

УДК 615.234:547.857.4

Дученко Е.А., Корниенко В.И., Самура Б.А.,  
Иванченко Д.Г., Ладогубец Е.В., Романенко Н.И.

## ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ 7-ГИДРОКСИПРОПИЛ-8-АМИНОЗАМЕЩЕННЫХ ТЕОФИЛЛИНА

Харьковская государственная зооветеринарная академия,  
Национальный фармацевтический университет (г. Харьков),  
Запорожский государственный медицинский университет

*Проведены скрининговые исследования антигипоксической активности 7-гидроксипропил-8-аминозамещенных теофиллина. Установлено, что соединение 7-(2-гидрокси-3-п-метоксифенокси)пропил-8-диметиламинотеофиллин (соед. 7) в дозе 21,9 мг/кг увеличивал продолжительность жизни крыс на 71,2% в условиях острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией. Производные 7-(2-гидрокси-3-п-метоксифенокси)пропил-8-замещенных теофиллина являются перспективной группой органических веществ для дальнейшего проведения целенаправленного синтеза и поиска новых фармакологических веществ с антигипоксической активностью.*

Ключевые слова: 7-гидроксипропил-8-замещенные теофиллина, антигипоксическая активность.

*Данная работа является фрагментом НИР «Фармакологическое исследование биологически активных веществ и лекарственных средств синтетического и природного происхождения, их применения в медицинской практике», № гос. регистрации 0106U003709.*

В настоящее время важной проблемой экспериментальной фармакологии является поиск препаратов, повышающих выносливость организма к гипоксии, высоким физическим и психическим нагрузкам, экономному использованию кислорода, быстрому восстановлению энергетических ресурсов при экстремальных ситуациях и выполнении тяжелых физических нагрузок [3].

Утомление - особый вид функционального состояния человека, возникающий под воздействием продолжительной или интенсивной работы и приводящий к снижению ее эффективности. Утомление проявляется гипоксией, уменьшением силы и выносливости мышц, возрастанием затрачиваемой энергии, ухудшением координации движений, замедлением скорости переработки информации, ухудшением памяти. Резко выраженная гипоксия может быть причиной нарушения энергетического обмена, проницаемости мембран, а также сопровождается снижением работоспособности [2, 7, 13].

Непосредственной причиной в большинстве патологических состояний является снижение поступления кислорода в митохондрии. При гипоксических состояниях развивается угнетение энергетического обмена, уменьшается содержание креатинфосфата и АТФ при одновременном увеличении содержания АДФ- и АМФ, а также неорганического фосфата [7, 14].

Начальным этапом развития окислительного стресса является избыточное образование высокоактивных свободнорадикальных форм кислорода. Гипоксия приводит к нарушению функций биологических мембран, затрагивающей липидный бислой и мембранные ферменты. Повреждаются главные функции мембран: барьерная, рецепторная, каталитическая [11, 15, 17].

Для коррекции гипоксических состояний применяют антигипоксанты, которые улучшают утили-

лизацию кислорода, снижают потребность органов и тканей, повышают устойчивость к гипоксии. Антиоксиданты блокируют активацию свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов [9].

Наряду с терапевтическими эффектами антигипоксанты могут вызывать диспептические явления: тошнота, рвота, боль в животе, головная боль, бессонница, ощущение сердцебиения, аллергические реакции [8]. Поэтому поиск новых антигипоксантов является актуальным. Наше внимание привлекли впервые синтезированные производные 7-гидроксипропил-8-аминозамещенных теофиллина [10, 16].

С помощью компьютерной программы PASS осуществлен прогноз биологической активности 7-гидроксипропил-8-аминозамещенных теофиллина и были отобраны синтезированные вещества, оказывающие влияние на метаболические процессы, которые являются перспективными соединениями для поиска активных веществ с антигипоксическим действием.

### Цель исследований

Целью исследований явилось изучение антигипоксической активности синтезированных производных 7-гидроксипропил-8-аминозамещенных теофиллина.

### Объект и методы исследования

Объектом исследования были производные 7-гидроксипропил-8-аминозамещенных теофиллина. Структура синтезированных соединений подтверждена с помощью современных физико-химических методов элементного анализа, УФ-, ИК-, ПМР- и масс-спектрофотометрических исследований. Чистота синтезированных веществ контролировалась методом тонкослойной хроматографии. Синтез органических веществ осуществлен на кафедре биологической химии и

лабораторной диагностики Запорожского государственного медицинского университета под руководством доктора фармацевтических наук, профессора Н.И. Романенко.

Исследование антигипоксичной активности синтезированных веществ проведено на модели острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией в опытах на белых крысах популяции Вистар. Для проведения исследований отбирали самцов одной массы (в пределах от 150 до 170 г). Опытным крысам с помощью металлического зонда внутрибрюшинно вводили исследуемые вещества в дозе 0,05 ЛД<sub>50</sub> в виде 3-5% тонкодисперсной водной суспензии, стабилизированной твином-80. Через 30 минут крыс помещали в изолированные камеры объемом 3000 мл и измеряли время до наступления агонального состояния животных [1]. В качестве препарата сравнения был выбран антигипоксикс мексидол [4], который вводили перорально в дозе 5 мг/кг в виде 3-5% тонкодисперсной водной суспензии, стабилизированной твином-80. Контрольным крысам вводили эквивалентное количество 3-5% тонкодисперсной водной суспензии с твином-80.

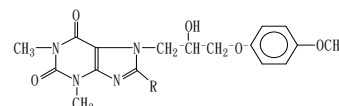
При проведении экспериментальных исследований животные находились в виварии, содержались на стандартном рационе в условиях свободного доступа к воде и пище в соответствии с положениями и требованиями «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, которых используют для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986 г.) и «Общими этическими принципами экспериментов на животных» [1]. Статистическую проверку данных проводили с использованием стандартного па-

кета программ статистической обработки результатов версии Microsoft Office Excel 2003. Результаты представлены в виде выборочного среднего значения и 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». Для всех видов анализа статистически значимыми считали отклонения при  $p < 0,05$  [5, 6, 12].

**Результаты исследований и их обсуждение**

Проведено сравнительное исследование влияния 11-ти впервые синтезированных производных 7-гидроксипропил-8-аминозамещенных теофиллина на продолжительность жизни крыс в условиях острой гипоксии с гиперкапнией и известного антигипоксиксанта мексидола. Установлено (табл.), что в контрольной группе продолжительность жизни крыс в закрытой камере составила 24,28±1,27 мин. В ряду изученных 7-гидроксипропил-8-аминозамещенных теофиллина выявлены соединения, повышающие продолжительность жизни крыс при острой гипоксии. Антигипоксический эффект зависит от химического строения вещества. Выявлено химическое соединение под шифром γ-3120 – 7-(2-гидрокси-3-*п*-метоксифенокси)про-пил-8-диметиламинотеофиллин (соед. 7), которое на модели острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией по антигипоксической активности превосходит испытанные соединения и эталонный антигипоксикс мексидол на 7,1%.

Таблица  
Антигипоксическая активность  
в ряду 7-гидроксипропил-8-аминозамещенных теофиллина



№	Шифр	R	Доза, мг/кг	Антигипоксическая активность	
				Время пребывания в закрытой камере, мин	% к контролю
1	γ-3510	(4-фенилпиперазин-1-ил)	14,3	34,14±1,16	40,6
2	γ-3133	(3-имидазол-1-)-пропиламино	21,5	22,71±1,54	–
3	γ-3132	<i>н</i> -бутиламино	13,8	24,71±1,46*	1,7
4	γ-3123	<i>н</i> -пропиламино	16,8	35,28±1,52*	45,3
5	γ-3122	диэтиламино	18,3	38,14±1,98*	34,9
6	γ-3121	этиламино	22,8	31,85±1,59*	31,2
7	γ-3120	диметиламино	21,9	41,57±1,64*	71,2
8	γ-3205	<i>н</i> -гексиламино	11,3	23,57±1,09	–
9	г-3206	<i>л</i> -метилбензиламино	14,8	34,85±1,31	43,5
10	γ-3118	амино	26,8	36,42±1,22*	50,0
11	γ-3448	<i>м</i> -толиламино	22,1	38,14±1,98*	40,6
Мексидол			5,0	39,85±1,44	64,1
Контроль			–	24,28±1,27	100

При замене в 8-м положении диэтиламинового радикала (соед. 7) молекулы 7-гидроксипропил-8-аминозамещенных теофил-

лина, по убыванию антигипоксической активности исследуемые вещества можно расположить в следующей последовательности: диметилами-

новый (соед. 5), *m*-топиламиноый (соед. 11), аминовый (соед. 10), *n*-пропиламиноый (соед. 4), *p*-метилбензиламиноый (соед. 9), 4-фенилпиперазин-1-ильный (соед. 1). Продолжительность жизни крыс в условиях острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией уменьшалась с 41,57 мин (71,2%) до 34,14 мин (40,6%) ( $p < 0,05$ ).

Можно предположить, что увеличение продолжительности жизни опытных крыс в условиях острой нормобарической гипоксии является результатом улучшения метаболических процессов и повышением уровня АТФ в дыхательной цепи митохондрий под действием изучаемых соединений.

Менее выраженное антигипоксическое действие проявили 7-(2-гидрокси-3-*p*-метоксифеноксипропил-8-этиламинотеофиллин (соед. 6), 7-(2-гидрокси-3-*p*-метоксифеноксипропил-8-*n*-бутиламинотеофиллин (соед. 3), которые уменьшали продолжительность жизни в крыс с 31,2 мин до 18,4 мин. В митохондриях кардиомиоцитов скапливается большое количество недоокисленных жирных кислот, которые оказывают разрушающее действие на клеточные мембраны кардиомиоцитов и угнетают функцию сердечно-сосудистой системы и уменьшают способность выполнять физические нагрузки [1].

Замена в 8-м положении перечисленных выше фрагментов на (3-имидазоллил-1-)пропиламиноый (соед. 2) и *n*-гексиламиноый (соед. 8) приводит к утрате антигипоксической активности. Можно предположить, что это зависит от накопления в митохондриях кардиомиоцитов большого количества недоокисленных жирных кислот, которые угнетают функцию сердечно-сосудистой системы и уменьшают способность скелетной мускулатуры выполнять физические нагрузки

Энергетический запас клетки в виде макроэргических соединений и субстратов особенно важен в условиях гипоксии, поскольку поддержание жизнедеятельности органов и организма в целом возможно только до тех пор, пока дефицит энергии не достигнет своего критического уровня [2, 14].

В круговороте энергии АТФ является связующим звеном процессов, протекающих с выделением или потреблением энергии, и основным соединением, определяющим энергетическое состояние клеток организма. На основании полученных результатов можно предположить, что 7-(2-гидрокси-3-*p*-метоксифен-окси)пропил-8-диметиламинотеофиллин (соед. 7) может регулировать энергетические потоки в дыхательной цепи митохондрий и вызывать значительное уменьшение расходов АТФ, что способствует улучшению функции клеток и увеличению продолжительности жизни крыс [3].

Использование фармакологических средств с метаболическим механизмом действия занимает ведущее место в коррекции повышения выносли-

вости организма к физическим нагрузкам [8].

### Выводы

1. 7-(2-гидрокси-3-*p*-метоксифеноксипропил-8-диметиламинотеофиллин (соед. 7), в дозе 21,9 мг/кг увеличивал продолжительность жизни крыс на 71,2%, в условиях острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией.

2. Сравнительный анализ данных прогноза и экспериментальных результатов показал целесообразность применения компьютерной программы PASS в практике проведения скрининга биологически активных соединений.

### Перспективы дальнейших исследований

7-гидроксипропил-8-аминозамещенные теофиллина являются перспективной группой органических соединений для последующего синтеза и фармакологического скрининга с целью создания на их основе эффективных антигипоксических препаратов.

### Литература

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів / [За ред. О.В. Стефанова]. – К.: Авицена, 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. Кулагин К.Н. Влияние мексидола на функцию митохондрий мозга в раннем посттравматическом периоде / К.Н. Кулагин, В.Е. Новиков, Л.А. Ковалева // Вестн. Смоленской мед. академии. – 2004. – № 3. – С. 24-26.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
6. Лапач С.Н. Статистика в науке и бизнесе. Комплекс прикладных программ на CD для Microsoft Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко. – К.: Морион, 2002. – 639 с.
7. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии / Л.Д. Лукьянова // Патол. физиол. и эксперим. тер. – 2004. – № 2. – С. 2-11.
8. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – [15-е изд., перераб., испр. и доп.]. – М.: ООО "Изд-во Новая волна", 2009. – 1206 с.
9. Оковитый С.В. Антигипоксанты / С.В. Оковитый, А.В. Смирнов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – Т. 64, № 3. – С. 76-80.
10. Романенко М.И. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних імідазо[1,2-*f*]ксантиніл-8-алканових кислот / М.И. Романенко, Т.М. Рак, О.О. Мартинюк [и др.] // Вісник фармації. – Харків: Вид-во НФаУ. – 2011. – № 1 (65). – С. 38-41.
11. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М.: Медицина, 2000. – С. 308-328.
12. Смирнов А.В. Антигипоксанты в неотложной медицине / А.В. Смирнов, Б.И. Криворучка // Анест. и реаниматол. – 1998. – № 2. – С. 50-57.
13. 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.
14. Khazanov V.A. Cardioprotective effects of trimetazidine and a combination of succinic and malic acids in acute myocardial ischemia / V.A. Khazanov, A.A. Kiseliova, K.Y. Vasiliev, G.A. Chernyshova // Bull. Exp. Biol. Med. – 2008. – Vol. 146, № 2. – P. 218-222.
15. Pavlov O.O. Effect of antihypoxant actovegin on dynamics of markers of the oxygen cascade / O.O. Pavlov // Klin. Khir. – 2008. – № 9. – P. 57-59.
16. 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.
17. 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.

**References**

1. Doklinichni doslidzhennja likars'kih zasobiv / [Za red. O.V.Stefanova]. – K. : Avicena, 2001. – S. 433-443.
2. Koptov S.V. Sovremennye aspekty primeneniya antigipoksantov v medicine kriticheskikh sostojanij / S.V. Koptov, A.E. Vahrushev, Ju.V. Pavlov // Novye Sankt-Peterburgskie vrachebnye vedomosti. – 2002. – № 2. – S. 54-56.
3. Kostjuchenko A.L. Sovremennye real'nosti klinicheskogo primeneniya antigipoksantov / A.L. Kostjuchenko, N.Ju. Semigolovskij // FARMindex : PRAKTIK. – 2002. – Vyp. 3. – S. 102-122.
4. Kulagin K.N. Vlijanie meksidola na funkciu mitohondrij mozga v rannem posttravmaticheskom periode / K.N. Kulagin, V.E. Novikov, L.A. Kovaleva // Vestn. Smolenskoj med. akademii. – 2004. – № 3. – S. 24-26.
5. Lapach S.N. Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovanijah s ispol'zovaniem EXCEL / S.N. Lapach, A.V. Chubenko, P.N. Babich. – K. : Morion, 2000. – 320 s.
6. Lapach S.N. Statistika v nauke i biznese. Kompleks prikladnyh programm na CD dlja Microsoft Excel / S.N. Lapach, A.V. Chubenko. – K. : Morion, 2002. – 639 s.
7. Luk'janova L.D. Rol' bioenergeticheskikh narushenij v patogeneze gipoksii / L.D. Luk'janova // Patol. fiziol. i jeksperim. ter. – 2004. – № 2. – S. 2-11.
8. Mashkovskij M.D. Lekarstvennye sredstva / M.D. Mashkovskij. – [15-e izd., pererab., ispr. i dop.]. – M. : OOO "Izd-vo Novaja volna", 2009. – 1206 s.
9. Okovityj S.V. Antigipoksanty / S.V. Okovityj, A.V. Smirnov // Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. – 2001. – T. 64, № 3. – S. 76-80.
10. Romanenko M.I. Sintez, fiziko-himichni ta biologichni vlastivosti pohidnih imidazo[1,2-f]ksantiniil-8-alkanovih kislot / M.I. Romanenko, T.M. Rak, O.O. Martinjuk [i dr.] // Visnik farmacii. – Harkiv : Vid-vo NfaU. – 2011. – № 1 (65). – S. 38-41.
11. Sernov L.N. Jelementy jeksperimental'noj farmakologii / L.N. Sernov, V.V. Gacura. – M. : Medicina, 2000. – S. 308-328.
12. Smirnov A.V. Antigipoksanty v neotlozhnoj medicine / A.V. Smirnov, B.I. Krivoruchka // Anest. i reanimatol. – 1998. – № 2. – S. 50-57.
13. 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. – R. 143-153.
14. Khazanov V.A. Cardioprotective effects of trimetazidine and a combination of succinic and malic acids in acute myocardial ischemia / V.A. Khazanov, A.A. Kiseliova, K.Y. Vasiliev, G.A. Chernyschova // Bull. Exp. Biol. Med. – 2008. – Vol. 146, № 2. – R. 218-222.
15. Pavlov O.O. Effect of antihypoxant actovegin on dynamics of markers of the oxygen cascade / O.O. Pavlov // Klin. Khir. – 2008. – № 9. – R. 57-59.
16. Ucar Z.Z. Nocturnal hypoxia and arterial lactate levels in sleeprelated breathing disorders / Z.Z. Ucar, Z. Taymaz, A.E. Erbaycu [et al.] // South. Med. J. – 2009. – Vol. 102, № 7. – R. 693-700.
17. 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. – R. 261-272.

**Реферат**

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИГІПОКСИЧНОЇ АКТИВНОСТІ 7-ГИДРОКСИПРОПІЛ-8-АМІНОЗАМІЩЕНИХ ТЕОФІЛІНУ

Дученко К.А., Корнієнко В.І., Самура Б.А. Іванченко Д.Г., Ладогубець О.В., Романенко М.І.

Ключові слова: 7-гідроксипропіл-8-замещіні теофіліну, антигіпоксична активність.

Проведені скринінгові дослідження антигіпоксичної активності 7-гідроксипропіл-8-амінозамещіних теофіліну. Встановлено, що сполука 7-(2-гідрокси-3-п-метоксифенокси) пропіл-8-диметиламінотеофілін (спол. 7) в дозі 21,9 мг/кг збільшувала тривалість життя щурів на 71,2% в умовах гострої нормобаричної гіпоксії з гіперкапнією. Похідні 7-(2-гідрокси-3-п-метоксифенокси) пропіл-8-замещіних теофіліну є перспективною групою органічних речовин для подальшого проведення направленої синтезу і пошуку нових фармакологічних речовин з антигіпоксичною активністю.

**Summary**

EVALUATION OF ANTIHYPOXIC ACTION PRODUCED BY 7-HYDROXYPROPYL-8- AMINOSUBSTITUTED OF THEOPHYLLINE

Duchenko E. A., Korniienko V. I., Samura B. A., Ivanchenko D. H., Ladohubets E. V., Romanenko N. I.

Key words: 7- hydroxypropyl -8- aminosubstituted of theophylline, antihypoxic action.

This paper describes the data obtained by screening of antihypoxic action produced by 7- hydroxypropyl -8- aminosubstituted of theophylline. It was determined the compound of 7-(2-hydroxy-3-p-methoxopenex) propyl-8-dimethylamino-theophylline (union 7) in the dose of 21,9 mg/kg increased the rats' life span by 71,2% in acute normobaric hypoxia with hypercapnia. Derivatives of 7-(2-hydroxy-3-p-methoxopenex) propyl-8 theophylline substitutes are prospective group of organic substances for further fusion (synthesis) and search for new pharmacological substances with antihypoxic action.