

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет

ПОЧЕЛОВА ОЛЕНА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК: 615.272:547.29.05

АКТОПРОТЕКТОРНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ  
(3-R-2-ОКСО-2Н-[1,2,4] ТРИАЗИНО [2,3-С]ХІНАЗОЛІН-6-ІЛ)  
АЛКІЛКАРБОНОВИХ КИСЛОТ  
(експериментальне дослідження)

14.03.05 – фармакологія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор  
**Степанюк Георгій Іванович,**  
Вінницький національний медичний університет  
ім. М.І. Пирогова МОЗ України,  
професор кафедри фармакології.

**Офіційні опоненти:** доктор фармацевтичних наук, професор  
**Міщенко Оксана Яківна,**  
Національний фармацевтичний університет  
МОЗ України, виконуючий обов'язки завідувача  
кафедри клінічної фармакології ІПКСФ

доктор медичних наук, професор  
**Горчакова Надія Олександрівна,**  
Національний медичний університет  
імені О. О. Богомольця МОЗ України,  
професор кафедри фармакології.

Захист відбудеться «10» лютого 2017 р. о 12<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету МОЗ України за адресою: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

Автореферат розісланий «30» грудня 2016 р.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
доктор фармацевтичних наук, професор

Т. С. Сахарова

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Життя людини ХХІ століття насичене великою кількістю ускладнюючих чинників: зростанням кількості катастроф, стресових ситуацій, погіршенням екологічної обстановки, а також малорухомим способом життя. Це негативно впливає на адаптаційні механізми організму, викликає порушення здоров'я, прискорює настання втоми, знижує працездатність людини, утруднює виконання професійної діяльності. Зниження працездатності у цивільних людей призводить до погіршення якості життя, а у людей екстремальних професій (пілотів, водолазів, шахтарів, військових) набуває життєво важливого значення: може не лише завадити виконанню професійних завдань, але й нести небезпеку для життя (В. М. Фисенко и соавт., 2007; Г. С. Беляева и соавт., 2015; Ю. М. Райгородский и соавт., 2015). Ця проблема актуалізує пошук можливих шляхів її вирішення, зокрема з використанням лікарських засобів. Вагому роль у цьому плані набуває група актопротекторів – лікарських засобів, які здатні підтримувати належний рівень фізичної працездатності людини як у нормальних, так і в екстремальних умовах. Важливою перевагою актопротекторів є невиснажуючий механізм дії, зумовлений метаболітотропною спрямованістю впливу на організм, а саме стимуляцією синтезу білків, в тому числі білків-ферментів енергетичних процесів та антиоксидантного захисту (С. А. Олейник и соавт., 2010; Н. Н. Каркищенко и соавт., 2014; В. Д. Лук'янчук та співавт., 2015).

На сьогоднішній день серед засобів цієї групи використовується практично один бемітил – 2-етилтіобензімідазолу гідробромід (2-ЕТБІ) (торгова назва «Метапрот») (М. Д. Машковский, 2012), який в Україні не зареєстрований (П. Д. Шабанов, 2009-2011; I. V. Zarubina, 2015). Крім стимулювальної дії на працездатність, як фізичну, так і розумову, бемітилу притаманні також імуностимулювальний, антиоксидантний, протигіпоксичний та нейротрофічний ефекти, а також здатність стабілізувати та прискорювати репаративні процеси (Э. С. Питкевич и соавт., 2001; Е. Е. Лесиовская, 2010; С. А. Олейник и соавт., 2010). Препарат має побічні ефекти: головний біль, диспепсичні розлади, гастралгії, гіперемія обличчя, психоактивуюча дія, роздратованість, порушення сну, що перешкоджають його широкому застосуванню (Э. С. Питкевич и соавт., 2001, М. Д. Машковский, 2012; S. Oliynyk, 2012).

Враховуючи наведені дані та недостатню кількість на вітчизняному фармацевтичному ринку лікарських препаратів з актопротекторною дією, сьогодні ведеться активний пошук та вивчення нових хімічних сполук з актопротекторними властивостями, придатних для створення на їх основі більш ефективних та безпечних лікарських засобів із вказаною дією (Г. І. Степанюк та співавт., 2009; Н. В. Руда та співавт. 2014; А. В. Саєнко, 2014; Л. Д. Лук'янчук та співавт., 2015; І. М. Маньковська та співавт., 2015).

У цьому плані перспективними є нові похідні (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4] триазино [2,3-с]хіназолін-6-іл)алкілкарбонових кислот, для яких встановлені антистресорні, протигіпоксичні, антиоксидантні, знеболюючі, церебро- та кар-

діопротекторні властивості (С. В. Павлов та співавт., 2005; О. В. Джигалюк та співавт., 2010; О. І. Альчук, 2011; Н. О. Семененко, 2014), які добре співставляються з патогенезом фізичної втоми, що і стало підставою для проведення даного дослідження.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана в рамках НДР кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) ім. М. І. Пирогова за темами «Експериментальне дослідження нейро- та кардіопротекторних властивостей ациклічних, ароматичних та гетероциклічних сполук» (№ держреєстрації 0109U004812) та «Пошук та розробка нових шляхів фармакологічної корекції порушень при ішемічному ушкодженні мозку та серця в експерименті» (№ держреєстрації 0112U001939). Дисертант є співвиконавцем даних НДР.

**Мета та задачі дослідження.** *Мета роботи* - експериментальне обґрунтування доцільності пошуку речовин з актопротекторною дією у ряду нових похідних (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових, перспективних для створення вітчизняного актопротектора.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити такі задачі:

1. Провести скринінг в ряду похідних (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4] триазино [2,3-с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот на наявність актопротекторної активності в плавальному тесті в умовах нормотермії, виявити найбільш ефективні сполуки, визначити їх ЕД<sub>50</sub>, встановити залежність «структура-дія».

2. Охарактеризувати вплив найбільш активних сполук на фізичну витривалість тварин при навантаженні бігом у третбані та в тесті «стрижень, що обертається».

3. Дослідити вплив найбільш активних сполук у порівнянні з 2-ЕТБІ на фізичну витривалість щурів в ускладнених умовах експерименту (ішемії мозку, гіпоксії, гіпо- та гіпертермії), виявити сполуку-лідера.

4. Вивчити вплив сполуки-лідера натрієвої солі 4-(2-оксо-3метил-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)бутанової кислоти (DSK-38) на фізичну витривалість тварин з модельованим міокардитом та визначити гостру токсичність.

5. Оцінити актопротекторну дію сполуки-лідера в умовах імобілізаційного стресу (тривала гіпокінезія) за показниками плавального тесту, бігу у третбані, емоційно-поведінкових реакцій тварин у тесті «відкрите поле» та станом морфоструктури внутрішніх органів та скелетних м'язів.

6. Дослідити окремі механізми актопротекторного ефекту сполуки-лідера: антигіпоксичні властивості, вплив на метаболічні процеси в крові, печінці та скелетних м'язах щурів на тлі тривалого фізичного навантаження.

*Об'єкт дослідження:* фізична витривалість тварин у нормальних та ускладнених умовах експерименту.

*Предмет дослідження:* актопротекторна активність нових похідних (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот.

**Методи дослідження:** фармакологічні, біохімічні, морфологічні, статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше теоретично обґрунтована та експериментально доведена на моделях фізичного навантаження у звичайних та ускладнених умовах наявність актопротекторного ефекту у похідних (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот. Встановлено, що актопротекторна активність досліджуваних сполук зумовлена гетероциклічним фрагментом і залежить від природи замісників у третьому, шостому та десятому положеннях. Доведено, що сполука-лідер натрієва сіль 4-(2-оксо-3-метил-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) бутанової кислоти (DSK-38) за виразністю актопротекторного ефекту (92,1%) не поступається сполуці порівняння 2-ЕТБІ (107,1%). Поглиблено уявлення щодо механізму актопротекторного ефекту сполуки DSK-38, що є подібним до такого речовини порівняння 2-ЕТБІ і полягає у збільшенні енергетичних резервів шляхом перебудови клітинного метаболізму (підвищення вмісту АТФ та глікогену в скелетних м'язах відповідно в 1,4 та 1,3 разу,  $p < 0,05$ ), відновлення прооксидантно/антиоксидантної рівноваги (зниження рівня ТБК-АП в скелетних м'язах в 3,4 разу,  $p < 0,05$ ), посилення протеїнсинтезу (підвищення вмісту РНК та ДНК в печінці відповідно в 1,35 та 1,1 разу,  $p < 0,05$ ), а також реалізується за рахунок антигіпоксичних властивостей.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати проведеного дослідження розширюють та поглиблюють уявлення про фармакодинаміку нових похідних (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3-с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот. Запропоновано спосіб підвищення фізичної витривалості з використанням досліджуваних похідних (патент України на корисну модель №81634, 2013 р.) та їх застосування як актопротекторних засобів при різних температурних режимах (інф. лист № 388–2014, 2014).

Експериментально обґрунтована доцільність поглибленого вивчення фармакологічних властивостей натрієвої солі 4-(2-оксо-3-метил-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) бутанової кислоти (сполука DSK-38) з метою створення на її основі нового лікарського засобу з актопротекторною дією.

Встановлена залежність фармакологічної дії від хімічної структури в ряду похідних (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот надає можливість хімікам-синтетикам проводити цілеспрямований синтез нових речовин цього ряду із вказаною дією.

Результати даного дослідження впроваджені в науково-педагогічний процес кафедр фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 5 від 11.12.2014 р.), Запорізького державного медичного університету (протокол № 12 від 17.03.2015 р.), ДЗ «Дніпропетровська медична академія» (протокол № 7 від 04.03.2015 р.) та ДВНЗ Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (протокол № 16 від 17.04.2015 р.), Одеського національного медичного університету (протокол № 5 від 29.01.2015 р.), Буковинського державного медичного університету (протокол № 14 від 07.05.2015 р.).

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно проведено огляд наукової літератури та патентно-інформаційний пошук, освоєно та застосовано адекватні моделі патологічних станів для проведення експериментальних

досліджень. Самостійно освоєні методики статистичного аналізу. Згідно чинних рекомендацій оформлено дисертаційну роботу та список літератури. Морфологічна оцінка ефективності сполуки-лідера в умовах гіпокінезії проведена в науково-дослідній лабораторії морфології та генетики розвитку Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (свідоцтва про атестацію №003/10 від 11.01.2010 р. та №050/15 від 02.03.2015 р.) при консультативній допомозі доцента кафедри гістології ВНМУ к. мед. н. А. П. Короля, біохімічні дослідження – при консультативній допомозі професора кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ, д. мед. н., проф. М. Б. Луцюка. Автором разом з науковим керівником сформульовані основні положення та висновки дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи оприлюднені та обговорені на: IV Національному з'їзді фармакологів України (Київ, 2011), 72-ій Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченій Дню науки «Медицина та фармація XXI століття – крок у майбутнє» (Запоріжжя, 2012), 7-ій Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології (Вінниця, 2013), 17-ому Міжнародному медичному Конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2013), IV (49 університетській) міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (Вінниця, 2013), Національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (Харків, 2013), 10-ій Міжнародній студентській науковій конференції «Перший крок у науку» (Вінниця, 2013), 15-ому Конгресі Світової Федерації Українського Лікарського Товариства (Чернівці, 2014), VI (51 університетській) міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (Вінниця, 2015), 8-ій Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології (Вінниця, 2015).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 17 наукових праць, у тому числі 4 статті у фахових журналах, рекомендованих МОН України, і 1 стаття у фаховому закордонному виданні, 1 патент України на корисну модель та 10 тез доповідей на наукових форумах різного рівня, 1 інформаційний лист.

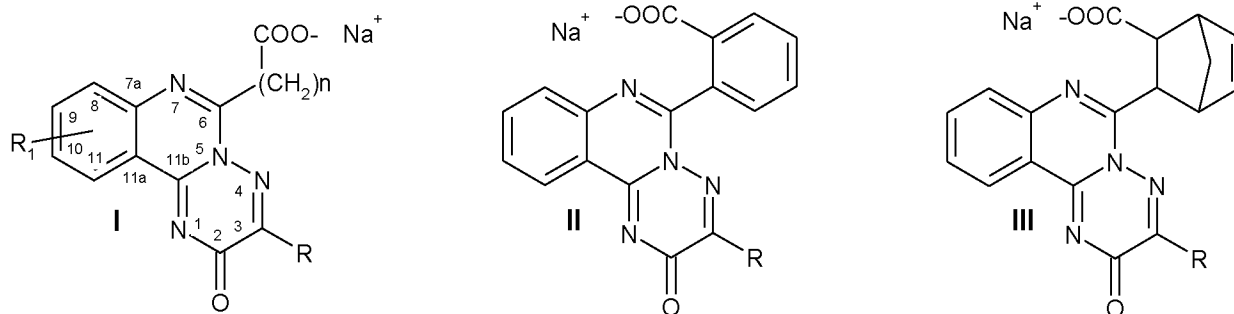
**Обсяг та структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 175 сторінках комп'ютерного тексту. Дисертація складається із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 4-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків та переліку використаних джерел, який містить 217 бібліографічних описів, з них 133 кирилицею та 84 латиницею. Робота ілюстрована 17 рисунками та 22 таблицями.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали і методи дослідження.** Експериментальні дослідження проведені на 704 лабораторних білих щурах обох статей масою 180-250 г та 10 лабораторних білих мишах, які перебували у віварії ВНМУ ім. М. І. Пирогова на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі.

Досліди проводили з урахуванням вимог належної лабораторної практики (GLP) згідно з Методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗУ (О. В. Стефанов, 2001), Національними «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001). Дотримання біоетичних норм засвідчено висновком комітету з біоетики ВНМУ ім. М. І. Пирогова (протокол № 11 від 19.11. 2015 р.).

Були досліджені 32 нові похідні (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3 - с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот, синтезовані на кафедрі органічної та біоорганічної хімії Запорізького державного медичного університету під керівництвом проф. С. І. Коваленка (рис. 1).



R=CH<sub>3</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, 4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 3,4-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>,  
4-F-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; R<sub>1</sub>=H, F, Cl, CH<sub>3</sub>; n=0, 1, 3, 4

Рис. 1 Принципова будова натрієвих солей (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їх галогенвмісних аналогів (структури I, II, III)

Скринінг досліджуваних похідних (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3 - с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот на наявність актопротекторної активності здійснено на щурах в тесті плавання у воді (t=24-26<sup>0</sup>C) з навантаженням 10 % від маси тіла – визначали час плавання до повної втоми (М. Я. Головенко, 2002). Досліджувані речовини вводили тваринам у вигляді водних розчинів одноразово внутрішньоочеревинно (в/о) за 40-50 хв. до початку тестування в дозах 10 мг/кг (взяті емпірично). У зв'язку з тим, що на фармацевтичному ринку України відсутній єдиний у своєму класі актопротекторний препарат бемітил, як референс-речовина була використана його субстанція 2-етилтіобензімідазолу гідробромід (2-ЕТБІ), синтезована у Інституті органічної хімії НАН України. Відповідність синтезованого зразка оригінальному препарату бемітилу доведена результатами хроматомас спектрометрії (прилад Aligent 1100), спектрометрії ЯМР <sup>1</sup>H (прилад Varian-Gemini, 299,99 МГц), ПМР спектроскопії (прилад Varian VXR, частота 300 МГц), даними елементного аналізу, тонкошарової хроматографії, температурою плавлення (сертифікат № 94/194-1-10). Сполуку порівняння 2-ЕТБІ застосовували в/о в дозі 50 мг/кг, запозиченій з літератури (Н. Н. Самойлов, 2002). Щурам контрольної групи в цьому і в подальших експериментах в/о вводили еквіоб'ємну кількість 0,9% розчину NaCl. Актопротекторну дію найактивніших за результатами скринінгу сполук підтверджували в тесті плавання при введенні в декількох дозах 2,5-10 мг/кг та розраховували ЕД<sub>50</sub>.

На наступному етапі скринінгових досліджень вивчали вплив найбільш

активних сполук у порівнянні з 2-ЕТБІ на динамічну витривалість (тест бігу у третбані) та здатність впливати на координацію рухів та м'язовий тонус щурів (тест «стрижень, що обертається») при курсовому введенні для виявлення сполук-лідерів. Актопротекторну дію сполук AV-224, AV-227, DSK-38, DSK-39 та 2-ЕТБІ оцінювали після 5-денного профілактичного в/о введення в добових дозах, що дорівнювали їх  $ED_{50}$  за плавальним тестом. На 5-у добу експерименту визначали тривалість бігу тварин у третбані до повного стомлення при швидкості руху стрічки 42 м/хв та куті нахилу доріжки  $10^\circ$  (Л. В. Яковлєва та співавт., 2009). Наступного дня визначали час утримання тварин на стрижні, що обертається зі швидкістю 15 об/хв (В. В. Гацура, 1974).

На наступному етапі досліджували тривалість плавання під впливом найактивніших досліджуваних сполук при різних температурних режимах: гіпо- ( $10^\circ\text{C}$ ), гіпертермії ( $40^\circ\text{C}$ ), та в ускладнених гіпоксією умовах: при ішемії мозку (однобічна перев'язка загальної сонної артерії) і гострій гемічній гіпоксії (введення  $\text{NaNO}_2$  підшкірно) (В. Д. Лук'янчук та співавт., 2002; О. В. Черненко, 2002; Н. Н. Самойлов, 2006; Р. Ф. Садыков, 2008; Л. В. Яковлєва та співавт., 2009). Досліджувані сполуки вводили одноразово в/о за 40-50 хв до моделювання екстремального стану або щоденно протягом 15 діб на тлі ішемії мозку в дозах, що становили їх  $ED_{50}$ . Для оцінки актопротекторної дії сполук в ускладнених умовах досліджували фізичну працездатність за тривалістю плавального теста та утримання на стрижні, що обертається (В. В. Гацура, 1974; Ю. Г. Бобков и соавт., 1984).

Було вивчено вплив сполуки-лідера DSK-38 у порівнянні з 2-ЕТБІ на фізичну витривалість щурів з міокардитом, який моделювали шляхом 4-денного введення 0,18% розчину адреналіну тартрату (ПАТ «ФФ «Дарниця», Україна) підшкірно 1 р/д в дозі 0,1 мг на 100 г маси тіла (Г. Э. Галустян, 1989). З п'ятої по сьому добу експерименту дослідним групам тварин вводили в/о сполуку DSK-38 та 2-ЕТБІ у дозах, що становили їх  $ED_{50}$ . Величину актопротекторного ефекту оцінювали на 8-й день досліду в плавальному тесті.

Як ускладнюючий чинник було також змодельовано гіпокінезію (утримання тварин протягом 15 діб по 16 год/добу в індивідуальних дерев'яних пеналах), на тлі якої тваринам щоденно вводили сполуку DSK-38 в  $ED_{50}$  (Е. Г. Коваленко, 1994). Актопротекторну дію сполуки оцінювали за тривалістю плавання та бігу у третбані, впливом на емоційно-поведінкові реакції в тесті «відкрите поле» (Я. Буреш и соавт., 1991; Т. В. Гамма, И. И. Коренюк, 2006). На 15-ту добу гіпокінезії досліджували морфологічну структуру внутрішніх органів щурів: печінки, серця, нирок, наднирників та скелетного м'язу. Зрізи фарбували гематоксиліном і еозином, толуїдиновим синім та за методом Ван Гізона (Г. А. Меркулов, 1969) і вивчали під світловим мікроскопом.

Гостру токсичність сполуки-лідера DSK-38 досліджували на щурах та мишах при одноразовому в/о введенні з використанням експрес-методу розрахунків за В. Б. Прозоровським (1998). На підставі  $LD_{50}$  та  $ED_{50}$  розраховували терапевтичний індекс ( $TI = LD_{50}/ED_{50}$ ), що характеризує безпеку речовини.



Антигіпоксичні властивості сполуки DSK-38 оцінювали на моделях гострої асфіксії (В. В. Гацура, 1993; Г. І. Степанюк та співав., 2010) та гострого порушення мозкового кровообігу у щурів (В. Д. Лук'янчук та співавт., 2002; О. В. Джигалюк, 2010). Досліджувану сполуку DSK-38 та 2-ЕТБІ в  $ED_{50}$  і мексидол (виробництва «Фармасофт» НПК ООО) в дозі 100 мг/кг, запозиченій з літератури (Н. І. Нечипуренко и соавт., 2006; Т. А. Девяткина и соавт., 2007) вводили одноразово в/о за 30-40 хв до повного перетискання трахеї або до двобічної перев'язки сонних артерій. Антигіпоксичну дію оцінювали за тривалістю біоелектричної активності серця (БЕАС) на моделі гострої асфіксії та за показником летальності щурів з ЦГТМ в динаміці (В. Д. Лук'янчук та співавт., 2002).

Стан біоенергетичних процесів у крові, печінці та м'язах щурів вивчали після навантаження на 15-й день введення сполуки DSK-38, як і 2-ЕТБІ, на тлі тренувань (біг у третбані щоденно по 10 хв) (Л. В. Яковлева та співавт., 2009). У гомогенатах м'язів визначали рівень аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ), глікогену та глюкози (М. І. Прохорова 1982; В. В. Меньшиков и соавт., 1987). Енергетичний заряд (ЕЗ) розраховували за формулою (D. E. Atkinson, 1968):  

$$ЕЗ = 2АТФ + АДФ / 2(АТФ + АДФ + АМФ).$$

У сироватці крові визначали рівень лактату (Л), пірувату (П), їх співвідношення (Л/П), рівень глюкози та ліпідів (М. І. Прохорова, 1982). У гомогенатах печінки визначали вміст РНК та ДНК (Л. М. Вороніна та співавт., 1996) та глікогену (В. В. Меньшиков и соавт., 1987), інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) за вмістом ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) (И. Д. Стальная, Г. Г. Гаришвили, 1977), стан антиоксидантної системи (АОС) за рівнем відновленого глутатіону (ВГ) (Г. О. Круглікова, І. М. Штурман, 1976).

Статистичну обробку отриманих результатів проведено з використанням програми «Statistica 8,0». Використовували параметричний критерій Ст'юдента, непараметричний критерій Мана Уїтні та кутове перетворення Фішера для оцінки результатів, виражених у якісній формі (виживання/загибель; наявність або відсутність певної ознаки). При порівнянні статистичних показників був прийнятий рівень значущості  $p < 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** У скринінгових дослідженнях встановлено вірогідне зростання тривалості плавання щурів у заданих умовах експерименту на тлі дії більшості досліджуваних похідних (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот в дозі 10 мг/кг (за винятком сполук DSK-70, DSK-106, AV-225 та AV-229) подібно до 2-ЕТБІ (50 мг/кг), що є ознакою наявності у даних похідних, як і у 2-ЕТБІ, актопротекторної активності. Найбільше підвищення фізичної витривалості щурів (на 171-318%) встановлено під дією сполук AV-224, DSK-38, AV-227 та DSK-39. При цьому за ефективністю сполуки AV-224 та DSK-38 вірогідно перевершували ( $p < 0,05$ ) сполуку порівняння відповідно у 2,2 та 2,0 рази, а сполуки AV-227 та DSK-39 співставлялись з нею ( $p > 0,05$ ). За величиною актопротекторної дії у нормотермічних умовах експерименту досліджувані речовини можна розмістити у наступній послідовності: AV-224 > DSK-38 > AV-227  $\geq$  DSK-39  $\geq$  2-ЕТБІ.

За результатами скринінга розраховано  $ED_{50}$  для найбільш активних сполук (табл. 1).

Таблиця 1

**Тривалість плавання щурів у нормотермічних умовах під впливом найбільш активних досліджуваних сполук та 2-ЕТБІ на ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )**

Групи тварин	Хім. структура I			Доза, мг/кг	Тривалість плавання, с	Динаміка відносно контролю, %	$ED_{50}$ , мг/кг
	R	R <sub>1</sub>	n				
Інтактні щури (контроль)	—	—	—	—	362,4±23,4	—	—
AV-227	-CH <sub>3</sub> -0-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	-Cl	2	10,0	1107,0±90,0* <sup>#</sup>	+205,5	4,2 (3,9÷4,5)
				5,0	576,6±36,0*	+59,0	
				2,5	442,8±37,8	+22,3	
DSK-38	-CH <sub>3</sub>	-H	3	10,0	1417,8±159,0*/**	+291,0	4,8 (4,4÷5,2)
				7,5	598,2±22,2*	+65,0	
				5,0	570,6±24,0*	+57,0	
				2,5	474,6±31,8	+31,0	
DSK-39	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-H	3	10,0	984,0±90,0* <sup>#</sup>	+171,0	5,5 (5,2÷5,8)
				7,5	624,0±19,2*	+72,4	
				5,0	531,0±25,2*	+46,6	
AV-224	-CH <sub>3</sub> -0-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	-Br	2	10,0	1515,0±204,0*/**	+318,0	5,6 (5,3÷5,9)
				7,5	634,8±72,0*	+75,0	
				5,0	502,8±33,0*	+39,0	
2-ЕТБІ	—	—	—	50,0	872,4±82,8*	+141,0	34,0 (29,5÷38,5)
				37,5	584,4±24,0*	+61,0	
				25,0	433,2±13,8*	+19,5	

Примітка. \* – відхилення вірогідні щодо інтактних тварин ( $p < 0,05$ );

\*\* – відхилення вірогідні щодо показника в групі тварин, яким вводили сполуку-порівняння 2-ЕТБІ ( $p < 0,05$ ); <sup>#</sup> – відхилення вірогідні щодо показника на тлі дії сполуки DSK-38 в аналогічній дозі ( $p < 0,05$ ); n – кількість тварин у групі.

За значенням показника  $ED_{50}$  за актопротекторною активністю сполуки AV-227, DSK-38, DSK-39 та AV-224 переважають 2-ЕТБІ відповідно у 8,1; 7,1; 6,2 та 6,1 разу. За збільшенням величини  $ED_{50}$  досліджувані речовини можна розташувати в такий ряд: AV-227 (4,2 мг/кг) < DSK-38 (4,8 мг/кг) < DSK-39 (5,5 мг/кг) < AV-224 (5,6 мг/кг) < 2-ЕТБІ (34 мг/кг).

Отже, результати проведеного дослідження показали, що похідні (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-триазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот є носіями актопротекторної активності, яка є найбільшою у сполук AV-227, DSK-38, DSK-39 та AV-224. При цьому зазначена дія у них, як і у сполуки-порівняння, є

прямо пропорційно дозозалежною.

Аналіз залежності «структура-актопротекторна активність» серед досліджуваних сполук, показав, що її наявність зумовлює гетероциклічний фрагмент, а також природа замісників у третьому, шостому та десятому положеннях. Більш виражена активність характерна для сполук, які в шостому положенні містять карбоксиалкільні (карбоксипропіл або карбоксибутил) замісники, а у третьому положенні – метильний та арильний замісники з радикалом (метокси-, флюоро-, ізопропіл), який підвищує ліпофільність молекули. Значно підвищує активність галоген (хлор, бром) в десятому положенні гетероцикла (сполуки AV-224 та AV-227).

Встановлено, що сполуки AV-224, AV-227, DSK-38 та DSK-39 при курсовому (5-денному) введенні щурам у дозах, що дорівнюють їх  $ED_{50}$ , подібно до 2-ЕТБІ, спроможні підвищувати як динамічну витривалість тварин (біг у третбані), так і покращувати координацію їх рухів та м'язовий тонус (утримання на стрижні, що обертається) відповідно на 263 та 204; 108 та 74; 133 та 136; 102 та 108% проти 80 та 72% на тлі 2-ЕТБІ. При цьому найбільш активними є сполуки AV-224 та DSK-38.

На наступному етапі було досліджено актопротекторну дію найбільш активних сполук у порівнянні з 2-ЕТБІ в ускладнених умовах: на тлі гіпо- та гіпертермії, гіпоксії, ЦГГМ, міокардиту.

В умовах гіпер- та гіпотермії актопротекторна дія була найбільш виражена у сполук AV-224, DSK-38 та AV-227, на тлі яких тривалість плавання в умовах гіпер- та гіпотермії вірогідно зростала ( $p < 0,05$ ) відносно контролю, відповідно, на 112,7 та 57,4%; 76,9 та 47,2%; 75,5 та 37,6% проти 59,6 та 33,5% під впливом 2-ЕТБІ.

Встановлено, що курсове 15-денне введення щурам із модельованою циркуляторною гіпоксією головного мозку (ЦГГМ) (однобічна оклюзія загальної сонної артерії) досліджуваних сполук (рис. 2), в такій же мірі як і 2-ЕТБІ, сприяло відновленню витривалості тварин, координації рухів та м'язового тону. За результатами обох тестів найбільшу активність виявила сполука DSK-38, що вірогідно перевищувала активність сполуки порівняння 2-ЕТБІ на 5-ту добу експерименту в плавальному тесті та була зіставлена з нею в тесті «стрижень, що обертається».

Також була доведена спроможність досліджуваних сполук підвищувати фізичну працездатність на тлі гемічної гіпоксії, викликаной натрію нітритом. Найбільшу активність виявила сполука DSK-38, яка практично такою ж мірою, як і 2-ЕТБІ, збільшувала тривалість плавання щурів з гіпоксією відповідно на 64% і 58% ( $p < 0,05$ ). Ці дані та результати попереднього дослідження підтверджують наявність у досліджуваних сполук антигіпоксичної активності.

За вищенаведеними результатами була визначена сполука-лідер натрієва сіль 4-(2-оксо-3метил-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)бутанової кислоти (DSK-38), яка в умовах ЦГГМ в плавальному тесті перевищувала, а в умовах гемічної гіпоксії за величиною актопротекторного ефекту в дозі  $ED_{50}=4,8$  мг/кг відповідала ефекту 2-ЕТБІ в дозі 34,0 мг/кг. Актопротекторна дія DSK-38 в уск-

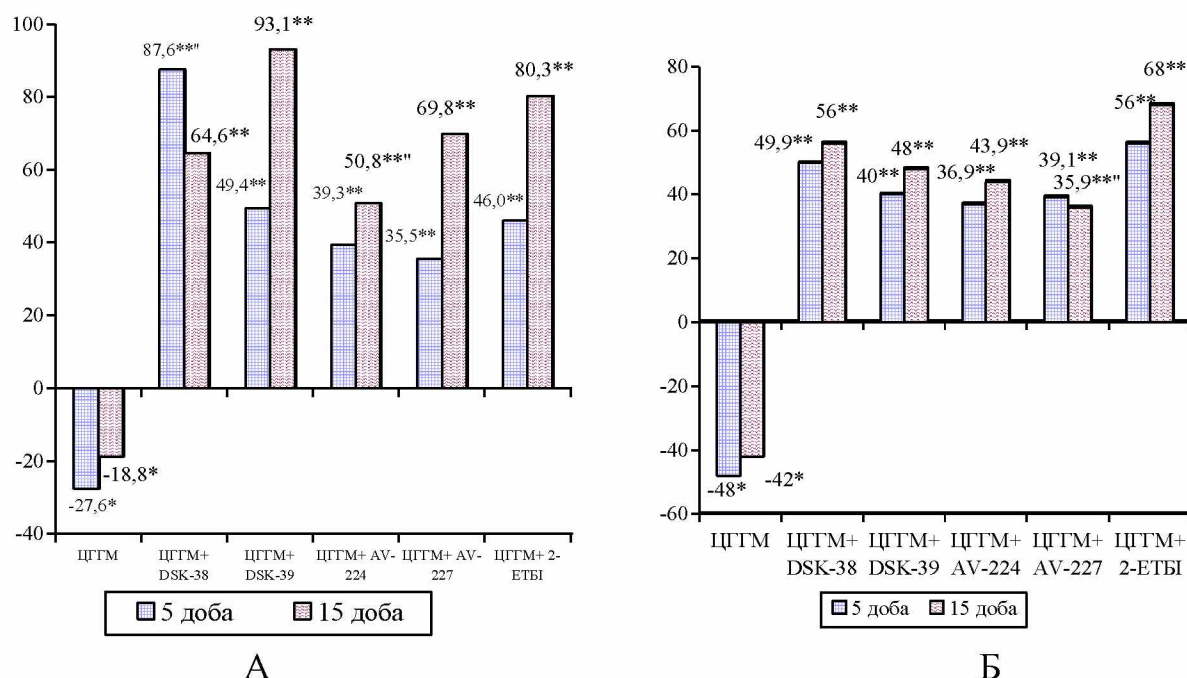


Рис. 2. Актопротекторна активність (0%) сполук AV-224, AV-227, DSK-38, DSK-39 та сполуки-порівняння 2-ЕТБІ на моделі ЦГТМ в плавному тесті щурів (А) та в тесті «стрижень, що обертається» (Б) на 5 та 15-ту добу дослідю.

Примітка. \* – відхилення вірогідні щодо показника інтактних тварин ( $p < 0,05$ ); \*\* – відхилення вірогідні щодо тварин контрольної патології ( $p < 0,05$ ); & – відхилення вірогідні щодо групи тварин, яким вводили сполуку-порівняння 2-ЕТБІ ( $p < 0,05$ ).

ладнених ішемією та гіпоксією умовах дослідю цілком узгоджується з даними Н. О. Семененко (2014) про наявність у цієї сполуки виразного церебропротекторного та протиішемічного ефектів. Тому для подальших досліджень актопротекторної активності було обрано саме сполуку DSK-38.

За результатами плавального тесту у щурів з експериментальним міокардитом встановлено, що сполука DSK-38, подібно до 2-ЕТБІ, сприяла вірогідному подовженню тривалості плавання щурів відповідно на 69,5 та 64,5% відносно тварин з нелікованим міокардитом (табл. 2). Це свідчить про її актопротекторну, протигіпоксичну та кардіопротекторну дію.

Актопротекторна дія сполуки DSK-38 була встановлена також і на тлі 15-денної гіпокінезії (ГК) у щурів. Курсове введення тваринам DSK-38 сприяло відновленню, як тривалості плавання, так і бігу «гіпокінетичних» тварин у третбані (рис. 3).

Встановлено, що обидві сполуки DSK-38 (4,8 мг/кг, в/о) та 2-ЕТБІ (34 мг/кг, в/о) поліпшували рухову (кількість горизонтальних та вертикальних стійок), орієнтувально-дослідницьку поведінку тварин та зменшували рівень емоційної напруги (кількість актів дефекації і грумінгу) порівняно з контролем. Згідно з даними літератури (Т. В. Гамма, И. И. Коренюк, 2006), отримані дані є ознакою наявності у сполуки DSK-38 анксиолітичної та антистресової дії.

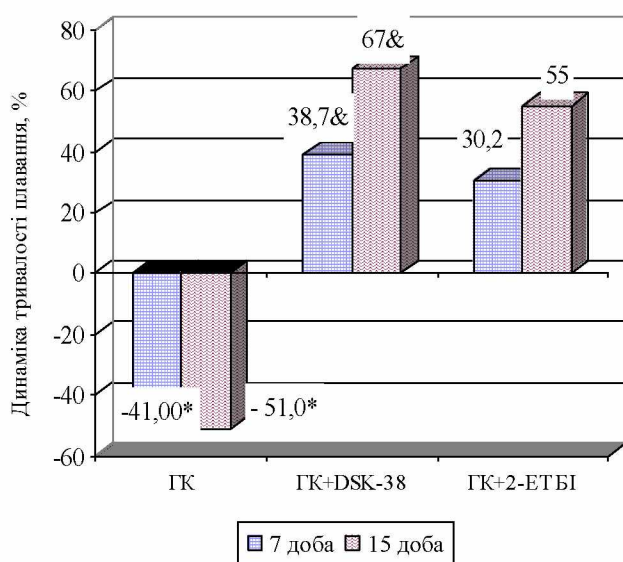
Таблиця 2

**Вплив сполуки DSK-38 та 2-ЕТБІ на тривалість плавання  
щурів з експериментальним міокардитом ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )**

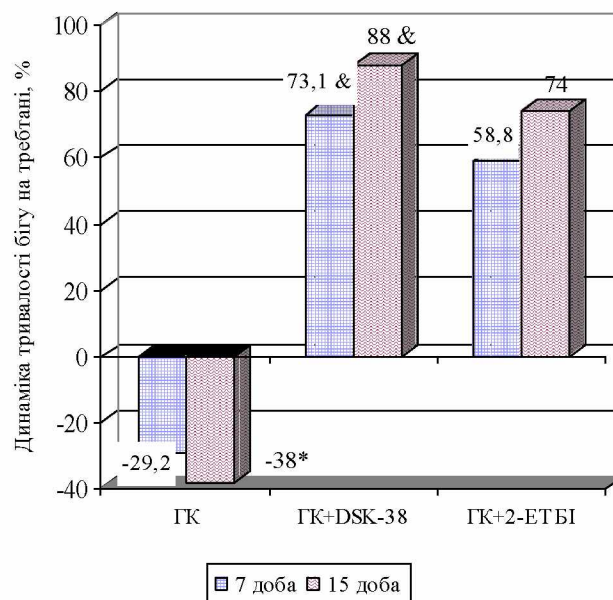
Умови досліджу	Тривалість плавання до повної втоми, с	Динаміка тривалості плавання (%) відносно	
		інтакту	КП
Інтактні щури	392,4±34,8	-	-
Міокардит без корекції (контрольна патологія, КП)	157,3±15,1*	-60,0	
Міокардит + DSK-38 (4,8 мг/кг)	266,1±30,2*/**	-32,2	+69,5
Міокардит + 2-ЕТБІ (34 мг/кг)	258,3±27,2*/**	-34,2	+64,5

Примітка. \* – відхилення вірогідні щодо інтактних тварин ( $p < 0,05$ );

\*\* – відхилення вірогідні щодо показника в групі тварин контрольної патології ( $p < 0,05$ );  $n$  – кількість тварин у групі.



А



Б

Рис. 3 Вплив курсового введення DSK-38 та 2-ЕТБІ на тривалість плавання (А) та бігу щурів у тректані (Б) на 7 та 15-ту добу гіпокінезії ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Примітка. \* – відхилення вірогідні щодо показника інтактних тварин ( $p < 0,05$ ); & – відхилення вірогідні щодо показника в групі тварин, яким вводили сполуку порівняння 2-ЕТБІ ( $p < 0,05$ );  $n$  – кількість тварин у групі.

Сприятливий вплив досліджуваної речовини на фізичну витривалість та психоемоційну сферу в умовах ГК був підтверджений при вивченні морфо-



логічної структури внутрішніх органів тварин. Встановлено, що на тлі курсового введення щурам з ГК сполуки DSK-38, так само як і 2-ЕТБІ, мало місце послаблення деструктивних та дегенеративних змін у внутрішніх органах: печінці, серці, наднирникових залозах, нирках і скелетних м'язах, що свідчить про оптимізацію адаптаційних процесів під впливом досліджуваних засобів.

Завданням наступного етапу було дослідження окремих механізмів акто-протекторної дії сполуки-лідера DSK-38 у порівнянні з 2-ЕТБІ (табл. 3).

Таблиця 3

**Вплив сполуки DSK-38 та 2-ЕТБІ на метаболічні процеси на тлі 15-денного тренування бігом у третбані,  $M \pm m$ ,  $n=6$**

Показники	Інтактні тварини	Після фізичного навантаження		
		0,9% NaCl (контроль)	DSK-38	2-ЕТБІ
АТФ, мкмоль/г	3,78±0,23	2,19±0,18*	2,98±0,26**	3,02±0,25**
АДФ, мкмоль/г	0,76±0,06	0,99±0,06	0,75±0,05**	0,73±0,05**
АМФ, мкмоль/г	0,172±0,020	0,320±0,03*	0,157±0,01**	0,170±0,02**
Енергетичний заряд	0,883±0,010	0,760±0,020	0,863±0,010	0,864±0,010
Глікоген, мг/г	22,7±1,8	15,7±1,1*	20,7±1,6**	19,5±1,7
Глюкоза, мкмоль/г сухої тканини	4,75±0,36	5,37±0,42	6,79±0,54**	6,51±0,48**
ТБК-АП, ммоль/г	11,4±1,3	52,6±5,8*	15,5±1,4**	16,7±1,7**
ВГ, мкмоль/г	1,54±0,12	1,22±0,11	1,58±0,14	1,49±0,12
Сироватка крові				
Лактат, ммоль/л	1,61±0,13	7,76±0,72*	2,17±0,12*/**	2,95±0,19*/**
Піруват, ммоль/л	0,60±0,05	0,89±0,06*	0,61±0,04**	0,68±0,05**
Лактат/піруват	2,82±0,34	8,46±0,72*	3,34±0,41**	4,46±0,26*/**
Загальні ліпіди, г/л	2,71±0,19	3,26±0,32	2,16±0,27**	2,38±0,21
Гомогенат печінки				
РНК, мкг/мл	14,6±1,17	16,7±0,24*	22,5±1,9*/**	21,5±1,7*/**
ДНК, мкг/мл	71,2±7,53	80,27±2,95*	89,9±5,75*/**	88,9±7,61*/**
Глікоген, мг/г	54,4±2,66	61,4±2,83*	77,9±14,28*/**	77,0±13,94*/**

Примітка. \* – відхилення вірогідні щодо інтактних тварин ( $p < 0,05$ );

\*\* – відхилення вірогідні щодо тварин контрольної патології ( $p < 0,05$ );

n – кількість тварин у групі.

Встановлено, що щоденне введення сполуки DSK-38 (4,8 мг/кг, в/о), як і 2-ЕТБІ (34,0 мг/кг, в/о), щурам на тлі 14-денного тренування бігом у третбані сприяло вірогідному зростанню ( $p < 0,05$ ) рівня РНК та ДНК в печінці, що свідчить про посилення білоксинтетичних процесів. З даних літератури (А.В. Смирнов, 1993; Н. Н. Каркищенко и соавт., 2014) відомо, що серед білків, що підсилено синтезуються на тлі дії бемітилу, основне значення для підтримки фізичної праце-

здатності мають ферменти глюконеогенезу та антиоксидантного захисту. Введення DSK-38, як і 2-ЕТБІ, на фоні фізичного навантаження супроводжується усуненням енергодефіциту – нормалізацією рівня аденіннуклеотидів та енергетичного заряду в скелетних м'язах, підвищенням рівня ( $p < 0,05$ ) енергетичного палива для м'язової роботи – глюкози та глікогену в скелетних м'язах (табл. 3). Вказані зміни корелювали з аналогічною динамікою зростання рівня глікогену в печінці та зниженням глюкози в крові. Водночас під впливом DSK-38, в такій же мірі, як і на тлі дії 2-ЕТБІ, відбувалось вірогідне зменшення ( $p < 0,05$ ) в крові лактату відповідно на 72 та 62% відносно контрольної групи – одного із факторів, що гальмують фізичну працездатність (С. А. Олейник и соавт., 2010). Під дією DSK-38 спостерігалось вірогідне зниження ( $p < 0,05$ ) вмісту загальних ліпідів у сироватці крові відносно контролю, що може бути свідченням їх використання як ще одного джерела енергозабезпечення (Р. Мохан и соавт., 2001; О.Я. Міщенко, 2002). Крім того, на тлі дії сполуки DSK-38, як і 2-ЕТБІ, мало місце вірогідне зниження ( $p < 0,05$ ) вмісту ТБК-АП відповідно на 70,5 і 68,2% відносно контролю та збереження рівня ВГ на рівні інтактного контролю, що свідчить про здатність досліджуваних засобів чинити нормалізуючий вплив на порушений про/антиоксидантний баланс та мембранні процеси, які порушуються внаслідок посилення ПОЛ. Отже, антиоксидантний механізм є ще однією складовою актопротекторної дії DSK-38.

Викликана дією DSK-38 та 2-ЕТБІ оптимізація адаптивних процесів у тренуваних щурів проявилась вірогідним зростанням ( $p < 0,05$ ) тривалості бігу щурів у третбані до відмови відповідно на 92,1% та 107,1% відносно контролю. Сполука DSK-38 в дозі 4,8 мг/кг (у 7 разів меншій за дозу 2-ЕТБІ) виявляла актопротекторний ефект, що відповідав ефекту сполуки-порівняння 2-ЕТБІ в дозі 34 мг/кг. Це свідчить про її перевагу над референс-сполукою.

Важливе значення в механізмі актопротекторної дії сполуки DSK-38, як і 2-ЕТБІ, мають антигіпоксичні властивості. Встановлено, що в умовах гострої асфіксії сполука DSK-38, як і 2-ЕТБІ та мексидол, при одноразовому профілактичному введенні вірогідно ( $p < 0,05$ ) збільшували тривалість БЕАС порівняно з контрольною групою відповідно на 32; 36 та 54 %. В умовах ЦГГМ сполука DSK-38 сприяла вірогідному ( $p < 0,05$ ) зниженню летальності тварин на 12 год досліду порівняно з контролем (28,6% проти 85,7%).

Узагальнюючи результати проведених досліджень, можна зазначити, що досліджуваним похідним (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот притаманна виражена актопротекторна дія в звичайних та в ускладнених умовах експерименту (гіпо- та гіпертермія, гемічна та циркуляторна гіпоксія, гіпокінезія, міокардит), в найбільшій мірі ця дія притаманна натрієвій солі 4-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)бутанової кислоти (сполука DSK-38). За виразністю актопротекторного ефекту вказана сполука співставляється, а, подекуди, і переважає речовину порівняння 2-ЕТБІ. Механізм актопротекторного ефекту DSK-38, як і 2-ЕТБІ, реалізується шляхом активації неспецифічного протеїнсинтезу, наслідком чого є покращення метаболічних процесів і усунення енергодефіциту у скелетних м'язах; норма-

лізації порушеного прооксидантно-антиоксидантного балансу, а також завдяки антигіпоксичним властивостям.

За результатами вивчення гострої токсичності встановлено, що згідно з класифікацією К. К. Сидорова (1973) сполука DSK-38 відноситься до класу практично нетоксичних сполук, оскільки її ЛД<sub>50</sub> при в/о введенні щурам і мишам становить відповідно 2820 та 2240 мг/кг.

Отже, сполука DSK-38 є перспективною для подальшого вивчення з метою обґрунтування доцільності створення нового конкурентоспроможного вітчизняного актопротектора.

## ВИСНОВКИ

Зниження фізичної працездатності в житті цивільних людей негативно позначається на якісних його характеристиках, а у людей екстремальних професій набуває життєво важливого значення: може не лише завадити виконанню професійних завдань, але й нести небезпеку для життя людини. Тому ефективна і безпечна фармакологічна корекція втоми і зниженої працездатності є актуальною.

У дисертації наведено теоретичні узагальнення та нове вирішення наукової задачі, спрямованої на підвищення фізичної витривалості, як у звичайних, так і в ускладнених умовах, шляхом розробки та використання нового актопротекторного засобу із ряду похідних (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3-с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот.

1. Встановлено, що новим похідним (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3-с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот притаманна актопротекторна активність, яка є більш виразною у сполук AV-224 (318%), AV-227 (205%), DSK-38 (291%), DSK-39 (171%). Величина актопротекторної дії зумовлена гетероциклічним фрагментом і залежить від природи замісників у третьому, шостому та десятому положеннях. Більш виразна активність характерна для сполук, які в шостому положенні містять карбоксиалкільні (карбокси-пропіл або бутіл) замісники, а у третьому положенні – метильний та арильний замісники з радикалом (метокси-, флюоро-, ізопропіл), який підвищує ліпофільність молекули. Суттєво підвищує активність наявність галогенів (хлор, бром) в десятому положенні (сполуки AV-224 та AV-227).

2. Встановлено, що одноразове внутрішньоочеревинне введення щурам сполук DSK-38 (2,5-10,0 мг/кг), DSK-39 (5,0-10,0 мг/кг), AV-224 (5,0-10,0 мг/кг), AV-227 (2,5-10,0 мг/кг), як і 2-ЕТБІ (25-50 мг/кг), викликає дозозалежне зростання тривалості плавання тварин в нормотермічних умовах. ЕД<sub>50</sub> зазначених речовин становлять відповідно: 4,8; 5,5; 5,6; 4,2 мг/кг, які значно нижчі за ЕД<sub>50</sub> сполуки порівняння 2-ЕТБІ (34,0 мг/кг). Доведено, що курсове п'ятиденне введення досліджуваних сполук AV-224, AV-227, DSK-38, DSK-39 в дозах, що становлять їх ЕД<sub>50</sub> за плавальним тестом, сприяє вірогідному ( $p < 0,05$ ) зростанню тривалості бігу тварин у третбані відповідно на 263,5; 108,4; 133,0; 102,0 % проти 80 % на тлі 2-ЕТБІ, та часу утримання на стрижні, що обертається, відповідно на 204,4; 74,4; 136,5; 108,0% проти 72,3% на тлі 2-ЕТБІ.



3. Встановлена актопротекторна дія найбільш активних сполук в ускладнених умовах досліджу. На тлі гіпер- та гіпотермії досліджували сполуки AV-224, DSK-38, AV-227, DSK-39 в дозах, що дорівнюють їх  $ED_{50}$ , за величиною актопротекторного ефекту практично співставлялись зі сполукою порівняння: відносно контрольного показника тривалість плавання в умовах гіпертермії зростає ( $p < 0,05$ ) відповідно на 112,7; 76,9; 75,5; 63,9% проти 59,6 % на тлі дії 2-ЕТБІ, а в умовах гіпотермії – на 57,4; 47,2; 37,6; 19,4% проти 33,5 % на тлі дії 2-ЕТБІ. Курсове 15-денне введення тваринам з циркуляторною гіпоксією головного мозку та превентивне одноразове введення щурам з гемічною гіпоксією сполук DSK-38, DSK-39, AV-224, AV-227 в дозах, що становлять їх  $ED_{50}$ , сприяє вірогідному зростанню ( $p < 0,05$ ) фізичної витривалості щурів: на тлі ЦГГМ відповідно на 64,6; 93,1; 50,8; 69,9%, на тлі ГГ – відповідно на 56,0; 48,0; 43,9; 35,9% відносно контролю. На даних моделях за виразністю актопротекторного ефекту досліджували сполуки не поступались ефекту сполуки-порівняння.

4. Встановлено, що сполука-лідер DSK-38 в дозі 4,8 мг/кг сприяла вірогідному подовженню ( $p < 0,05$ ) тривалості плавання щурів з модельованим міокардитом на 69,5% відносно нелікованих тварин, що відповідало ефекту сполуки порівняння 2-ЕТБІ (64,5%) в дозі 34 мг/кг та є підтвердженням її актопротекторної та кардіопротекторної дії. Речовина DSK-38 відноситься до класу практично нетоксичних сполук (при в/о введенні щурам і мишам  $LD_{50}$  становить відповідно 2820 та 2240 мг/кг).

5. В умовах гіпокінезії курсове 15-денне введення сполуки-лідера DSK-38 (4,8 мг/кг в/о) сприяє зростанню ( $p < 0,05$ ) фізичної витривалості щурів у плавальному тесті на 67% та бігу у третбані на 88%, поліпшенню рухової, орієнтувально-дослідницької активності тварин та зменшенню рівня їх емоційної напруги порівняно з контролем, а також зменшенню ознак деструктивних і дистрофічних змін у печінці, серці, нирках, наднирниках та скелетних м'язах та посиленню в них адаптаційних процесів. За ефективністю на даній моделі сполука-лідер DSK-38 не поступається сполуці порівняння 2-ЕТБІ.

6. Встановлено, що механізм актопротекторної дії сполуки DSK-38, подібно до 2-ЕТБІ, пов'язаний зі здатністю активувати неспецифічний протеїн-синтез (підвищення вмісту РНК та ДНК в печінці відповідно в 1,35 та 1,1 разу,  $p < 0,05$ ) та відновлювати рівень АТФ (підвищення рівня АТФ в скелетних м'язах в 1,4 разу,  $p < 0,05$ ), зберігати вуглеводний резерв у скелетних м'язах та печінці (підвищення глікогену в 1,3 разу,  $p < 0,05$ ), а також з нормалізацією прооксидантно/антиоксидантного балансу організму (зниження вмісту ТБК-АП в скелетних м'язах на 70,5%,  $p < 0,05$ ) і наявністю антигіпоксичних властивостей.

7. Натрієва сіль 4-(3-метил-2-оксо-2H-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)бутанової кислоти (сполука DSK-38) є перспективною для подальшого поглибленого вивчення її фармакологічних властивостей для створення нового конкурентоспроможного вітчизняного актопротектора. Встановлена залежність

«структура-ефект» є підставою для цілеспрямованого синтезу речовин з актопротекторною дією в ряду похідних (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3 - с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Характеристика дії похідних (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-триазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот на динамічну та статичну витривалість щурів / [О. В. Почелова, Г. І. Степанюк, Н. Г. Чорноіван, С. І. Коваленко, О. Ю. Воскобойнік] // Український біофармацевтичний журнал. – 2013. – №4 (27). – С. 108–111. *(Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз результатів, підготовка статті).*

2. Характеристика актопротекторної дії похідних (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-триазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот за різних температурних режимів / О. В. Почелова, Г. І. Степанюк, О. М. Денисюк, Н. Г. Чорноіван // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – №3(34). – С. 54–57. *(Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз результатів, підготовка статті).*

3. Effect of derivatives of (3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]-triazino-[2,3-с]-quinazolin-6-il) carboxylic acids on the physical endurance under conditions of hypoxia / E. V. Pochelova, G. I. Stepanyuk, O. P. Drachuk, N. G. Stepanyuk // Curierul Medical. – 2014. – Vol. 57, № 1. – P. 26–29. *(Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз результатів, підготовка статті).*

4. Актопротекторна активність солей (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-триазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їх галогенвмісних аналогів / Г. І. Степанюк, О. В. Почелова, Н. Г. Степанюк, С. І. Коваленко, О. Ю. Воскобойнік // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 4-5 (40). – С. 90–95. *(Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз результатів, підготовка статті).*

5. Порівняльна оцінка дії натрієвої солі 4-(3-метил-2-оксо-2h-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)бутанової кислоти та бемітилу на метаболічні процеси в скелетних м'язах щурів в умовах тривалих фізичних навантажень / О. В. Почелова, Г. І. Степанюк, Н. В. Заїчко, Н. Г. Степанюк / Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2015. – №1 (22). – С. 102–105. *(Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз результатів, підготовка статті).*

6. Пат. України на корисну модель № 81634 МПК (2013.01) А61К 31/00. Солі (3-R-8-R1-9-R2-10-R3-11-R4-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)алкілкарбонових кислот, що підвищують фізичну витривалість організму / Г. І. Степанюк, О. В. Почелова, Н. Г. Чорноіван, О. Ю. Воскобойнік, Д. Ю. Скорина, С. І. Коваленко; заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – № u 2012 14626, заявл. 20.12.2012; опубл. 10.07.2013, Бюл. № 13. – 6 с. *(Особистий внесок: участь в експерименті, оформлення патенту).*

7. Пошук речовин, спроможних підвищувати фізичну витривалість організму, серед похідних (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]-триазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот / Г. І. Степанюк, О. В. Почелова, О. І. Альчук, С. І. Кова-

ленко, Д. Ю. Скорина // IV Національний з'їзд фармакологів України: тези доповідей, м. Київ, 10-12 жовтня 2011 р. / Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – №5 (24). – С. 305–306.

8. Пошук речовин з актопротекторною дією серед похідних (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4]-триазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот / Є. О. Самбуров, О. О. Столяренко, О. В. Почелова, Д. Ю. Скорина, О. Ю. Воскобойнік // Медицина та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє: тези доп. 72-ї Всеукраїнської наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченої Дню науки: тези доп., м. Запоріжжя, 19-20 квітня 2012 р. – З., 2012. – С. 218–219.

9. Столяренко О. О. Дослідження актопротекторної дії нових похідних (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4]-триазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот (ПАКК) / О. О. Столяренко, Є. С. Самбуров, О. В. Почелова // 17-й Міжнародний мед. конгрес студентів та молодих вчених: тези доп., м. Тернопіль, 22-24 квітня 2013 р. – Т., 2013. – С. 326.

10. Пошук речовин з актопротекторним ефектом серед нових похідних (3-R-оксо-2Н-[1,2,4]-триазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот / О. В. Почелова, Г. І. Степанюк, Н. Г. Черноіван та ін. // Клінічна фармація: 20 років в Україні: мат. Національного конгресу, м. Харків, 21-22 березня 2013 р. – Х., 2013. – С. 184–185.

11. Почелова О. В. Вплив похідних (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот на фізичну витривалість інтактних щурів / О. В. Почелова, О. Ю. Воскобойнік // Актуальні питання експериментальної, клінічної та профілактичної медицини: мат. 4-а міжн. наук.-практ. конф. молодих вчених, м. Вінниця, 17 травня 2013 р. – Вінниця, 2013. – С. 90.

12. Оцінка протигіпоксичної дії похідних (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот (ПКК) / О. В. Почелова, Г. І. Степанюк, О. П. Драчук, Г. Г. Черноіван // Клінічна фармакологія та фармакотерапія захворювань у світлі доказової медицини: мат. VII Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнародною участю з клінічної фармакології, м. Вінниця, 25-26 листопада 2013 р. – Вінниця, 2013. – С. 106–107.

13. Вплив сполук DSK-38 та AV-227 на фізичну витривалість щурів в умовах гіпоксії / О. В. Жовмір, А. В. Ожиганов, О. В. Почелова, В. А. Дума-нецький // Перший крок в науку – 2013: мат. X Міжнародної студентської наук. конф., м. Вінниця, 11-12 квітня 2013 р. – Вінниця, 2013. – С. 283.

14. Порівняльна оцінка актопротекторної дії сполуки DSK-38 та бемітилу у щурів на тлі тривалої гіпокінезії / О. В. Почелова, Н. Г. Степанюк, О. Ю. Воскобойнік, Г. І. Степанюк // мат. 15-й конгресу Світової Федерації Українських Лікарських товариств, СФУЛТ, м. Чернівці, 16-18 жовтня 2014 р. – Чернівці – Київ – Чикаго, 2014. – С. 2014.

15. Почелова О. В. Вплив похідних хіназоліну сполуки DSK-38 та бемітилу на морфоструктуру скелетних м'язів щурів в умовах тривалої гіпокінезії / О. В. Почелова, А. П. Король, Г. І. Степанюк // Досягнення клінічної фармакології та фармакотерапії на шляхах доказової медицини:

мат. VIII Всеукраїнської наук.-практ. конф. з між нар. участю, м. Вінниця, 9-10 листопада 2015 р. – Вінниця, 2015. – С. 207–209.

16. Характеристика актопротекторного ефекту та механізмів дії похідного хіназоліну (сполука DSK-38) в експерименті / О. В. Почелова, О. І. Альчук., Н. Г. Степанюк, Д. Ю. Скорина // мат. VI міжн. наук.-практ. конф. молодих вчених, м. Вінниця, 15 травня 2015 р. – Вінниця, 2015. – С. 82.

17. Степанюк Г. І. Застосування похідних (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3-с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот в якості актопротекторних засобів при різних температурних режимах: інформ. лист Укрмедпатентінформу МОЗ України № 388–2014 / Г. І. Степанюк, О. П. Драчук, О. В. Почелова. – К., 2014. – 4 с. (*Особистий внесок: участь в експерименті, аналізі результатів, підготовці тез*).

### АНОТАЦІЯ

**Почелова О. В. Актопротекторні властивості похідних (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот (експериментальне дослідження).** – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05. – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2016.

Встановлено, що одноразове внутрішньо очеревинне (в/о) введення в організм щурів нових похідних (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот в дозі 10 мг/кг (за винятком DSK-70, DSK-106, AV-225 та AV-229) подібно до 2-ЕТБІ (бемітилу, 50 мг/кг) викликає вірогідне зростання показника тривалості плавання щурів у заданих умовах експерименту, що є ознакою наявності у досліджуваних речовин, як і у референс-сполуки, актопротекторної активності. Зазначена дія в найбільшій мірі проявилась у натрієвої солі 4-(2-оксо-3-феніл-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)бутано-вої кислоти (сполука DSK-38). Актопротекторний ефект DSK-38 виявляється як у звичайних, так і в ускладнених умовах експерименту (гіпо- та гіпертермія, гемічна та циркуляторна гіпоксії, експериментальний міокардит, гіпокінезія). При цьому за величиною вказаної дії сполука DSK-38 не поступається сполуці порівняння 2-ЕТБІ.

Курсове 15-денне введення DSK-38 (4,8 мг/кг, в/о), як і 2-ЕТБІ (34,0 мг/кг, в/о), гіпокінезованим щурам сприяло послабленню деструктивних і оптимізації адаптаційних процесів у скелетних м'язах та внутрішніх органах тварин.

Механізм актопротекторної дії сполуки DSK-38, подібно до 2-ЕТБІ, зумовлений наявністю протигіпоксичного ефекту, спроможністю стимулювати синтез РНК та ДНК, усувати енергодефіцит, зберігати вуглеводні резерви та нормалізувати порушену прооксидантно-антиоксидантну рівновагу.

*Ключові слова:* актопротекторна дія, фізична витривалість, антигіпоксична дія, похідні (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хіназолін-6-іл) алкілкарбонових кислот, 2-етилтіобензімідазолу гідробромід (2-ЕТБІ).

## АННОТАЦИЯ

**Почелова Е. В. Актопротекторные свойства новых производных (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хиназолин-6-ил) алкилкарбоновых кислот (экспериментальное исследование). – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности – 14.03.05. – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МОЗ Украины, Харьков, 2016.

Диссертационное исследование посвящено поиску актопротекторной активности в ряду новых производных (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хиназолин-6-ил) алкилкарбоновых кислот, выявлению соединения-лидера, перспективного для создания на его основе нового эффективного актопротектора.

Установлено, что одноразовое внутрибрюшинное (в/бр) введение в организм крыс новых производных (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3 -с]хиназолин-6-ил) алкилкарбоновых кислот в дозах 10 мг/кг (за исключением DSK-70, DSK-106, AV-225 и AV-229), подобно референс-веществу 2-ЭТБИ (бемитилу, 50 мг/кг), сопровождалось повышением физической выносливости крыс (плавательный тест), что свидетельствует о наличии актопротекторной активности, которая в наибольшей мере проявилась у натриевой соли 4-(2-оксо-3-фенил-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил)бутановой кислоты (соединение DSK-38).

Актопротекторный эффект DSK-38 и референс-вещества 2-ЭТБИ в дозах, равных их ЕД<sub>50</sub>, проявился как в обычных, так и в осложненных условиях эксперимента (гипо- и гипертермия, гемическая и циркуляторная гипоксии, миокардит, гипокинезия). При этом по величине указанного действия соединение DSK-38 сопоставлялось, а порой и преобладало референс-вещество 2-ЭТБИ. Сравнение использованных доз соединения DSK-38 и 2-ЭТБИ свидетельствует, что соединение DSK-38 по показателю ЕД<sub>50</sub> превосходит референс-вещество в 7,1 раза.

Пятнадцатидневное лечение животных с острым нарушением мозгового кровообращения и превентивное одноразовое введение крысам с гемической гипоксией соединения DSK-38 (4,8 мг/кг, в/бр), как и 2-ЭТБИ (34,0 мг/кг, в/бр), способствовало восстановлению физической выносливости крыс в заданных условиях эксперимента. На фоне гемической гипоксии длительность плавания животных под воздействием исследуемых веществ достоверно возрастала соответственно на 64,0 и 58,0 %, при экспериментальном миокардите – на 69,5 и 64,5 % относительно контроля.

Курсовое (15 дней) введение крысам в условиях гипокинезии DSK-38 (4,8 мг/кг, в/бр), в такой же мере, как и 2-ЭТБИ (34,0 мг/кг, в/бр), способствовало приросту динамической выносливости животных в тестах плавания и бега на третбане. Это коррелировало с повышением двигательной, ориентировочно-исследовательской активности и уменьшением уровня эмоциональной тревоги животных в тесте «открытое поле». По данным морфологического исследования введение соединения DSK-38 (4,8 мг/кг, в/бр), как и 2-ЭТБИ (34,0 мг/кг, в/бр), стрессированным гипокинезией крысам способствовало ослаблению дес-

труктивных и оптимизации адаптационных процессов в скелетных мышцах, печени, почках, надпочечниках и сердце животных.

Механизм актопротекторного действия соединения DSK-38, подобно 2-ЭТБИ (бемитилу), обусловлен наличием противогипоксического эффекта, способностью стимулировать неспецифический протеинсинтез (РНК, ДНК), нормализовать метаболические процессы, возобновляя уровень АТФ и сохраняя углеводные резервы, а также восстанавливать нарушенный прооксидантно-антиоксидантный баланс в печени и скелетных мышцах.

Согласно классификации Сидорова К. К. (1973) вещество DSK-38 относится к классу практически нетоксичных соединений (при в/бр введении крысам и мышам ЛД<sub>50</sub> составляет соответственно 2820 и 2240 мг/кг).

*Ключевые слова:* актопротекторное действие, физическая выносливость, антигипоксическое действие, производные (3-*R*-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино [2,3-*c*]хиназолин-6-ил) алкилкарбоновых кислот, 2-этилтиобензимидазола гидро-бромид (2-ЭТБИ).

## SUMMARY

**Pochelova O.V. Actoprotective properties of derivatives (3-*R*-2-oxo-2H-[1,2,4] triazine [2,3-*C*] quinazoline-6-yl) alkylcarboxylic acids (experimental research) (experimental research).** – Manuscript copyright.

The thesis for Candidate of Pharmaceutical Sciences degree in speciality – 14.03.05. – Pharmacology. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2016.

It was established that a single intraperitoneal introduction of new derivatives (3-*R*-2-oxo-2H-[1,2,4] triazine [2,3-*C*] quinazoline-6-yl) alkylcarboxylic acid (10 mg/kg) (except DSK-70, DSK-106, AV-225 and AV-229), as 2-ETBI (bemityl, 50 mg/kg), to rats leads to increasing of swimming test duration, which may be a sign of their actoprotective activity. This effect was the most in sodium salt 4-(2-oxo-3-phenyl-2H-[1,2,4]triazine[2,3-*c*]quinazoline-6-yl)butanic acid (DSK-38). DSK-38 demonstrated actoprotective effect in normal and difficult conditions of the experiment (hypo- and hyperthermia, hemic and circulatory hypoxia, experimental myocarditis, hypokinesia). It was the same and sometimes prevailed reference actoprotector 2-ETBI.

Courses of DSK-38 15-day administration (4,8 mg/kg, i/p) as 2-ETBI (34,0 mg/kg, i/p) to hypokinetic rats lead to decrease of the destructive processes and optimization of adaptation processes in skeletal muscles and internal organs of animals.

The mechanism of actoprotective action of DSK-38, as 2-ETBI, consists of antihypoxic effect, the ability to stimulate synthesis of RNA and DNA, to eliminate deficiency of energy, to store carbohydrate reserves and to normalize prooxidant-antioxidant balance in the blood, liver and skeletal muscles of rats.

*Keywords:* actoprotective effect, physical endurance, antihypoxic action, derivatives (3-*R*-2-oxo-2H-[1,2,4] triazine [2,3-*c*] quinazoline-6-yl)alkylcarboxylic acids, 2-etiltiobenzimidazol hydrobromide (2-ETBI).

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ:**

АДФ – аденозиндифосфорна кислота;  
АМФ – аденозинмонофосфорна кислота;  
АТФ – аденозинтрифосфорна кислота;  
АОС – антиоксидантна система;  
БЕАС – біоелектрична активність серця;  
в/о – внутрішньоочеревинно;  
ВГ – відновлений глутатіон;  
ГК – гіпокінезія;  
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота;  
ЕД<sub>50</sub> – середньоефективна доза;  
ЕКГ – електрокардіограма;  
ЛД<sub>50</sub> – середньосмертельна доза.  
РНК – рибонуклеїнова кислота;  
ТБК-АП – ТБК-активні продукти;  
ТІ – терапевтичний індекс;  
ЦГГМ – циркуляторна гіпоксія головного мозку;  
2-ЕТБІ – 2-етилтіобензімідазолу гідробромід.