

УДК 615.31:547.857.4

А.В. ТАРАН, О.П. МАТВІЙЧУК, Б.А. САМУРА, М.І. РОМАНЕНКО, Л.В. ЄВСЄЄВА

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ АНТИГІПОКСИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ВІД ХІМІЧНОЇ СТРУКТУРИ В РЯДУ ПОХІДНИХ 7-п-МЕТИЛБЕНЗИЛ-8-ЗАМІЩЕНИХ ТЕОФІЛІНУ

Проведені експериментальні дослідження залежності антигіпоксичної активності похідних 7-п-метилбензил-8-заміщених теофіліну. Встановлено, що найбільший антигіпоксичний ефект виявила сполука №8 (7-п-метилбензил-8-(α -метил)-п-метоксibenзиліденгідразинотеофіліну), яка в умовах гострої нормобаричної гіпоксії зменшує витрати АТФ на біологічне окиснення у мітохондріях клітин та подовжує тривалість життя щурів на 109,2%.

Похідні 7-п-метилбензил-8-заміщених теофіліну є перспективною групою органічних сполук для подальшого проведення цілеспрямованого синтезу та фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі ефективних лікарських антигіпоксичних препаратів.

Ключові слова: гіпоксія; антигіпоксанти; похідні 7-п-метилбензил-8-заміщених теофіліну

ВСТУП

Нестача надходження кисню до тканин живого організму або порушення його утилізації в процесі біологічного окиснення, може призвести до різних захворювань людини. Гіпоксію характеризують як невідповідність енергопотребі клітин в енергопродукції у системі мітохондріального окиснювального фосфорилування [2]. Порушення утворення енергії в гіпоксичній клітині залежать від розладу зовнішнього дихання, кровообігу у легенях, кисне-транспортної функції крові, від порушення системного, регіонального кровообігу та процесів мікроциркуляції [3]. Зменшення постачання кисню до організму призводить до розвитку різкого гальмування процесів окиснення в мітохондріях та пригнічення процесів фосфорилування, що призводить до зменшення основного джерела енергії АТФ у клітинах організму [6, 12].

Зменшення постачання кисню в організмі людини викликає зміну основних функцій біологічних мембран, що призводить до розвитку патологічних процесів, які пригнічують ліпідний бішар, мембранні ферменти, та призводить до порушення бар'єрної, рецепторної і каталітичної функцій біологічних мембран [4, 16]. Основними причинами цих порушень є дефіцит АТФ і активація на його фоні фосфоліполізу та перекисного окиснення ліпідів. Зменшення фосфоліпідів та пригнічення їх синтезу призводить до збільшен-

ня концентрації ненасичених жирних кислот та посилює їх перекисне окиснення [10, 14].

Для корекції гіпоксії використовують антигіпоксанти, які викликають антирадикальну дію та впливають на перекисне окиснення ліпідів [15]. Встановлено, що різні патологічні стани пов'язані з порушенням вільнорадикального окиснення в ліпідах біологічних мембран, що призводить до посилення перекисного окиснення ліпідів. Антигіпоксанти нормалізують вплив на енергетичний баланс у клітинах при гіпоксії та ішемії, стабілізують мітохондріальні мембрани, зменшують активність дегідрогенази циклу Кребса, запобігають відокремленню окиснення та фосфорилування, посилюють синтез АТФ на одиницю споживаного дефіцитного кисню [9, 11].

Мексидол володіє широким спектром фармакологічної активності. Він є ефективним при різних видах гіпоксії, підвищує стійкість організму до кисневозалежних патологічних станів (як-то шок, порушення мозкового кровообігу та ін.), гальмує окиснення жирних кислот, але не впливає на накопичення активованих жирних кислот у мітохондріях [5]. Під впливом триметазидину зростає окиснення пірувату та гліколітична продукція АТФ, зменшується концентрація АМФ і АДФ, гальмується накопичення лактату та спостерігається розвиток ацидозу, зменшується вільнорадикальне окиснення [16].

Незважаючи на терапевтичну ефективність, антигіпоксанти викликають побічну дію: диспептичні явища (нудоту, блювоту, біль у животі), головний біль, безсоння, відчуття серцебиття,

© А.В. Таран, О.П. Матвійчук, Б.А. Самура, М.І. Романенко, Л.В. Євсєєва, 2011

алергічні реакції та ін. [5]. У зв'язку з цим пошук нових антигіпоксантив є раціональним. Нашу увагу привернули похідні 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну, які були синтезовані на кафедрі біологічної хімії Запорізького державного медичного університету під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора Романенко М.І. [7].

Результати комп'ютерного прогнозу можливих видів фармакологічної активності похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну, виконаного за програмою PASS, свідчать про високу вірогідність наявності у них властивостей антигіпоксантив, що стало підставою для проведення даних досліджень.

Робота виконана згідно з науковою програмою науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету з проблеми «Створення нових лікарських препаратів» (номер державної реєстрації 0198U007008).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом дослідження вибрані 20 похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну (табл.). Структуру синтезованих сполук підтверджено за допомогою сучасних фізико-хімічних методів: елементного аналізу, УФ-, ІК-, ПМР-, мас-

спектрофотометричних досліджень. Чистота синтезованих сполук контролювалася методом тонкошарової хроматографії.

Дослідження антигіпоксичної активності синтезованих речовин проведено на моделі гострої нормобаричної гіпоксії у дослідах на білих щурах лінії Вістар. Для проведення досліджень відбирали самців однієї маси (у межах від 175 до 180 г). Дослідним щурам за допомогою металевого зонду вводили внутрішньоочеревинно досліджувані речовини в дозі 30 мг/кг у вигляді 3–5% тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80. Через 30 хв щурів поміщали в ізольовані камери об'ємом 1000 мл і вимірювали час до настання агонального стану тварин [8]. Як препарат порівняння використовували антигіпоксанти — аміналон (виробництва Київського вітамінного заводу). Аміналон вводили перорально одноразово в умовно терапевтичній дозі 25 мг/кг у вигляді (3–5) % тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80. Щурам контрольної групи вводили еквівалентну кількість 3–5% тонкодисперсної водної суспензії з твіном-80.

При проведенні експериментальних досліджень тварини знаходилися в стандартних умовах згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС з питань захисту хребетних тварин,

Таблиця

ВИВЧЕННЯ АНТИГІПОКСИЧНОЇ АКТИВНОСТІ 7-П-МЕТИЛБЕНЗИЛ-8- ЗАМІЩЕНИХ ТЕОФІЛІНУ (*n*=7)

Сполука №	Доза, мг/кг	Тривалість знаходження щурів у закритій камері		
		($M \pm m$), хв	% до контролю	Активність, %
1	19,3	30,8 \pm 1,09	118,5	18,5
2	18,4	34,4 \pm 1,12*	133,1	33,1
3	20,7	32,2 \pm 1,14*	123,9	23,9
4	20,1	34,2 \pm 1,06*	131,5	31,5
5	20,9	35,2 \pm 0,96*	135,4	35,4
6	20,2	31,2 \pm 1,12*	120,0	20,0
7	17,6	45,4 \pm 1,26*	174,6	74,6
8	16,9	54,4 \pm 1,32**	209,2	109,2
9	21,3	30,0 \pm 1,06	115,4	15,4
10	20,2	39,8 \pm 1,12*	153,1	53,1
11	16,0	45,4 \pm 1,08*	174,6	74,6
12	17,6	33,4 \pm 1,07*	128,5	28,5
13	20,7	27,3 \pm 0,87	103,8	3,8
14	21,8	47,2 \pm 1,14*	181,5	81,5
15	12,6	37,8 \pm 0,98*	145,4	45,4
16	14,5	45,2 \pm 1,15*	173,9	73,9
17	13,4	27,8 \pm 0,65	106,9	6,9
18	17,2	40,8 \pm 1,08*	156,9	56,9
19	17,5	29,6 \pm 1,06	113,8	13,8
20	15,9	32,2 \pm 1,13*	123,8	23,8
Мексидол	25,0	44,5 \pm 0,72*	171,1	71,1
Контроль	—	26,0 \pm 0,58	100	—

Примітка: *, ** — вірогідність результатів при $p < 0,05$ і $p < 0,01$, відповідно, в порівнянні з групою контролю.

яких використовували для експериментальних і інших наукових цілей [1].

Отримані результати оброблені загальноприйнятими методами варіаційної статистики по критерію *t* Стюдента з використанням програмного забезпечення «Windows-2000», електронних таблиць Excel [4].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати вивчення антигіпоксичної активності похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну наведено у таблиці. Встановлено, що досліджувані речовини збільшували тривалість життя щурів, яких поміщали в герметичні камери, в умовах гострої нормобаричної гіпоксії. Так, серед похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну найбільшу антигіпоксичну активність виявила сполука №8 — 7-*n*-метилбензил-8-(*a*-метил)-*n*-метоксибензиліденгідразинотеофілін, яка в дозі 30 мг/кг подовжувала тривалість життя щурів в умовах гострої нормобаричної гіпоксії на 109,2% ($p < 0,01$). Заміна (*a*-метил)-*n*-метоксибензиліденгідразинового радикалу (сполука №8) на *n*-бромобензиліденгідразинотеофілін (сполука №14), *o*-хлорбензиліденгідразинотеофілін (сполука №7), (2',3'-дигідроіндолон — 2'-іліден-3') гідразинотеофілін (сполука №11), *n*-гідроксибензиліденгідразинотеофілін (сполука №16), *n*-етоксибензиліденгідразинотеофілін (сполука №18), *n*-хлоробензиліденгідразинотеофілін (сполука №10) і (*a*-метил)-*n*-нітробензиліденгідразинотеофілін (сполука №15) призводить до зниження антигіпоксичної активності від 109,2% до 45,4%. Препарат порівняння аміналон також виявив антигіпоксичну дію та збільшував тривалість життя щурів на 71,1%.

Енергетичний стан клітин живого організму визначає АТФ, яка є головною ланкою процесів

що відбуваються у клітині і перебігають з виділенням або споживанням енергії [2]. Основна маса АТФ утворюється в результаті окиснювального фосфорилювання у дихальному ланцюгу мітохондрій, менша частина — при субстратному фосфорилюванні [6]. Можна припустити, що збільшення тривалості життя дослідних щурів в умовах гострої нормобаричної гіпоксії є результатом поліпшення метаболічних процесів та підвищення рівня АТФ у дихальному ланцюгу мітохондрій під дією досліджуваних синтетичних похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну.

Отримані дані з вивчення антигіпоксичної активності похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну є підставою для більш поглибленого дослідження механізмів антигіпоксичної активності з метою створення нового ефективного лікарського засобу з антигіпоксичною дією.

ВИСНОВКИ

1. Введення у 8-е положення молекули 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну (*a*-метил)-*n*-метоксибензиліденгідразинового радикалу приводить до виявлення найбільшого антигіпоксичного ефекту.
2. Сполука 7-*n*-метилбензил-8-(*a*-метил)-*n*-метоксибензиліденгідразинотеофіліну, в умовах гострої нормобаричної гіпоксії зменшує витрати АТФ на біологічне окиснення у мітохондріях клітин та збільшує тривалість життя щурів на 109,2%.
3. Похідні 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну є перспективною групою органічних сполук для подальшого проведення цілеспрямованого синтезу та фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі ефективних лікарських антигіпоксичних препаратів

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів / Под ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — С. 433–443.
2. Копцов С.В. Современные аспекты применения антигипоксантов в медицине критических состояний / С.В. Копцов, А.Е. Вахрушев, Ю.В. Павлов // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. — 2002. — №2. — С. 54–56.
3. Костюченко А.Л. Современные реальности клинического применения антигипоксантов / А.Л. Костюченко, Н.Ю. Семиголовский // ФАРМиндекс: ПРАКТИК. — 2002. — Вып.3. — С. 102–122.
4. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. — 15-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: ООО Изд-во Новая волна, 2009. — 1206 с.
6. Оковитый С.В. Антигипоксанты / С.В. Оковитый, А.В. Смирнов // Эксперимент.и клин. фармакол. — 2001. — Т. 64, № 3. — С. 76–80.
7. Прийменко Б.А. О взаимодействии 7-арилметил-8-бром-3-метилксантина с гидроксиламином / [Б.А. Прийменко, И.Н. Романенко, А.О. Прийменко, Н.И. Романенко и др.] // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Зб. наукових статей. — Вип. XV, Т. 3. — Запоріжжя: Вид-во ЗДМУ, 2006. — С. 215.
8. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии. / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура — М.: Медицина, 2000. — С. 308–328.
9. Geromel V. Coenzyme Q and idebenone in the therapy of respiratory chain disease: rationale and comparative benefits / V. Geromel, D. Chretien, P. Benit et al. // Mol. Genet. Metab. — 2002. — Vol. 77. — P. 21–30.
10. Khayat R. Obstructive sleep apnea: the new cardiovascular disease. Part I: Obstructive sleep apnea and the pathogenesis of vascular disease / R. Khayat, B. Patt, D. Hayes // Heart Fail Rev. — 2009. — Vol. 14, № 3. — P. 143–153.
11. Khazanov V.A. Cardioprotective effects of trimetazidine and a combination of succinic and malic acids in acute myocardial ischemia / V.A. Khazanov, A.A. Kiseliyova, K.Y. Vasiliev, G.A Chernyschova. // Bull. Exp. Biol. Med. — 2008. — Vol. 146, №2. — P. 218–222.
12. Pavlov O.O. Effect of antihypoxant actovegin on dynamics of markers of the oxygen cascade / O.O. Pavlov // Clin. Khir. — 2008. — № 9. — P. 57–59.
13. Philpott A. Development of a regimen for rapid initiation of perhexiline therapy in acute coronary syndromes / A. Philpott, S. Chandy, R. Morris, J.D. Horowitz // Intern. Med. J. — 2004. — Vol. 34, №6. — P. 361–363.
14. Stanley W.C. Energy metabolism in the normal and failing heart: potential for therapeutic interventions? / W.C. Stanley, M.P. Chandler // Cardiovasc. Res. — 2002. — Vol. 7. — P. 115–130.
15. Ucar Z.Z. Nocturnal hypoxia and arterial lactate levels in sleep-related breathing disorders / [Z.Z. Ucar, Z. Taymaz, A.E. Erbaycu et al.] // South. Med. J. — 2009. — Vol. 102, №7. — P. 693–700.
16. Wang X.H. Inhibition of hypoxia inducible factor by phenethyl isothiocyanate / X.H. Wang, B.E. Cavell, S.S. Syed Alwi, G. Packham // Biochem. Pharmacol. — 2009. — Vol. 78, №3. — P. 261–272.

УДК 615.31:547.857.4

А.В. Таран, Е.П. Матвийчук, Б.А. Самура, Н.И. Романенко, Л.В. Евсеева

ИССЛЕДОВАНИЯ ЗАВИСИМОСТИ АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОТ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ 7-*n*-МЕТИЛБЕНЗИЛ-8-ЗАМЕЩЕННЫХ ТЕОФИЛЛИНА

Проведены экспериментальные исследования зависимости антигипоксической активности от химической структуры в ряду производных 7-*n*-метилбензил-8-замещенных теофиллина. Установлено, что наибольший антигипоксический эффект проявило соединение № 8 (7-*n*-метилбензил-8-(*a*-метил) — метоксибензилиденгидразинотеофиллин), которое в условиях острой нормобарической гипоксии уменьшает затраты АТФ на биологическое окисление в митохондриях клеток и увеличивает продолжительность жизни крыс на 109,2%.

Производные 7-*n*-метилбензил — 8-замещенных теофиллина является перспективной группой органических соединений для дальнейшего проведения целенаправленного синтеза и фармакологического скрининга с целью создания на их основе эффективных лекарственных антигипоксических препаратов.

Ключевые слова: гипоксия; антигипоксанты; производные 7-*n*-метилбензил-8-замещенных теофиллина

UDC 615.31:547.857.4

A.V. Taran, Ye.P. Matviychuk, B.A. Samura, N.I. Romanenko, L.V. Yevseyeva

STUDY OF ANTIHYPOXIC ACTIVITY OF DEPENDING THE CHEMICAL STRUCTURE IN A SERIES DERIVATIVES 7-P-METYL BENZYL-8-SUBSTITUTED THEOPHYLLINE

Experimental researches of dependence of antihypoxic activity are conducted from a chemical structure among the derivatives of 7-p-methylbenzyl-8-substituted theophylline. It is set that a most antihypoxic effect was shown by compound number 8 (7- *n*-methylbenzyl-8-(*a*-methyl)- *n*-metoxybenzylidenhydrazinotheophylline) that in conditions of acute hypoxia rules the pressure reduces the cost of ATP on biological oxidation in the mitochondria of cells and increases the lifespan of rats to 109.2%.

Derivatives of 7-*n*-methylbenzyl-8- substituted theophylline is promising group of organic compounds for further implementation of targeted synthesis and pharmacological screening in order to create on their basis of effective antihypoxic drugs.

Key words: hypoxia, antihypoxants, derivatives of 7-*n*-methylbenzyl-8-substituted theophylline.

Адреса для листування:

Надійшла до редакції: