

УДК 615.011:547.857.4

Б. А. САМУРА, Л. В. ГРИГОРЬЕВА, И. Б. САМУРА, Н. И. РОМАНЕНКО

*Национальный фармацевтический университет**Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина**Запорожский государственный медицинский университет*

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАВИСИМОСТИ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ОТ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ В РЯДУ 7-β-ГИДРОКСИ- γ-(4'-ХЛОРОФЕНОКСИ)ПРОПИЛ-8-ЗАМЕЩЕННЫХ ТЕОФИЛЛИНА

Выполнено экспериментальное изучение зависимости противовоспалительной активности от химической структуры в ряду 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофеноксипропил)-8-замещенных теofilлина. Установлено, что наибольший противовоспалительный эффект проявило соединение № 6 (7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофеноксипропил)-8-о-хлоробензиденгидразинотеofilлина), которое в дозе 14,0 мг/кг через 4 часа угнетает развитие каррагенинового отека лапки у крыс на 47,2 %. Производные 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофеноксипропил)-8-замещенных теofilлина являются перспективной группой органических веществ для дальнейшего проведения целенаправленного синтеза и исследования фармакологической активности с целью создания на их основе субстанций для приготовления новых эффективных и безопасных лекарственных препаратов.

**Ключевые слова:** воспаление; антиэкссудативная активность; производные 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофеноксипропил)-8-замещенные теofilлина

### ВВЕДЕНИЕ

В клинической практике производные теofilлина используются в течение нескольких десятилетий. Основными механизмами действия теofilлина следует считать блокаду фосфодиэстеразы (ФДЕ), циклоаденозинмонофосфата (цАМФ), конкурентное взаимодействие аденозина с пуриновыми рецепторами.

В течение длительного времени блокада ФДЕ цАМФ расценивалась как основной механизм действия теofilлина. В конце 80-х годов XX века было показано, что существуют низко- и высокомолекулярные формы ФДЕ, выделенные из лимфоцитов периферической крови здоровых доноров [1, 8].

Достоверным считается предположение о ведущей роли блокады пуриновых рецепторов теofilлином как механизма противовоспалительного действия препарата. В соответствии с общепризнанной классификацией выделяют P<sub>1</sub> и P<sub>2</sub>-пуриновые рецепторы. В P<sub>1</sub> классе, в свою очередь, выделяют A<sub>1</sub> и A<sub>2</sub> рецепторы. Стимуляция A<sub>1</sub>-рецепторов сопровождается угнетением аденилатциклазы с последующим

снижением уровня цАПФ. Стимуляция A<sub>2</sub>-рецепторов вызывает активизацию аденилатциклазы и повышение содержания цАМФ в клетке. В последние годы показано, что в терапевтических концентрациях теofilлин угнетает образование активных форм кислорода и продукцию лейкотриена-B<sub>4</sub> активированными полинуклеарными нейтрофилами *in vitro*. Кроме того, теofilлин ингибирует пролиферацию T-лимфоцитов *in vitro* и продукцию лимфоцитами интерлейкина-2. Противовоспалительное действие теofilлина растёт при длительном использовании препарата.

Ограничения противовоспалительной терапии НПВС обоих классов неселективными и селективными блокаторами циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) снижают возможности их применения. В то время как неселективные НПВС таят угрозу развития язвенного поражения [4, 10, 14] вследствие снижения синтеза гастропротекторных простагландинов, селективные блокаторы ЦОГ-2 несут угрозу развития тромботических осложнений, в том числе инфаркта миокарда [15, 16, 17].

Умеренное противовоспалительное действие оказывает теofilлин, который уменьшает выход медиаторов из тучных клеток. Противовоспалитель-

© Самура Б. А., Григорьева Л. В., Самура И. Б., Романенко Н. И., 2015

ный эффект метилксантинов реализуется посредством модулирования синтеза ряда цитокинов: ингибированием экспрессии генов, ответственных за синтез провоспалительных цитокинов [9]. В связи с этим при поиске новых антиэкссудативных веществ наше внимание привлекли производные 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропил-8-замещенные теofilлина [11].

Данные компьютерного прогноза показали наличие у производных 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропил-8-замещенных теofilлина противовоспалительных свойств, что стало основанием для проведения данных исследований.

Работа выполнена в соответствии с научной программой научно-исследовательских работ Национального фармацевтического университета по проблеме «Создание новых лекарственных препаратов» (№ государственной регистрации 0198U007008).

Целью работы было изучение зависимости противовоспалительной активности от структуры 9-ти синтезированных веществ в ряду производных 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропил-8-замещенных теofilлина.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были выбраны 9 синтезированных соединений в ряду производных 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропил-8-замещенных теofilлина (соед. 1-9). Структура синтезированных веществ подтверждена с помощью современных физико-химических методов элементного анализа, УФ-, ИК-, ПМР- и масс-спектрометрических методов исследования, а чистота синтезированных соединений контролировалась методом тонкослойной хроматографии. Синтез веществ осуществлен на кафедре биологической химии и лабораторной диагностики Запорожского государственного медицинского университета под руководством доктора фармацевтических наук, профессора Н. И. Романенко.

Противовоспалительную активность производных 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропил-8-замещенных теofilлина изучили на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением флогогена – каррагенина. опыты проведены на белых крысах линии Вистар массой 165-180 г. Производные 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропил-8-замещенные теofilлина вводили в дозе 0,1 ЛД<sub>50</sub> внутривенно за 30 минут до введения флогогенного агента. Контрольным группам вводили дистиллированную воду. Через 30 минут под апоневроз задней лапки крысы вводили по 0,1 мл 1 %-ного раствора каррагенина. Через 4 часа (максимум развития отека) измеряли объем здоровой и пораженной лапки с помощью онкометра. Величину отека вычисляли по разнице между объемами здоровой и воспаленной лапки. Противовоспалительную активность исследуемых соединений определяли по степени умень-

шения экспериментального отека у опытных животных в сравнении с контрольными и выражали в процентах. В качестве препарата сравнения использовали диклофенак натрия (ЕД<sub>50</sub>=8 мг/кг). Степень угнетения отека рассчитывали по формуле:

$$\% \text{ угнетения} = \frac{U_k - U_0}{U_k} \cdot 100,$$

где:  $U_k$  и  $U_0$  – соответственно объем лапки в контроле и в опыте [3, 6].

Экспериментальные исследования проведены в соответствии с положениями об использовании животных в биомедицинских исследованиях (Страсбург, 1986 г.) и «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Киев, 2001) и согласованы с требованиями «Европейской конвенции защиты хребетных животных, которых используют для экспериментальных и научных целей» [2, 9]. Статистическую проверку данных проводили с использованием стандартного пакета анализа программы статистической обработки результатов версии Microsoft Office Excel 2003. Результаты представлены в виде выборочного среднего значения ± стандартной ошибки среднего значения. Достоверность различий между экспериментальными группами оценивали при помощи t-критерия Стьюдента и U-критерия Уитни-Манна компьютерной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214 FAN5) [5].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные результаты изучения противовоспалительной активности исследуемых гетероциклических производных 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропил-8-замещенных теofilлина приведены в таблице. Анализ данных свидетельствует о том, что наиболее выраженный антиэкссудативный эффект проявило соединение № 6 – 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропил-8-о-хлоробензилиденгидразино-теofilлина, которое в исследованной дозе 14 мг/кг через 4 часа после введения вызывало уменьшение отека лапки у крыс на 47,2 %. При замене в 8-ом положении молекулы теofilлина о-хлоробензилиденгидразинового (соед. 6) радикала на п-фторобензилиденгидразиновый (соед. 5), п-хлоробензилиденгидразиновый (соед. 3) и п-бромобензилиденгидразиновый (соед. 4) их антиэкссудативная активность составила 47,2 %, 32,3 %, 28,4 % и 23,2 % соответственно.

Менее выраженное антиэкссудативное действие оказывают вещества, содержащие в 8-м положении молекулы п-метоксибензилгидразиновый (соед. 1), п-метилбензилиденгидразиновый (соед. 2) заместители, которые угнетали развитие каррагенинового отека лапки у крыс в среднем на 17,9 % и 18,8 % соответственно.

Соединения 7, 8, 9 проявили тенденцию к угнетению развития экспериментального отека лапки у

**ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ В РЯДУ  
7-β-ГИДРОКСИ-γ-(4'-ХЛОРОФЕНОКСИ)ПРОПИЛ-8-ЗАМЕЩЕННЫХ ТЕОФИЛЛИНА**

Соединение, №	Шифр	Доза, мг/кг	Противовоспалительная активность		
			объем лапки через 4 часа $M \pm m$	% к контролю	активность, %
1	γ-3493	22,5	1,88 ± 0,06	82,1	17,9
2	γ-3494	24,5	1,86 ± 0,05*	81,2	18,8
3	γ-3496	19,0	1,64 ± 0,04*	71,6	28,4
4	γ-3497	29,8	1,76 ± 0,05*	76,8	23,2
5	γ-3498	16,3	1,55 ± 0,06*	67,7	32,3
6	γ-3499	14,0	1,21 ± 0,07*	52,8	47,2
7	γ-3505	20,5	2,05 ± 0,08*	89,5	10,5
8	γ-3517	14,3	2,10 ± 0,07*	91,7	8,3
9	γ-3518	13,3	2,03 ± 0,06*	86,0	11,4
Диклофенак	8,0	1,26 ± 0,13*	55,0	45,0	
Контроль	–	2,29 ± 0,14	100	–	

Примечание: \*  $p < 0,05$  относительно контроля.

крыс в пределах от 8,3 % до 11,4 %. Антиэкссудативная активность препарата сравнения диклофенака в дозе 8 мг/кг составила 45 %.

Можно предположить, что противовоспалительный эффект впервые синтезированных производных 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропил-8-замещенных теofilлина реализуется за счет ингибирования экспрессии генов, ответственных за синтез провоспалительных цитокинов, и уменьшения выброса медиаторов воспаления из тучных клеток [7].

Таким образом, среди изученных 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропил-8-замещенных теofilлина наиболее активным оказалось соед. 6, антиэкссудативная активность которого превосходит препарат сравнения диклофенак на 2,2 %.

#### ВЫВОДЫ

1. Выраженную антиэкссудативную активность выявило соед. 6 – 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропил-8-о-хлоробензиденгидразинотеofilлина, которое вызывало у крыс уменьшение развития экспериментального каррагенинового отека лапки на 47,2 % и по действию было сопоставимо с активностью эталонного препарата Диклофенак.
2. Производные 7-β-гидрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропил-8-замещенных теofilлина являются перспективной группой веществ для синтеза и проведения фармакологического скрининга с целью создания нестероидных противовоспалительных средств.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Белоусов Ю. Б. Современные представления о фармакодинамике теofilлина / Ю. Б. Белоусов,

С. В. Лукьянов, А. А. Духанин // *Качеств. клинич. практика.* – 2002. – № 3. – С. 5-8.

2. Біоегічна експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: [метод. рекомендації] / О. Г. Резніков, А. І. Соловйов, Н. В. Добреля, О. В. Стефанов // *Вісник фармакол. та фармації.* – 2006. – № 7. – С. 47-61.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів / Под ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – С. 433-443.
4. Каратеев А. Е. НПВП-ассоциированное заболевание желудочно-кишечного тракта при ревматизме в России / [А. Е. Каратеев, Н. Н. Коновалова, А. А. Литовченко и др.] // *Клин. мед.* – 2005. – № 5. – С. 33-38.
5. Кожем'якін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К.: Авіценна, 2002. – 156 с.
6. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / [С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич и др.] – К.: Морион, 2000. – 320 с.
7. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО Изд-во Новая волна, 2009. – 1206 с.
8. Мохорт М. А. Пошук та експериментальне вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як ненаркотичні аналгетики / М. А. Мохорт, Л. В. Яковлева, О. М. Шаповал // *Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації].* – К., 2001. – С. 307-320.
9. Насонов Е. Л. Сегодня в изучении патогенеза ревматических болезней на первый план выходят исследования механизмов хронического воспа-

- ления / Е. Л. Насонов // Фарматека. – 2005. – № 7. – С. 10-14.
10. Побочное действие лекарств / [С. М. Дрогвоз, А. П. Гудзенко, Я. А. Бутко та ін.]. – Х.: СИМ, 2010. – 480 с.
  11. Романенко Н. И. Синтез и биологическая активность производных 3-метил-8-пиперазиноксантина / Н. И. Романенко, Б. А. Приймак, Б. А. Самура // Запорожский мед. журн. – 2004. – Т. 2, № 1. – С. 16-19.
  12. Сороцкая В. Н. Желудочно-кишечные осложнения одна из причин смерти больных ревматическими заболеваниями / В. Н. Сороцкая, А. Е. Каратеев // Научно-практ. ревматол. – 2005. – № 4. – С. 34-37.
  13. Crofford L. J. Basic biology and clinical application of specific cyclooxygenase-2 inhibitors / [L. J. Crofford, P. E. Lipsky, P. Brooks et al.] // Arthritis Rheum. – 2000. – Vol. 43. – P. 4-13.
  14. Gislason G. Risk of death or reinfarction associated with the use of selective cyclooxygenase-2 inhibitors and nonselective nonsteroidal antiinflammatory drugs after acute myocardial infarction / [G. Gislason, S. Jacobsen, J. Rasmussen et al.] // Circulation. – 2006. – Vol. 113, № 25. – P. 2906-2913.
  15. Graham D. J. Risk of acute myocardial infarction and sudden cardiac death in patients treated with cyclooxygenase 2 selective and non-selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs: nested case-control study / [D. J. Graham, D. Campen, R. Hui et al.] // Lancet. – 2005. – Vol. 365 – P. 475-481.
  16. Hudson M. Risk of congestive heartfailure with nonsteroidal anti-inflammatory drugs and selective Cyclooxygenase 2 inhibitors: a class effect? / [M. Hudson, E. Rahme, H. Richard et al.] // Arthritis Rheum. – 2007. – Vol. 57, № 33. – P. 516-523.
  17. Nicola P. J. Increased unrecognized coronary heart disease and sudden deaths in rheumatoid arthritis. A population-based cohort study / H. Maradit-Kremers, C. S. Crowson // Arthritis Rheum. – 2005. – Vol. 52. – P. 402-411.

#### УДК 615.011:547.857.4

Б. А. Самура, Л. В. Григор'єва, І. Б. Самура, Н. І. Романенко

#### ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ВІД ХІМІЧНОЇ СТРУКТУРИ В РЯДУ 7-β-ГІДРОКСИ-γ-(4'-ХЛОРОФЕНОКСИ) ПРОПІЛ-8-ЗАМІЩЕНИХ ТЕОФІЛІНУ

Виконано експериментальне вивчення залежності протизапальної активності від хімічної структури у ряду 7-β-гідрокси-γ-(4'-хлорофенокси) пропіл-8-заміщених теофіліну. Встановлено, що найбільший протизапальний ефект проявила сполука № 6 (7-β-гідрокси-γ-(4'-хлорофенокси) пропіл-8-о-хлоробензиліденгідразинотеофіліну), яка в дозі 14,0 мг/кг через 4 години пригнічує розвиток карагенинового набряку лапки у щурів на 47,2 %. Похідні 7-β-гідрокси-γ-(4'-хлорофенокси) пропіл-8-заміщених теофіліну є перспективною групою органічних речовин для подальшого проведення цілеспрямованого синтезу і дослідження фармакологічної активності з метою створення на їх основі субстанцій для приготування нових ефективних і безпечних лікарських препаратів.

**Ключові слова:** запалення; антиексудативна активність; похідні 7-β-гідрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропіл-8-заміщених теофіліну

#### UDC 615.011:547.857.4

B. A. Samura, L. V. Grigorieva, I. B. Samura, N. I. Romanenko

#### STUDY OF THE DEPENDENCE ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY FROM THE CHEMICAL STRUCTURE AMONG 7-β-HYDROXY-γ-(4'-CHLOROPHENOXY) PROPYL-8-SUBSTITUTED THEOPHYLLINE

An experimental study of the anti-inflammatory activity, depending on the chemical structure in a series of 7-β-hydroxy-γ-(4'-chlorophenoxy)propyl-8-substituted theophylline has been made. It is found that most anti-inflammatory effect of compound number 6 showed (7-β-hydroxy-γ-(4'-chlorophenoxy)propyl-8-o-chlorobenzylidenhydrazinoteofilline), is a dose of 14.0 mg/kg after 4 hours inhibits the development of carrageenan rat paw edema by 47.2 %. Derivatives of 7-β-hydroxy-γ-(4'-chlorophenoxy)propyl-8-substituted theophylline are promising group of organic compounds carrying targeted for further synthesis and pharmacological activity studies with a view to creating on the basis of substances for the preparation of new effective and safe treatment medicament preparations.

**Key words:** inflammation; anti-exudative activity; derivatives 7-β-hydroxy-γ-(4'-chlorophenoxy)propyl-8-substituted theophylline

Адреса для листування:  
61168, м. Харків, вул. Героїв Праці,  
буд. 4-Г, кв. 205.  
Тел. (093) 9000598

Надійшла до редакції  
23.02.2015 р.