

ВПЛИВ НОВОГО ПОХІДНОГО ТІОНІВ ПІРИДОПІРАНОПІРИМІДИНУ, ЩО МАЄ ПРОТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ, НА ВНУТРІШНІ ОРГАНИ ТВАРИН

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» (м. Харків)

*Харківська медична академія післядипломної освіти (м. Харків)

Публікація має зв'язок із виконанням науково-дослідної роботи «Протимікробна активність новосинтезованих конденсованих нітрогеновмісних сполук та перспективи створення на їх основі профілактичних і лікувальних засобів» АМН 99/2011, КПКВ 6561040, № держ. реєстрації 0111U004733.

Вступ. Однією з вимог до потенційних лікарських засобів є співвідношення між їх ефективністю і токсичністю [1]. Експериментальні токсикологічні дослідження значною мірою дозволяють передбачити більшість небажаних ефектів та гарантувати безпечність подальших клінічних випробувань нових лікарських засобів [4]. Вивчення безпеки потенційних ліків, зокрема гострої токсичності, є одним з найважливіших необхідних етапів розробки нових препаратів [1]. При визначенні токсикологічних характеристик нових речовин, дослідження гострої токсичності є первинним етапом, метою якого є одержання інформації щодо безпечності досліджуваних речовин в умовах короткотривалої дії [1, 5].

Метою роботи стало дослідження впливу нового похідного тіонів 4*H*-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-*d*]піримідину на тканини внутрішніх органів тварин при первинному токсикологічному вивченні параметрів гострої токсичності.

Об'єкт і методи дослідження. Досліджено перспективну, за нашими попередніми даними, нову хімічну сполуку **2{133}** – 6-гідроксиметил-1,2-діарил-9-метил-1,3,4,5-тетрагідро-2*H*-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-*d*]піримідин-4-тіон, яка має антибактеріальну та протигрибкову активність [6, 8]. Визначення протимікробної дії речовини **2{133}** було виконано на 55 музейних та клінічних штаммах мікроорганізмів різних таксономічних груп стандартним методом послідовних серійних розведень у поживному бульйоні та агаровому середовищі.

Первинне токсикологічне вивчення параметрів гострої токсичності проведено на 36 нелінійних білих мишах обох статей, масою тіла 18 – 22 г, віком 2,0 – 2,5 місяці, які знаходились у стандартних санітарних умовах віварію ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України». Усі роботи з тваринами проводились з дотриманням основних положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних

та інших наукових цілей» і відповідних вітчизняних та закордонних нормативних документів [3, 9-11].

Досліджувану речовину вводили тваринам одноразово вранці натщесерце внутрішньоочеревинно в об'ємі 0,5 мл у дозах 320,0; 400,0; 500,0; 630,0; 800,0 мг/кг маси тіла. У якості контролю застосовано інтактних тварин. Результати досліджень параметрів гострої токсичності докладно викладено у наших попередніх роботах [7]. Проведено патоморфологічне вивчення впливу сполуки **2{133}** на внутрішні органи піддослідних тварин (серце, печінку, нирки, селезінку). По закінченню дослідження гострої токсичності на 14 добу тварин, що вижили, виводили з досліду шляхом передозування ефіру для наркозу. Проводили розтин черевної та грудної порожнин, макроскопічний огляд органів та забір матеріалу. Також вилучались органи тварин, які загинули в ході експерименту. Морфологічний матеріал для подальшого світлооптичного дослідження фіксували у 10% розчині формаліну, зневоджували у спиртах зростаючої міцності та заливали в целоїдин-парафін для приготування серійних гістологічних зрізів товщиною 5-6 мкм. Виготовлені препарати забарвлювали гематоксиліном та еозином [1, 2]. Огляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Olympus BX-41. Мікрофотографування виконано цифровим фотоапаратом NIKON COOLPIX 4500.

Результати досліджень та їх обговорення. У результаті попередніх досліджень протимікробної дії сполуки **2{133}** доведено її високу *in vitro* активність щодо широкого спектру клінічно значущих грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, дріжджеподібних грибів роду *Candida*, пліснявих грибів роду *Aspergillus* та дерматомицетів родів *Trichophyton*, *Epidermophyton* у мінімальних інгібуючих концентраціях в діапазоні 3,9 – 62,5 мкг/мл [6, 8].

Після одноразового внутрішньоочеревинного введення нової хімічної речовини мишам дослідної групи макроскопічна картина та маса внутрішніх органів не мала суттєвих відмінностей від групи інтактних тварин. У очеревинній та плевральній порожнині вільна рідина була відсутня, просвіток трахеї та бронхів був вільним у тварин обох груп.

При гістологічному дослідженні органів тварин групи контролю морфологічна картина відповідала сучасним уявленням про фізіологічну норму. Після

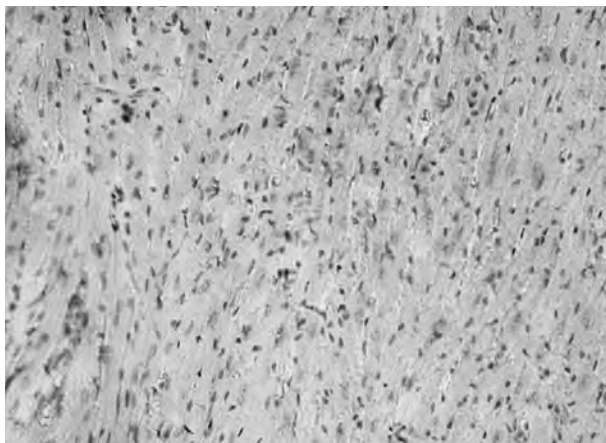


Рис. 1. Дистрофічні зміни у цитоплазмі кардіоміоцитів. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення x 100.

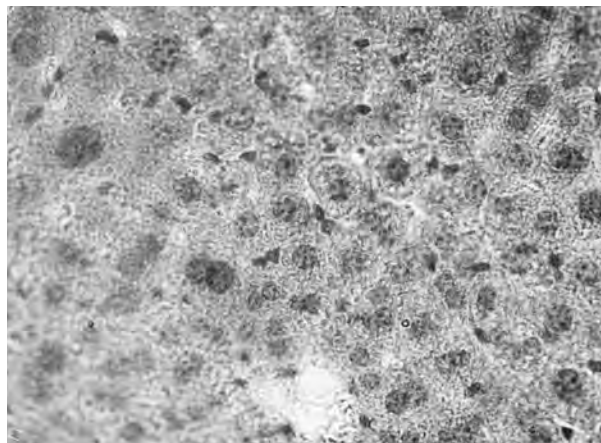


Рис. 2. Пілеподібна жирова дистрофія, каріолізис в окремих гепатоцитах. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення x 400.

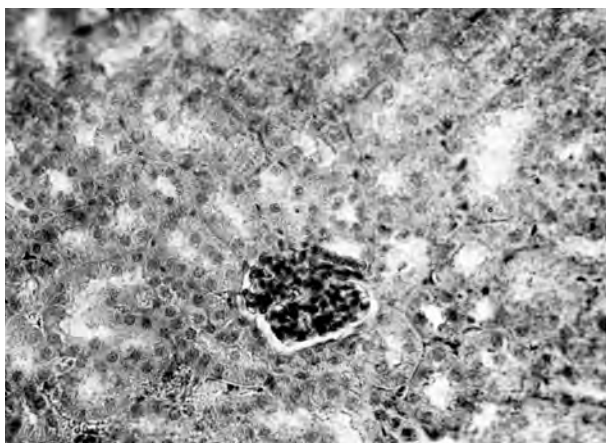


Рис. 3. Дистрофічні та некробіотичні зміни в епітелії звитих каналців нирок. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення x 400.

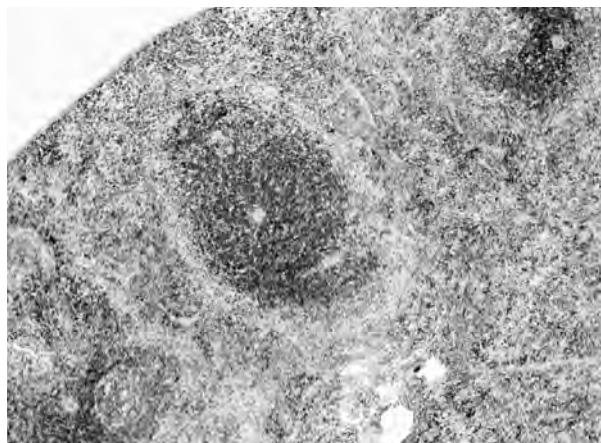


Рис. 4. Великі фолікули у селезінці. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення x 100.

одноразового внутрішньоочеревинного введення похідного тіонів у дозах 320,0 та 400,0 мг/кг маси тіла будова вивчених органів відповідала такій у контрольній групі.

Після введення досліджуваної речовини у дозах 500,0 мг/кг, 630,0 мг/кг маси тіла морфологічні зміни полягали у комбінації двох загальнопатологічних процесів – альтерації та захисної запальної реакції. Мікроскопічна картина міокарда виявилася подібною до такої в контролі і представлена м'язовими волокнами рівномірної величини і помірно місцями набряклою інтерстиційною тканиною. У дозі 800,0 мг/кг в цитоплазмі багатьох кардіоміоцитів відмічались явища гіаліново-крапельної дистрофії та жирової дистрофії, у ядрах цих клітин виявлені ознаки каріорексису і каріолізісу (**рис. 1**).

При введенні речовини у дозах 500,0 мг/кг, 630,0 мг/кг маси тіла часточкова будова печінки виражена чітко. Судини печінки нерівномірно, частіше помірно кровонаповненні. Центральні вени часточок і триади чітко визначаються. Радіальна будова часточок не порушена. Між трабекулами розташовуються слабо кровонаповненні синусоїди. При введенні

максимальної дози речовини (800,0 мг/кг) у клітинах, розташованих ближче до периферії часточок виявляються ознаки жирової дистрофії, а також некробіотичні зміни (**рис. 2**).

При введенні речовини у дозах 500,0 мг/кг, 630,0 мг/кг маси тіла мікроскопічно у корковій речовині нирки клубочковий апарат чітко визначається. При цьому у будові клубочка, в порівнянні з нормою, особливості не виявлені. Особливістю при введенні максимальної дози (800,0 мг/кг) є посилення явищ в епітелії звитих каналців і, в меншій мірі проксимальних, ознак гіаліново-крапельної дистрофії і некробіозу. У ядрах клітин при цьому визначаються ознаки каріорексису, каріопікнозу і каріолізісу. У просвітку багатьох каналців розташовуються зернисті еозинофільні маси. Склеротичні зміни відсутні, але має місце незначна лімфо-лейкоцитарна інфільтрація строми (**рис. 3**).

Мікроскопічна будова селезінки при введенні максимальних та субмаксимальних доз речовини **2{133}** чітко представлена.

З боку сполучнотканинної капсули і трабекулярного компонента особливості не виявлені. З боку

білої пульпи виявляються ознаки її гіперплазії. При цьому біла пульпа представлена численними фолікулами, переважно великих і середніх розмірів. Червона пульпа селезінки повнокровна і густоклітинна (рис. 4).

Висновки.

1. За результатами патоморфологічного дослідження впливу похідного 6-гідроксиметил-1,2-діарил-9-метил-1,3,4,5-тетрагідро-2Н-піридо[4',3':5,6]пірано[2,3-*d*]піримідин-4-тіонів на тканини внутрішніх органів тварин визначена дозозалежність змін, виявлені органи, найчутливіші до досліджених речовин, означено характер та ступінь патологічних змін тканин органів.

2. Найбільш характерними були зміни у каналцевому апараті нирок у вигляді гіаліново-крапельної

дистрофії з явищами некробіозу при введенні речовини в максимальній дозі.

3. З боку тканини серця та печінки спостерігалися переважно помірні дистрофічні зміни при введенні максимальної дози речовини у вигляді проявів гіаліново-крапельної дистрофії міокарда та жирової дистрофії печінки.

Перспективи подальших розробок у даному напрямку. Отримані результати пілотного дослідження гострої токсичності нової синтетичної речовини, враховуючи результати морфологічного дослідження, свідчать про перспективність подальшого токсико-фармакологічного її вивчення з метою створення на її основі нового протимікробного лікарського засобу.

Література

1. Коваленко В. М. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В. М. Коваленко, О. В. Стефанов, Ю. М. Максимов, І. М. Трахтенберг // Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації; за ред. О. В. Стефанова. – К.: Видавничий дім «Авіцена», 2001. – С. 74–97.
2. Марковский В. Д. Руководство по гистологической, гистохимической и иммуногистохимической технике / [В. Д. Марковский, И. В. Сорокина, Н. В. Гольева, Л. С. Куприянова]. – Х.: АдвА™, 2010. – 152 с.
3. Про захист тварин від жорстокого поводження [Електронний ресурс]: закон України від 21. 02. 2006 №3447-IV з змінами, внесеними згідно із Законом № 1759-VI (1759-17) від 15. 12. 2009 // Відомості Верховної Ради України. – 2010. – №9. – С. 76. – Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=3447-15>.
4. Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів [Електронний ресурс]: наказ МОЗ України від 14. 12. 2009 №944. – Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=z0053-10/>.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. – [2-изд., испр. и доп.]. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.
6. Щербак О. М. Активність похідних конденсованих нітрогеновмісних сполук з піримідиновим фрагментом щодо грам-позитивних мікроорганізмів / О. М. Щербак, І. Д. Андреева, В. В. Казмірчук [та ін.] // Харківська хірургічна школа. – 2011. – №5. – С. 48–51.
7. Щербак О. М. Дослідження гострої токсичності нових похідних 4Н-піридо-[4г',3г':5,6] пірано [2,3-*d*]піримідину / О. М. Щербак, І. Д. Андреева, В. В. Казмірчук [та ін.] // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2011. – Вип. XXIV, №3. – С. 100–103.
8. Щербак О. М. Чутливість дріжджеподібних грибів роду *Candida* щодо нових похідних 4Н-піридо[4',3':5,6]пірано [2,3-*d*]піримідину / О. М. Щербак, І. Д. Андреева, В. В. Казмірчук, Т. О. Волков // Світ медицини та біології. – 2011. – №3. – С. 41–44.
9. Этическая экспертиза биомедицинских исследований : Практические рекомендации / Под ред. Ю. Б. Белоусова. – М., 2005. – С. 148–153.
10. EEC. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes // Official Journal of the European Communities. 1986. – L. 358. – P. 1–29.
11. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes [Electronic resource] / Strasbourg, 18. III. 1986. // European Treaty Series. – № 123. – Access mode : <http://conventions.coe.int/treaty/Commun/QueVoulezVous.asp?CL=RUS&CM=0&NT=123>.

УДК 615.28:547.8:615.099.092

ВПЛИВ НОВОГО ПОХІДНОГО ТІОНІВ ПІРИДОПІРАНОПІРИМІДИНУ, ЩО МАЄ ПРОТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ, НА ВНУТРІШНІ ОРГАНИ ТВАРИН

Щербак О. М., Андреева І. Д., Щербак В. В., Погоріла М. С.

Резюме. Проведено визначення впливу нової хімічної речовини – 6-гідроксиметил-1,2-діарил-9-метил-1,3,4,5-тетрагідро-2Н-піридо[4',3':5,6] пірано[2,3-*d*]піримідин-4-тіону на тканини внутрішніх органів тварин при первинному токсикологічному вивченні параметрів її гострої токсичності. За результатами патоморфологічного дослідження визначено дозозалежність змін, виявлені органи, найчутливіші до дослідженої речовини, означено характер та ступінь патологічних змін тканин органів. Отримані експериментальні дані свідчать про перспективність подальшого токсико-фармакологічного вивчення даної речовини з метою створення на її основі нового протимікробного лікарського засобу.

Ключові слова: похідне тіонів піридопіранопіримідину, токсичність, патоморфологічні зміни.

УДК 615. 28:547. 8:615. 099. 092

ВЛИЯНИЕ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ТИОНОВ ПИРИДОПИРАНОПИРИМИДИНА С ПРОТИВО-МИКРОБНЫМИ СВОЙСТВАМИ НА ВНУТРЕННИЕ ОРГАНЫ ЖИВОТНЫХ

Щербак О. Н., Андреева И. Д., Щербак В. В., Погорелая М. С.

Резюме. Изучено влияния нового химического вещества – 6-гидроксиметил-1,2-диарил-9-метил-1,3,4,5-тетрагидро-2H-пиридо[4',3':5,6] пирано[2,3-d]пиримидин-4-тиона на ткани внутренних органов лабораторных животных при первичном токсикологическом исследовании параметров его острой токсичности. В результате проведенного патоморфологического исследования установлена дозозависимость изменений, обнаружены органы, наиболее чувствительные к новому веществу, определены характер и степень патологических изменений тканей органов. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о перспективности дальнейшего токсико-фармакологического изучения данного вещества с целью создания на его основе нового противомикробного лекарственного средства.

Ключевые слова: производное тионов пиридопиранопиримидина, токсичность, патоморфологические изменения.

UDC 615. 28:547. 8:615. 099. 092

The Influence of New Pyridopyranopyrimidine Thione Derivative with Antimicrobial Properties on the Animal Inner Organs

Shcherbak O. M., Andreieva I. D., Shcherbak V. V., Pogorila M. S.

Abstract. The influence of new chemical compound – 6- hydroxymethyl-1,2-diaryl-9-methyl-1,3,4,5,-tetrahydro-2H-pyrido[4,3,5,6] pyrano[2,3-d]pyrimidine-4-thione on the animal inner organs tissues in course of primary toxicological study of its acute toxicity parameters was studied.

As a result of previous study of the antimicrobial activity of the new compound it was proven that the experimental compound has a high activity in vitro against a wide range of clinically significant Gram-positive and Gram-negative microorganisms, yeast-like *Candida spp.* fungi, mold *Aspergillus spp.* fungi and dermatomycetes of the genera *Trichophyton* and *Epidermophyton* in minimal inhibiting concentrations in the range of 3,9 – 62,5 µg/ml.

The primary toxicological study of the acute toxicity was carried out on 36 non-purebred white mice of either gender, weight 18 – 22 g, aged 2,0 – 2,5 months. All experiments with animals were carried out in accordance of the main provisions of “European convention of vertebrate animal protection, that are being used for scientific and other goals” and corresponding domestic and international standard documents.

The animals were injected with the compound once intraperitoneally in the fasted state in the morning with dosages 320,0; 400,0; 500,0; 630,0; 800,0 mg/kg of body weight diluted in the volume of 0,5. Afterwards a pathomorphological study of the perspective compound influence of the inner organs (heart, liver, kidneys and spleen) of the experimental animals was performed. The intact animals were chosen as control.

As a result of the pathomorphological study the dose-dependence of the morphological changes was established, the organs, that were most sensitive to the compound influence were found, the level and nature of the pathologic changes in the organs were characterized.

After the injection of the new chemical compound into the mice of experimental group the macroscopic nature and weight of the inner organs weren't significantly different from the organs of intact animals. The liquid in peritoneal and pleural cavities was absent; the bronchial and tracheal lumen was free in both groups.

The histological study has shown that in control group the morphological parameters corresponded with the modern understanding of physiological norm. After the injection of the thione derivative in the dosage 320,0 and 400,0 mg/kg of body weight the studied organ composition did not differ from that of the control group. The injection of the experimental compound in the dosages of 500,0 mg/kg and 630,0 mg/kg of body weight insignificant morphological changes were observed that consisted in combination of two major pathological processes – alteration and defensive inflammatory reaction.

The most characteristic changes were observed in tubular apparatus of the kidneys in form of hyaline-drop dystrophy with necrobiotic phenomena only after the injection of maximum dose of the compound. In case of heart and liver tissues mild dystrophic changes in form of the hyaline-drop myocardium dystrophy and adipose degeneration of the liver were observed. The obtained results of the pilot study of the acute toxicity of the new synthetic compound, considering the morphological analysis results, attest to the potential of the further toxicopharmacological study of the compound for development of the new antimicrobial agent.

Keywords: the pyridopyranopyrimidine thione derivative, toxicity, pathomorphological changes.

Рецензент – проф. Гасюк А. П.

Статья надійшла 12. 09. 2014 р.