

ФАРМАЦЕВТИЧНІ НАУКИ

УДК 615.324:547.857.4

ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА АНТИЕКСУДАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ ІЛІДЕНГІДРАЗИДІВ 8-ПІПЕРЕДИНОТЕОФІЛІНІЛ-7-ОЦТОВОЇ КИСЛОТИ

Дученко К.А., Корнієнко В.І., Ладогубець О.В., Пономаренко О.В., Гаркуша І.В.
Харківська державна зооветеринарна академія

Встановлено, що LD_{50} похідних іліденгідрозидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти знаходиться в інтервалі від 320 до 540 мг/кг. На щурах досліджено залежність антиексудативної активності від хімічної структури похідних іліденгідрозидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти. Встановлено, що найбільшу антиексудативну активність виявила сполука 1-5-нітрофурил-2-пропеніліденгідрозид-8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти, яка зменшувала експериментальний карагеніновий набряк у щурів на 36,7% і по активності не поступалася препарату порівняння диклофенаку натрію. Похідні іліденгідрозидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти є перспективною групою органічних речовин для проведення направленої синтезу і фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі нових нестероїдних протизапальних засобів.

Ключові слова: іліденгідрозиди 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти, гостра токсичність, антиексудативна активність.

Постановка проблеми. Запалення є найбільш розповсюдженим симптомом, який супроводжує протікання більшості захворювань у людини. В розвитку запальної реакції центральна роль належить лейкоцитам, точніше їх міграції в мікроциркуляторному руслі тканин. Взаємодія лейкоцитів, тромбоцитів і ендотелію в осередку запалення супроводжується молекулами адгезії. Крім того, в реалізації запалення приймає участь декілька других медіаторів запалення: інтерлейкін-1, фактор некрозу пухлин, фактор активації тромбоцитів, цитокіни, лейкотриєн B_4 , а також простагландини. Останні приймають участь в розвитку запальної реакції, а також в реалізації виникнення болю і лихоманки. Для лікування даного симптому широко застосовуються нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) [2, 8].

Аналіз останніх досліджень Протизапальний ефект НПЗЗ пов'язаний з пригніченням активності в осередку запалення циклооксигенази (ЦОГ-2) – ключового ферменту синтезу простагландинів [16], а пригнічення ізоферменту ЦОГ-1 приводить до порушення синтезу простагландинів класу E в слизовій оболонці шлунка та розвитку ерозивно-виразкового пошкодження шлунка [3; 11; 13].

Порушення синтезу простагландинів ненаркотичними анальгетиками приводить до реалізації їх основних ефектів – протизапального, знеболюючого і жарознижувального. Однак більшість препаратів даної групи є високотоксичними, недостатньо ефективними та мають ряд побічних ефектів [9]. В зв'язку з цим пошук вискоєфективних фармакологічних речовин з низькою токсичністю та широкою фармакологічною активністю залишається актуальним питанням сучасної експериментальної фармакології.

Антиексудативні властивості [4; 14; 15] препаратів також відіграють важливу роль у механізмі

їх периферичної протизапальної дії. Наявність та вірогідність антиексудативної активності похідних іліденгідрозидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти прогнозовано за результатами дескрипторного аналізу та програм комп'ютерного пошуку.

Невирішені завдання. Пошук нових високоєфективних препаратів з низькою токсичністю з метою створення нових протизапальних препаратів є актуальною проблемою сучасної експериментальної фармакології. Встановлено, що протизапальну дію виявляють похідні 3-метилксантинів. У зв'язку з цим при пошуку нових протизапальних речовин нашу увагу привернули похідні іліденгідрозидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти [10; 15].

Мета дослідження – вивчити гостру токсичність та залежність антиексудативної активності від хімічної структури в ряду похідних іліденгідрозидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти.

Викладення основного матеріалу. Об'єктом дослідження були похідні іліденгідрозидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти, синтез яких здійснено на кафедрі біологічної хімії Запорізького державного медичного університету під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора Романенка М.І. [17]. В якості референтного препарату використовували диклофенак натрію [6].

Структура похідних іліденгідрозидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти підтверджена за допомогою сучасних фізико-хімічних методів елементного аналізу, УФ-, ІК-, ПМР- і маспектрометрії, зустрічним синтезом, а чистота речовин контролювалась методом тонкошарової хроматографії. Синтезовані речовини є білими кристалічними порошками, без запаху, з гірким смаком, нерозчинні у воді, легко розчинні в диметилформаміді, диметилсульфоксиді, практично нерозчинні в ефірі, етанолі, хлороформі.

Дослідження гострої токсичності похідних іліденгідразидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти проведено на інтактних білих нелінійних мишах вагою 20-24 г. LD_{50} вираховували по методу Кьорбера [10].

Проведено експериментальні дослідження антиексудативної активності похідних іліденгідразидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти на моделі гострого запального набряку лапок у щурів, викликаного субплантарним уведенням 1% розчину карагеніну. Максимальна протизапальна активність біологічно активних речовин проявляється при гострому запальному набряку, який супроводжується вираженою ексудацією. Досліди проведені на нелінійних щурах, вагою 190-220 г [1]. Досліджувані речовини вводили внутрішньочеревно в дозах 0,05 LD_{50} у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80, об'ємом 0,5 мл. Референтний препарат диклофенак натрію вводили внутрішньочеревно в дозі ED_{50} – 8 мг/кг. Контрольній групі тварин аналогічним шляхом в тім же об'ємі вводили ізотонічний розчин натрію хлориду та твін-80 [7; 10].

Через 30 хвилин під апоневроз задньої лапки щурів вводили по 0,1 мл 1% водного розчину суспензії карагеніну. За допомогою онкометра виміряли об'єм лапки у щурів до початку досліджу та через кожну годину протягом 4 годин. Антиексудативну активність визначали за ступенем зменшення експериментального набряку дослідних щурів у порівнянні з контрольними групами і виражали у відсотках. Антиексудативну активність визначали за формулою:

$$A = 100\% - \frac{U_k - U_o}{U_k} \cdot 100, \text{ де}$$

A – антиексудативна активність, %

U_k та U_o , відповідно, об'єм лапки в контролі і в досліді [7].

При проведенні досліджень тварини знаходились в стандартних умовах віварію згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС з питань захисту хребетних тварин, яких використовували для експериментальних та інших наукових досліджень [1].

Одержані результати вчислені методами варіаційної статистики. Дані представлені у вигляді середнього арифметичного та стандартної похибки. Вірогідність різниць між середніми значеннями визначали за критерієм t Стьюдента при нормальному розподіленні. Порівняння груп за якісною ознакою проводили за допомогою критерію χ^2 . Результати дослідження оброблені з застосуванням статистичних пакетів програм "Microsoft Office Excel 2010", "STATISTICA 6.0". Статистично значущими вважали відмінності при рівні значущості не менше 0,05 [5].

Аналіз результатів дослідження гострої токсичності (табл. 1) при внутрішньочеревному введенні показує, що LD_{50} похідних іліденгідразидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти знаходиться в інтервалі від 320 до 540 мг/кг. Найбільш токсичною була сполука № 2 – 5-бромо-2-гідроксибензиліденгідразид 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти (LD_{50} = 320 мг/кг). Заміна у 7-му положенні 5-бромо-2-гідроксибензиліденгідразидного радикала (спол. № 2), на 5-нітрофурил-2-пропеніліденгідразид оцтової

кислоти (спол. № 1), індолон-2-іліден-3-гідразид оцтової кислоти (спол. № 4), 2-бромо-3-фенілпропеніліденгідразид оцтової кислоти (спол. № 3), 5-бромоіндолон-2-іліден-3-гідразид оцтової кислоти (спол. № 5), в молекулі 5-бромоіндолон-2-іліден-3-гідразид-8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти приводить до зменшення гострої токсичності вперше синтезованих гетероциклічних органічних сполук.

У відповідності з класифікацією К.К. Сидорова [12] серед досліджених сполук у ряду похідних іліденгідразидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти всі 5 сполук відносяться до помірно токсичних речовин.

Результати проведених експериментальних досліджень антиексудативної активності вперше синтезованих похідних іліденгідразидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти (табл. 2) свідчать, що найбільш виражений антиексудативний ефект проявила сполука № 1 – 5-нітрофурил-2-пропеніліденгідразид-8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти, яка в дозі 17,5 мг/кг через 4 години після введення викликала зменшення експериментального набряку лапки у дослідних щурів на 48,8%. Заміна в 7-ому положенні молекули похідних 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти 5-нітрофурил-2-пропеніліденгідразидного радикала (спол. № 1) на 5-бромо-індолон-2-іліден-3-гідразидний залишок (спол. № 5) призводить до зменшення антиексудативної активності. Так після її введення в дозі 27 мг/кг через 4 години спостерігали зменшення флогогенного набряку лапки у щурів на 37,1% у порівнянні з контрольною групою.

Уведення в 7-ме положення молекули 5-бромоіндолон-2-іліден-3-гідразид-8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти (спол. № 5) замість 5-бромоіндолон-2-іліден-3-гідразидного радикала – індолон-2-іліден-3-гідразид оцтової кислоти замісника (спол. № 4) привело до зменшення антиексудативного ефекту, який становив 33,7%. Уведення в оцтовий залишок, який знаходиться в 7-му положенні молекули, 2-бромо-3-фенілпропеніліденгідразидного фрагменту (спол. № 3), сприяло сповільненню антиексудативної активності та зменшення розвитку експериментального карагенінового набряку лапки щурів з 33,7 до 23,4%.

Менш виражену антиексудативну дію (18,6%) проявила сполука 2, яка містить у 7-му положенні молекули 8-піперидинотеофілініл-7-заміснених іліденгідразидів оцтової кислоти 5-бромо-2-гідроксибензиліденгідразид оцтової кислоти замісник.

Можно допустити, що антиексудативний ефект вперше синтезованих похідних 8-піперидинотеофілініл-7-іліденгідразидів оцтової кислоти реалізується за рахунок зниження викиду медіаторів запалення з тучних клітин та інгібування експресії генів, відповідальних за синтез запальних цитокінів.

Таким чином, серед досліджених похідних іліденгідразидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти виявлена сполука 1, яка володіє вираженою антиексудативною дією та за активністю не поступається референтному препарату диклофенаку натрію.

Висновки.

1. У відповідності з класифікацією К.К. Сидорова гострої токсичності всі 5 сполук у ряду по-

хідних іліденгідразидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти відносяться до помірно токсичних речовин.

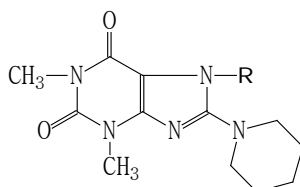
2. Виражену антиексудативну активність проявила сполука 1-5-нітрофурил-2-пропеніліденгідразид-8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти, яка зменшувала експериментальний карагеніновий набряк на 37,1% і по

активності не поступалася дії диклофенаку на трію.

3. Похідні іліденгідразидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти є перспективною групою органічних речовин для проведення направлено-го синтезу фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі нових нестероїдних протизапальних засобів.

Таблиця 1

Гостра токсичність похідних іліденгідразидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти



№	Шифр	R	LD ₅₀ , мг/кг
1	γ-8624	5-нітрофурил-2-пропеніліденгідразид оцтової кислоти	420,0 ±38,2
2	γ-8625	5-бромо-2-гідроксибензиліденгідразид оцтової кислоти	320,0 ±21,7
3	γ-8626	2-бромо-3-фенілпропеніліденгідразид оцтової кислоти	480,0 ±31,7
4	γ-8627	індолон-2-іліден-3-гідразид оцтової кислоти	350,0 ±37,2
5	γ-3132	5-бромоіндолон -2-іліден-3-гідразид оцтової кислоти	540,0±36,5

Таблиця 2

Антиексудативна активність похідних іліденгідразидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти, M± m, (n=7)

№ сполуки	Хімічна назва речовин	Доза, мг/кг	Антиексудативна активність	
			Об'єм лапки через 4 години, мл	% угнетення отека лапки
1	5-нітрофурил-2-пропеніліденгідразид-8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти	17,5	1,43±0,13*	37,1
2	5-бромо-2-гідроксибензиліденгідразид-8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти	16,0	1,85±0,01	18,6
3	2-бромо-3-фенілпропеніліденгідразид-8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти	24,0	1,74±0,12*	23,4
4	індолон-2-іліден-3-гідразид-8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти уксусної кислоти	21,0	1,28±0,10*	33,7
5	5-бромоіндолон -2-іліден-3-гідразид-8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти	27,0	1,70±0,12*	24,1
Диклофенак натрію		8,0	1,18±0,11*	48,1
Інтактний контроль		-	2,27±0,14	100

Примітка: * - p < 0,05, щодо інтактного контролю

Список літератури:

1. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: метод. реком. / О.Г. Резніков, А.І. Соловйов, Н.В. Добреля, О.В. Стефанов // Вісник фармакології та фармацевції. – 2006. – № 7. – С. 47–61.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
3. Зупанець І.А. До характеристики гастротоксичної дії нестероїдних протизапальних засобів – неселективних, селективних і специфічних інгібіторів ЦОГ-2 / І.А.Зупанець, Е.А. Андреева // Ліки України. – 2005. – № 4. – С. 113–114.
4. Корниенко В.І. Противовоспалительная активность аммониевых солей замещенных 1,3,7-триметил-имидазо[1,2-f]ксантинил-8-бутаноата / В.І. Корниенко, Б.А.Самура, Н.І. Романенко // Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, дослідження та апробації лікарських засобів: Матеріали XXXI науково-практичної конференції з міжнародною участю. X. – 2013. – С. 61–62.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
6. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО Изд-во Новая волна, 2008. – 1206 с.
7. Мохорт М.А. Пошук та експериментальне вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як ненаркотичні анальгетики / М.А. Мохорт, Л.В. Яковлева, О.М. Шаповал // Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. – Київ. – 2001. – С. 307–320.
8. Насонов Е.Л. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов // Российский медицинский журнал. – 2002. – Т. 10, № 4. – С. 206–212.

9. Побочное действие лекарств / С.М. Дрогвоз, А.П. Гудзенко, Я.А. Бутко [та ін.] – Х.: «СИМ», 2010. – 480 с.
10. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М.: Медицина, 2000. – 352 с.
11. Сороцкая В.Н. Желудочно-кишечные осложнения как одна из причин смерти больных ревматическими заболеваниями / В.Н. Сороцкая, А.Е. Каратеев // Научно-практическая ревматология. – 2005. – № 4. – С. 34–37.
12. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // Токсикология новых промышленных химических веществ. – М., 1973. – Вып. 13. – С. 47–51.
13. Kato M, Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs: investigation using human peripheral monocytes / M. Kato, S. Nishida, H. Kitasato // J. Pharm. Pharmacol., 2001. – № 53(12). – P. 1679–1685.
14. Kornienko V.I. Conformity research of antiexudative activity of the chemical structure among 7-benzoyl-8-substituted theophyllines / V. Kornienko, E. Tarasyavichyus, B. Samura, N. Romanenko // Medicinos – 2013. V.19. № 2. P. 137–140.
15. Kornienko V.I., Samura B.A., Romanenko N.I. Antiinflammatory Activity ammonium salts of substituted 1,3,7-trimethyl imidazo [1,2-f] xanthine-8-butanoate, Liki-leudini. Suchasni problem stvorenniya, doslidzhennya ta aprobatsii likarskikh zasobiv (Drug-human. Modern problems of creation, research and testing of drugs: Proceedings of the XXXI conference with international participation). Kharkiv, 2013, p. 61–62.
16. Reduced risk of upper gastrointestinal ulcer complications with celecoxib, a novel COX-2 inhibitor / J.L. Goldstein, F.E. Silverstein, N.M. Agrawal et. al. // Am J. Gastroenterol. – 2000. – Vol. 95. – P. 1681–1690.
17. Synthesis and biological activity of annelated xanthine derivatives/ N.I. Romanenko, T.N. Rak, M.V. Nazarenko, O.A. Pakhomova, A.Yu. Cherchesova, V.I. Kornienko // Xth International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds Nov. 2013. Tashkent-Bukhara, Republic of Uzbekistan. P. 268.

Дученко Е.А., Корниенко В.И., Ладогубец Е.В., Пономаренко О.В., Гаркуша И.В.
Харьковская государственная зооветеринарная академия

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И АНТЭКССУДАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ИЛИДЕНГИДРАЗИДОВ 8-ПИПЕРИДИНОТЕОФИЛЛИНИЛ-7-УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

Аннотация

Установлено, что LD_{50} производных илиденгидразидов 8-пиперидинотеофиллинил-7-уксусной кислоты находится в интервале от 320 до 540 мг/кг. В опытах на крысах изучена зависимость антиэкссудативной активности от химической структуры производных илиденгидразидов 8-пиперидинотеофиллинил-7-уксусной кислоты. Наибольшую антиэкссудативную активность проявило соединение 1-5-нитрофурил-2-пропенилиденгидразид-8-пиперидинотеофиллинил-7-уксусной кислоты, которое у опытных крыс уменьшало экспериментальный каррагениновый отек лапки на 36,7% и по активности не уступало препарату сравнения диклофенаку натрия. Производные илиденгидразидов 8-пиперидинотеофиллинил-7-уксусной кислоты являются перспективной группой органических веществ для проведения дальнейшего целенаправленного синтеза и фармакологического скрининга с целью создания на их основе новых более безопасных нестероидных противовоспалительных препаратов.

Ключевые слова: илиденгидразиды 8-пиперидинотеофиллинил-7-уксусной кислоты, острая токсичность, антиэкссудативная активность.

Duchenko K.A., Korniienko V.I., Ladohubets O.V., Ponomarenko O.V., Harkusha I.V.
Kharkiv State Zooveterinary Academy

INVESTIGATION OF ACUTE TOXICITY AND ANTI-EXUDATIVE ACTIVITY OF DERIVATIVES OF YLIDENE HYDRAZIDES 8-PIPERIDINOTOOFILINYL-7-ACETIC ACID

Summary

It is determined that LD_{50} of derivatives of 8-piperidinotoofilinyl-7-acetic acid are in the interval from 320 to 540 mg/kg. The dependence of anti-exudative activity from a chemical structure of derivatives of 8-piperidinotoofilinyl-7-acetic acid is tested for rats. It is established that the compound 1-5-nitrofuril-2-propenilidehrazid-8-pyperidinoteopnilin-7-acetic acid shown the most anti-exudative activity which was reducing carrageenan edema of rats by 36,7% and didn't yield in activity to comparative drug as diclofenac sodium. The derivatives of ylidene hydrazides 8-piperidinotoofilinyl-7-acetic acid are a perspective group of organic substances for performance of streamlined synthesis and pharmacological screening with a view to develop the new non-steroidal anti-inflammatory medicine based on them.

Keywords: ylidene hydrazides 8-piperidinotoofilinyl-7-acetic acid, acute toxicity, anti-exudative activity.