/кг (ефективна доза силібору) внутрішньошлунково у вигляді тонко диспергованих суспензій у 0,1% твіну 80 за 1 годину до введення гепатотоксину [5]. Препаратами порівняння служили силібор, який вводився в DE₃₀ за мембранозахисною активністю (25 мг/кг), і вітамін Е, що вводився в DE₅₀ за антиоксидантною активністю (50 мг/кг). Силібор і вітамін Е вводили в тій же динаміці, що і досліджувані сполуки.

Завдяки тому, що максимальна виразність патологічних процесів у гепатоцитах при інтоксикації чотирихлористим вуглецем спостерігається через 18-24 години [5], тварин забивали наступного дня і проводили забір крові й органів для біохімічних досліджень. Гепатопротекторну активність досліджуваних сполук оцінювали за зниженням маркерного ферменту цитолізу аланін-

Таблиця

Антицитолітична, антиоксидантна активність та гостра токсичність 2-D-(+)-глюкозиламонійних солей етилових ефірів R-N-оксанілоїлгідрозиду щавлевої кислоти та глюкозаміну гідрохлориду при токсичному ураженні печінки тетрахлорметаном (n=6)

Шифр сполучення	R	Вживання, %	АлАТ, ммоль/(ч · л)	Антицитолітична активність, %	МДА, мкмоль/г ткани	Антиоксидантна активність, %	DL ₅₀ , мг/кг
Інтактні тварини	-	100	2,05±0,01	-	80,4±2,4	-	-
Патологія (CCl ₄)	-	50	3,82±0,08	-	166,2±4,6*	-	-
1.1	H	67	3,73±0,04	5,1	163,8±6,5*	2,8	3700 (3060÷4340)
1.2	2-Br	83	3,20±0,04*	35,0	148,9±1,6*	20,0	3850 (3120÷4570)
1.3	3-Br	67	3,32±0,05*	28,3	154,7±2,0*	13,3	2300 (1660÷2950)
1.4	4-Br	83	3,17±0,06*	36,7	146,3±2,3*	23,0	3430 (2780÷4070)
1.5	2-NO ₂	67	3,53±0,07	16,4	133,1±3,2**	38,1	2940 (2420÷3460)
1.6	3-NO ₂	83	3,33±0,07*	27,7	130,5±2,9**	41,2	3430 (2780÷4070)
1.7	4-NO ₂	67	3,74±0,05	4,5	112,9±5,5**	61,5	3060 (2480÷3630)
1.8	2,4-NO ₂	67	3,70±0,10	6,8	115,9±1,6**	58,0	2720 (2200÷3240)
1.9	2-NO ₂ 4-CH ₃	83	3,73±0,08	5,1	119,2±2,4**	54,1	2940 (2420÷3460)
1.10	4-COOC ₂ H ₅	83	3,21±0,05*	34,5	121,6±3,2**	51,4	3850 (3120÷4570)
Глюкозаміну гідрохлорид	-	100	3,45±0,07*	20,9	112,0±4,4**	62,5	>10 000
Силібор	-	83	3,16±0,02*	37,3	148,3±2,4*	20,7	6380 (5540÷7210)
Вітамін Е	-	100	3,34±0,04*	27,1	116,4±2,3**	57,4	8100 (7390÷8800)

* — достовірно по відношенню до патології (CCl₄) при p≤0,05; ** — достовірно по відношенню до групи тварин, які лікувались силібором, при p≤0,05; n — кількість тварин у групі.

амінотрансферази (АлАТ) у сироватці крові, активність процесів перекисного окислення ліпідів — за вмістом малонового діальдегіду (МДА) у гомогенаті печінки [14]. Отримані результати порівнювали зі значеннями аналогічних показників у групі контролю і у тварин, яких лікували препаратами порівняння [10].

Визначення гострої токсичності проводили на білих мишах масою 18-22 г при однократному пероральному введенні за методикою Т.В.Пастушенко і співавторів [11] і розраховували значення DL_{50} з довірчими інтервалами. Токсичні властивості речовин диференціювали за класифікацією К.К.Сидорова [13].

Результати досліджень були оброблені статистично. Достовірними вважали результати при $p < 0,05$ [10].

Результати та їх обговорення

Результати проведеного експерименту показали, що введення гепатотоксину (тетрахлорметану) приводить до різкого підвищення (майже в 2 рази) активності АлАТ у сироватці крові, а також до посилення (у 3 рази) процесів перекисного окислення ліпідів у печінці, які оцінювали за рівнем МДА в гомогенаті печінки. Таким чином, у групі тварин з нелікованою патологією розвивається жирова дистрофія печінки, про що свідчать отримані показники.

Дослідження 2-D-(+)-глюкозиламонійних солей R-N-оксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти показали, що як антицитолітична, так і антиоксидантна активність вивчених сполук залежить від природи радикалу, а не від його локалізації.

Аналіз викладених у таблиці даних свідчить, що незаміщена глюкозиламонійна сіль етилового ефіру оксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти не проявляє гепатопротекторної та антиоксидантної дії.

Вг-заміщені глюкозиламонійні солі етилових ефірів оксанілоїлгідрозидів шавлевої кислоти під шифрами 1.2, 1.3 і 1.4 виявляють антицитолітичну активність (35%, 28% і 37% відповідно) на рівні препарату порівняння силібору. Однак ці речовини володіють слабковираженою здатністю інгібувати процеси ПОЛ у гомогенаті печінки.

Введення нітрогрупи в структуру досліджуваних сполук (сполуки 1.7, 1.8 і 1.9) приводить до достовірного підвищення антиоксидантного ефекту (за рівнем вмісту малонового діальдегіду в гомогенаті печінки вони майже не поступаються вітаміну Е), але дані сполуки не мають антицитолітичної дії.

Інтерес у вивченій групі речовин викликала сполука 1.10, яка містить у своїй структурі групу $—COOC_2H_5$ (глюкозиламонійна сіль етилового ефіру 4-карбетоксіоксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти), що володіє антицитолітичною (34,5%) активністю на рівні препарату порівняння силібору. Антиоксидантна активність даної речовини хоча і виявлялася трохи нижчою за активність вітаміну Е, але все-таки була досить високою (51,4%) і перевищувала аналогічну активність силібору в 2,5 рази.

Вплив глюкозаміну гідрохлориду проявляється вираженою антиоксидантною дією (63,1%), що трохи вище такої у вітаміну Е та значно перевищує активність силібору. При цьому глюкозаміну гідрохлорид володіє слабкою антицитолітичною дією, яка виявляється у незначному зниженні активності аланінамінотрансферази в сироватці крові (антицитолітична активність склала 21%).

Вивчення гострої токсичності представлених сполук свідчить, що всі вивчені 2-D-(+)-глюкозиламонійні солі R-N-оксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти за показниками DL_{50} поступаються стандартним препаратам (див. табл.). Виключення складає глюкозаміну гідрохлорид, DL_{50} якого перевищує 10 000 мг/кг, що дозволяє віднести його за класифікацією Hodge H.C., Sterner L.H. [13] до практично нетоксичних сполук.

Таким чином, проведені дослідження показали, що пошук малотоксичних речовин з антицитолітичною і антиоксидантною активністю серед 2-D-(+)-глюкозиламонійних солей R-N-оксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти є перспективним напрямком. У процесі експерименту встановлено, що з 10 вивчених сполук 4 виявили антицитолітичну активність і 4 — антиоксидантну. Високу гепатопротекторну активність виявили сполуки під шифром 1.10 (глюкозиламонійна сіль етилового ефіру 4-карбетоксіоксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти) і глюкозаміну гідрохлорид.

Глюкозаміну гідрохлорид і глюкозиламонійна сіль етилового ефіру 4-карбетоксіоксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти є перспективними для створення на їхній основі гепатопротекторних засобів.

ВИСНОВКИ

1. Результати досліджень показали, що 2-D-(+)-глюкозиламонійні солі етилових ефірів R-N-оксамілоїлгідрозиду шавлевої кислоти являють собою мало- і практично нетоксичні речовини (IV і V клас токсичності), що володіють гепатопротекторною активністю на моделі гострого тетрачлорметанового ураження печінки.

2. Вг-заміщені 2-D-(+)-глюкозиламонійні солі етилових ефірів R-N-оксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти проявляють виражену антицитолітичну та незначну антиоксидантну дію.

3. Введення нітрогрупи в структуру досліджуваних сполук приводить до достовірного підвищення антиоксидантного ефекту, але й до одночасної втрати антицитолітичної активності.

4. Глюкозиламонійна сіль етилового ефіру 4-карбетоксіоксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти має виражену антиоксидантну та антицитолітичну активність.

5. Глюкозаміну гідрохлорид і глюкозиламонійна сіль етилового ефіру 4-карбетоксіоксанілоїлгідрозиду шавлевої кислоти є перспективними сполуками для створення на їхній основі гепатопротекторних засобів.

ЛІТЕРАТУРА

1. А.с. 1307810 СССР, МКІА С 07 Н 5/06, А 61 К 31/70. N-(1-адамантилоксамоил)-D-(+)-глюкозамин, обладающий анальгетической и антигипоксической активностью /П.А.Петюнин, А.И.Павлий, Е.В.Бухарина, С.М.Дроговоз, И.А.Зупанец, Л.В.Яковлева (СССР). — Заявка №3868133/23-04 от 15.03.85.
2. А.с. 1360145 СССР, МКІА С 07 Н 5/06, А 61 К 31/70. N-(Н-гептилоксамоил)-D-(+)-глюкозамин, обладающий противовоспалительной, анальгетической, антиаллергической и противошоковой активностью / П.А.Петюнин, А.И.Павлий, Е.В.Бухарина, С.М.Дроговоз, И.А.Зупанец, Л.В.Яковлева, И.Г.Дьяконова (СССР). — Заявка №4052353/2804 от 9.04.86.
3. А.с. 1365692 СССР, МКІА С 07 Н 5/06, А 61 К 31/70. Производные N-R-оксамоил-D-(+)-глюкозамина, обладающие анальгетической и противовоспалительной активностью / П.А.Петюнин, А.И.Павлий, Е.В.Бухарина, С.М.Дроговоз, И.А.Зупанец, Л.В.Яковлева, А.П.Иваненко (СССР). — Заявка №3987633/28-04 от 11.12.85.
4. Дроговоз С.М., Яковлева Л.В., Зупанец И.А. Нестероидные противовоспалительные препараты как средства для коррекции поражений печени. Актуальные проблемы гепатологии: Сб. науч. тр. — Х.: Основа, 1989. — С. 30-33.
5. Дроговоз С.М., Сальникова С.И., Скакун Н.П., Слышков В.В. Методические рекомендации по экспериментальному изучению желчегонной, холеспазмолитической, холелитиазной и гепатопротекторной активности новых лекарственных средств. — К., ФК МЗ Украины, 1994. — 46 с.
6. Зупанец И.А. Поиск противовоспалительных и анальгезирующих средств в ряду производных N-R-оксамоил-D-(+)-глюкозамина: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — К., 1988. — 27 с.
7. Зупанец И.А. Экспериментальное обоснование использования глюкозамина и его производных в медицине: Дисс. ... д-ра мед. наук. — Купавна, 1993. — 90 с.
8. Зупанец И.А., Дроговоз С.М., Яковлева Л.В. и др. // Физиол. журн. — 1990. — Т. 36, №2. — С. 115-120.
9. Курский М.Д., Кучеренко С.М. Биомембранология: навч. посібник. — К.: Вища школа, 1999. — 260 с.
10. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
11. Пастушенко Т.В., Маруший Л.Б., Жуков А.А., Пилипенко Ю.А. // Гигиена и санитария. — 1985. — №6. — С. 46-48.
12. Сальникова С.И. Оптимизация поиска и создание синтетических гепатопротекторов в ряду производных триазолов, бензоксазолов, глюкозамина и антрахинонсулцинаминовых кислот: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. — Купавна, 1993. — 45 с.
13. Сидоров К.К. // Токсикол. новых пром. хим. веществ. — М., 1973. — Вып. 13. — С. 47-51.
14. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современ. методы биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича. — М.: Медицина, 1977. — С. 44-46.
15. Balazs E.A., Jeendoz R.W. N.Y.L. // Acad. Press. — 1965. — Vol. 2A. — P. 1, 60.
16. Friedman S.J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1990. — Vol. 72, №2. — P. 1172-1176.
17. Kamel M., Hanafi M., Bassiouni M. // Clin. Exp. Rheumatol. — 1997. — Vol. 9, №1. — P. 17-21.

УДК 616.36-002:547.455.623'233.1]001.89

ИЗУЧЕНИЕ АНЦИЦИТОЛИТИЧЕСКОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛЮКОЗАМИНА ГИДРОХЛОРИДА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ ПРИ ОСТРОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

С.В.Мисюрева, И.А.Зупанец, С.Г.Исаев, А.И.Павлий

На модели острой жировой дистрофии печени изучена антицитолитическая и антиоксидантная активность 2-D-(+)-глюкозилламмонийных солей этиловых эфиров R-N-оксанилоилгидразида щавелевой кислоты (10 соединений). Установлено, что Br-замещенные 2-D-(+)-глюкозилламмонийные соли этиловых эфиров R-N-оксанилоилгидразида щавелевой кислоты проявляют выраженное антицитолитическое и незначительное антиоксидантное действие. Введение нитрогруппы в структуру изучаемых соединений приводит к достоверному повышению антиоксидантного эффекта, но одновременно и к потере антицитолитической активности. Проведенные исследования показали, что изученная группа 2-D-(+)-глюкозилламмонийных солей R-N-оксанилоилгидразида щавелевой кислоты является перспективной в плане дальнейшего поиска среди них соединений с антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием. Глюкозамина гидрохлорид и глюкозилламмонийная соль этилового эфира 4-карбэтоксидоксилоилгидразида щавелевой кислоты, обладающие гепатопротекторной активностью и низкой токсичностью, представляют интерес в плане создания на их основе гепатопротекторных средств.

UDC 616.36-002: 547.455.623'233.1] 001.89

ANTICYTOLITIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE STUDY AND ITS DERIVATIVES IN ACUTE INJURY OF LIVER BY TETRACHLORMETANUM

S.V.Misyureva, I.A.Zupanets, S.G.Isayev, A.I.Pavliy

We have investigated anticytolytic and antioxidant activity of 2-D-(+)-glucosilammonium salts of ethyl ethers R-N-oksaniolilgidrasid of oxalic acid (10 compounds) on the liver acute fatty dystrophy model. It has been established that Br-substituted 2-D-(+)-glucosilammonium salts of ethyl ethers R-N-oksaniolilgidrasid of oxalic acid develop expressed anticytolytic and slight antioxidant action. The nitrogroup introduction in a structure of investigated compounds results in significant increase of antioxidant effect, but also to simultaneous loss of anticytolytic activity. The conducted researches have been shown that the investigated group of 2-D-(+)-glucosilammonium salts R-N-oksaniolilgidrasid of oxalic acid is perspective in the sense of further search of compounds with antioxidant and membranostabilising properties among them. Glucosamine hydrochloride and glucosilammonium salt of ethyl ether of 4-carbethoxy-oksaniolilgidrasid of oxalic acids having hepatoprotective activity and low toxicity, they are of interest by way of hepatoprotective drugs creation on their basis.