

УДК 615.212.015 : 615.31'857.4 '211.024

Григорьева Л. В., Самура И. Б., Романенко Н. И., Тихоновский А. В.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ 8-АМИНОЗАМЕЩЕННЫХ 3-МЕТИЛКСАНТИНА

Харьковский государственный университет имени В.Н. Каразина
Запорожский государственный медицинский университет

Актуальной проблемой экспериментальной фармакологии и современной медицины является поиск и создание новых эффективных, безопасных лекарственных препаратов, направленных на устранение болевого синдрома. Целью данного исследования было изучение зависимости анальгетической активности от структуры впервые синтезированных 8-аминозамещенных 3-метилксантинов. Сравнительная оценка обезболивающей активности новых 8-аминозамещенных 3-метилксантина проведена на экспериментальной модели химического раздражения брюшины, индуцированного введением уксусной кислоты у крыс. Выраженную анальгетическую активность проявило соединение 5 – 7-(3-п-этоксифенокси) пропила-8-диэтиламино-теофиллин, которое вызвало уменьшение развития экспериментальных корчей у крыс на 44,1%. Анальгетическая активность соединения 5 превышала эффективность референс-препарата метамизола в 1,3 раза и была сопоставима с активностью диклофенака натрия.

Ключевые слова: 8-аминозамещенные 3-метилксантина, анальгетическая активность, метамизол, диклофенак натрия.

Данная работа является фрагментом НИР ЗГМУ «Синтез, физико-химические и биологические свойства ксантиновых ксенобиотиков», № государственной регистрации 1Н15.00.02.01.

В организме человека восприятие, проведение и анализ болевых сигналов сопровождают нервные структуры, входящие в состав соматосенсорного анализатора афферентной нервной системы. Болевые синдромы, возникающие вследствие активации афферентных рецепторов при травме, воспалении, ишемии, растяжении тканей, относят к соматогенным болевым синдромам.

Статистические данные свидетельствуют о том, что во всем мире хроническим болевым синдромом страдают миллионы людей. По данным ВОЗ известно, что болевые синдромы составляют одну из ведущих причин обращений к врачу в системе первичной медицинской помощи, а в структуре неврологического приема такие пациенты составляют более половины обращений. Хронический болевой синдром изменяет физическое и эмоциональное состояние пациентов, качество жизни, уменьшает трудоспособность [4].

В настоящее время в комплексной терапии острых и хронических заболеваний для купирования боли и уменьшения выраженности воспалительной реакции применяют большое количество лекарственных препаратов, преимущественно из группы нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), которые имеют различную химическую структуру и отличаются выраженностью и продолжительностью обезболивающего действия [2;12;13;15].

Анальгетическая и противовоспалительная активность НПВС связана с уменьшением биосинтеза простагландинов (ПГ) и других гуморальных медиаторов боли. Современные представления о механизме действия НПВС объясняются не только степенью ингибирования ЦОГ, но и торможением хемотаксиса и активности нейтрофилов, антиоксидантным действием и уменьшением продукции токсических кислородных радикалов, стимулированием нейтрофилов

и синтетазы оксида азота [7].

Ранее считали, что ЦОГ является единственным ферментом, ингибирование которого снижает синтез простагландинов, участвующих в развитии воспаления. ЦОГ-2 регулирует синтез ПГ, индуцированных различными провоспалительными стимулами, а ЦОГ-1 определяет продукцию ПГ, принимающих участие в нормальных физиологических клеточных реакциях, не связанных с развитием воспаления [8;11].

Анальгетическая активность ненаркотических анальгетиков проявляется при определенных видах болевых ощущений, главным образом при невралгических, мышечных, суставных, головной и зубной боли [2].

Наряду с обезболивающим и противовоспалительным эффектами большая часть НПВС вызывают побочные нежелательные реакции, в том числе эрозивно-язвенные поражения желудочно-кишечного тракта, выраженные изменения функции печени, почек и другие нарушения [6].

Ограничения обезболивающей терапии НПВС блокаторами цикло-оксигеназы (ЦОГ-1) уменьшают возможность их применения [9;10;14]. Неселективные ненаркотические анальгетики могут вызывать развитие язвенного поражения [6], вследствие снижения синтеза гастропротекторных простагландинов, а селективные блокаторы ЦОГ-2 несут угрозу развития тромботических осложнений, в том числе инфаркта миокарда [7;8;11].

Другим циклооксигеназным продуктом являются тромбоксан А₂, ингибирование синтеза которого НПВС нарушает агрегацию тромбоцитов и способствует кровоточивости. Кроме того, ПГ играют важную роль в регуляции клубочковой фильтрации, секреции ренина и поддержании водно-электролитного баланса. Очевидно, что ингибирование ПГ может приводить к разнообразным нарушениям функции почек, особенно у

больных с сопутствующей почечной патологией.

В связи с этим, в настоящее время поиск новых фармакологических веществ, обладающих выраженным обезболивающим действием, направлен на создание препаратов, сочетающих высокую эффективность с улучшенной переносимостью. Фармакологическая коррекция болевого синдрома является актуальной проблемой современной практической медицины.

При поиске новых анальгетических веществ наше внимание привлекли новые производные 8-аминозамещенных 3-метилксантинов.

Цель исследования

Изучение зависимости анальгетической активности от структуры впервые синтезированных 8-аминозамещенных 3-метилксантинов.

Объект и методы исследования

Объектом исследования были 10 соединений в ряду 8-аминозамещенных 3-метилксантинов, синтез которых осуществлен на кафедре биологической химии Запорожского государственного медицинского университета под руководством доктора фармацевтических наук, профессора Романенко Н.И. [16;17].

Структура синтезированных соединений подтверждена с помощью современных физико-химических методов элементного анализа, УФ-, ИК-, ПМР- и масс-спектрометрии, встречным синтезом, а чистота синтезированных веществ контролировалась методом тонкослойной хроматографии. Данные вещества являются белыми кристаллическими порошками, без запаха, с горьким вкусом, не растворимые в воде, легко растворимые в диметилформамиде, диметилсульфоксиде, практически не растворимые в эфире, этаноле, хлороформе.

Оценку обезболивающей активности новых 8-аминозамещенных 3-метилксантина проведено на экспериментальной модели химического раздражения брюшины, индуцированного введением уксусной кислоты у крыс. Анальгетическую активность 8-аминозамещенных-3-метилксантинов (соединения 1-10) исследовали на модели «уксусных корчей» в опытах на беспородных крысах массой 175-195 г. Корчи вызывали внутрибрюшинным введением 0,75% водного раствора уксусной кислоты в дозе 1 мл на 100 г массы тела животного. Исследуемые вещества вводили внутривентриально за 30 минут до введения уксусной кислоты [3]. Подсчет числа корчей проводили спустя 20 минут после внутрибрюшинного введения уксусной кислоты в течение 30 минут. Изучаемые вещества вводили внутривентриально в дозе 0,05 ЛД₅₀ с помощью специального металлического зонда за 30 минут до введения уксусной кислоты. Уменьшение количества корчей у животных, по сравнению с контрольной группой, служило показателем анальгетической активности исследуемых веществ. В качестве референс-препаратов ис-

пользовали метамизол (ЕД₅₀=50,0 мг/кг), диклофенак натрия (ЕД₅₀=8 мг/кг). Анальгетическую активность выражали в процентах снижения числа уксусных корчей у опытных крыс по сравнению с контрольными. Анальгетическую активность рассчитывали по формуле:

$$\frac{Y_k - Y_o}{Y_k} \cdot 100$$

% Анальгетическая активность = $\frac{Y_k - Y_o}{Y_k} \cdot 100$, где Y_k и Y_o соответственно количество корчей в контроле и в опыте [3;5].

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), согласованы с требованиями «Европейской конвенции защиты хребетных животных, которых используют для экспериментальных и научных целей». 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 и стандартной ошибки среднего значения. Достоверность отличий между экспериментальными группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента и U-критерия Уитни-Манна компьютерной программы «Statistica for Windows 7.0». (Statsoft Inc. №AXXR712D833214 FAN5), для всех видов анализа статистически значимыми считали отличия при уровне значимости не менее 0,05 [1].

Результаты исследований и их обсуждение

Наблюдение за животными вели с момента моделирования асептического воспаления и уксусных корчей. Было установлено, что исследуемые 8-аминозамещенные 3-метилксантина обладают выраженной анальгетической активностью. Большинство веществ в ряду 8-аминозамещенных 3-метилксантинов проявили уменьшение болевой реакции висцеральных ноцицепторов на раздражающее действие уксусной кислоты (табл.).

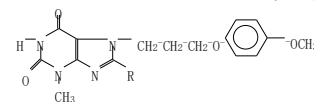
Наибольший анальгетический эффект среди 8-диэтиламинозамещенных 3-метилксантинов проявило соединение 5, которое в дозе 19,6 мг/кг вызывало достоверное уменьшение количества уксусных корчей на 44,1% ($p < 0,05$). Замена в 8-м положении молекулы 7-(3-п-этоксифенокси) пропил-8-амино-3-метилксантина диэтиламинового радикала (соединение 5) на аминовый (соединение 10), *n*-пропиламиновый (соединение 4), диметиламиновый (соединение 7), этиламиновый (соединение 6), *n*-бутиламиновый (соединение 3) и *p*-метилбензиламиновый (соединение 9) радикалы приводит к снижению анальгетической активности с 44,1 до 19,6%.

Выраженную обезболивающую активность проявило соединение 5 – 7-(3-*p*-этоксифенокси)

пропил-8-диэтиламино-теофиллин, которое вызвало уменьшение развития экспериментальных корчей у крыс на 44,1%. Анальгетическая активность соединения 5 превышала активность

референс-препарата метамизола в 1,3 раза и была сопоставима с активностью диклофенака натрия.

Таблица
Анальгетическая активность 7-(3-п-этоксифенокси) пропил-8-аминозамещенных 3-метилксантинов (n=7)



Соединение №	R	Доза мг/кг	Количество корчей	% к контролю	Анальгетическая активность
1	(4-фенилпиперазин-1-ил)	15,2	30,2±0,62*	88,3	11,7
2	(3-имидазол-1-пропиламино)	20,4	31,5±0,84	92,1	7,9
3	н-бутиламино	14,5	26,7±0,72	78,1	21,9
4	н-пропиламино	17,3	21,6±0,37*	63,2	36,8
5	диэтиламино	19,6	19,1±0,46*	55,9	44,1
6	этиламино	23,9	25,6±0,84*	74,9	25,1
7	диметиламино	21,7	21,4±0,28*	63,6	36,4
8	н-гексиламино	12,1	30,4±0,72	88,8	11,2
9	л-метилбензиламино	15,6	27,5±0,41	80,4	19,6
10	амино	27,5	19,8±0,54*	57,9	42,1
Метамизол		50,0	22,4±3,8	65,4	34,6
Диклофенак натрия		8,0	17,9±0,47*	47,7	52,3
Контроль		-	34,2±0,41	100	-

Примечание: * – при $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таким образом, анализ химической структуры 7-(3-п-этоксифенокси) пропил-8-диэтиламино-3-метилксантина и его структурных свойств позволяет предположить наличие высокой биологической активности у его производных. Наличие высокой анальгетической активности у новых впервые синтезированных соединений способствует продолжению поиска активных химических структур и изучению их физиологической активности.

По данным отечественной и зарубежной литературы известно, что в настоящее время синтезированы различные производные 3-метилксантинов, многие из которых обладают широким спектром биологической активности. Анальгетическая активность соединения 5 превосходит метамизол и сопоставима с анальгетическим эффектом диклофенака натрия.

Выводы

1. Соединение 5 – 7-(3-п-этоксифенокси) пропил-8-диэтиламино-теофиллин обладает выраженной анальгетической активностью, которая превосходит метамизол и сопоставима с действием диклофенака натрия.

2. Производные 8-аминозамещенных 3-метилксантина являются перспективной группой органических веществ для дальнейшего целенаправленного синтеза и проведения фармакологического скрининга с целью создания эффективных и менее токсичных ненаркотических анальгетических средств.

Перспективы дальнейших исследований

Производные 8-амино-3-метилксантина являются перспективной группой гетероцикличе-

ских веществ для создания на их основе эффективных и безопасных ненаркотических анальгетических препаратов.

Литература

- Лапач С.Н. Статистика в науке и бизнесе. Комплекс прикладных программ на CD для Microsoft Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев : МОРИОН, 2002. – 639 с.
- Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – изд. 16-е, перераб., испр. и доп. – М. : Новая Волна, 2012. – 1216 с.
- 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.
- Насонов Е.Л. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов и ингибиторов циклооксигеназы-2 в начале XXI века / Е.Л. Насонов // Русский Медицинский Журнал. – 2003. – Т. 11, № 7. – С. 375-378.
- Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М., 2000. – 352 с.
- 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.
- Anderson G.D. Selective inhibition of cyclo-oxygenase-2 reverses inflammation and expression of COX-2 and IL-6 in rat adjuvant arthritis / G.D. Anderson, S.D. Hauser, M.E. Bremer [et al.] // J. Clin. Invest. – 1996. – № 97. – P. 2672-2679.
- Crofford L.J. Thrombosis in patients with connective tissue diseases treated with specific cyclooxygenase 2 inhibitors: a report of four / L.J. Crofford, J.C. Oates, W.J. Cune [et al.] // Arthritis Rheum. – 2000. – Vol. 43. – P. 1891-1896.
- 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.
- Hinz B. More pronounced inhibition of cyclooxygenase 2, increase in blood pressure, and reduction of heart rate by treatment with diclofenac compared with celecoxib and rofecoxib / B. Hinz, H. Dormann, K. Brune // Arthritis Rheum. – 2006. – № 54(1). – P. 282-291.
- 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.
- Kornienko V.I. The dependence of antihypocytic activity on chemical structure in series of N-(3-methyl-7-acetylmethylxanthinil)-8-hihtrazine ammonium salts / V.I. Kornienko, B.A. Samura, N.I.

- Romanenko // Med. J. Curierul medical. – 2013. – Vol. 56, № 2. – P. 78-81.
13. Kornienko V.I. Conformity research of antiexudative activity of the chemical structure among 7-benzoyl-8-substituted theophyllines / V.I. Kornienko, E.V. Tarasyavichyus, B.A. Samura, N.I. Romanenko // Medicinos. – 2013. – Vol. 19, № 2. – P.137-140.
14. Masferrer J.L. Selective regulation of cellular cyclooxygenase by dexamethasone and endotoxin in mice / J.L. Masferrer, B.S. Zweifel, K. Seibert [et al.] // J. Clin. Invest. – 2007. – Vol. 86. – P. 1375-1379.
15. Penning T.D. Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: identification of SC-58636 (celecoxib) / T.D. Penning, J.J. Talley, S.R. Bertenshaw [et al.] // J. Med. Chem. – 1997. – Vol. 40. – P. 1347-1365.
16. Romanenko N.I. 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. – Tashkent-Bukhara, Republic of Uzbekistan, 2013. – P. 268.
17. Romanenko N.I. Synthesis, physical-chemical and biological properties of 8-aminosubstituted 7-β-hydroxy (oxo)alkyl (aryl)-xanthenes / N.I. Romanenko, V.I. Kornienko, O.A. Pakhomova, T.N. Rak, M.V. Nazarenko, B.A. Samura // Xth International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds Nov. –Tashkent-Bukhara, Republic of Uzbekistan, 2013. – P. 269.

Реферат

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АНАЛЬГЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ДЕЯКИХ 8-АМІНОЗАМІЩЕНИХ 3-МЕТИЛКСАНТИНУ

Григор'єва Л. В., Самура І. Б., Романенко М. І., Тихоновський О. В.

Ключові слова: 8-амінозаміщені 3-метилксантину, анальгетична активність, метамізол, диклофенак натрію.

Актуальною проблемою експериментальної фармакології і сучасної медицини є пошук і створення нових ефективних, безпечних лікарських препаратів, спрямованих на усунення більового синдрому. Метою даного дослідження було вивчення залежності анальгетичної активності від структури вперше синтезованих 8-амінозаміщених 3-метилксантинів. Порівняльна оцінка знеболюючої активності нових 8-амінозаміщених 3-метилксантину проведена на експериментальній моделі хімічного подразнення очеревини, індукованого введенням оцтової кислоти у щурів. Виражену анальгетичну активність виявила сполука 5 – 7-(3-*p*-етоксіфеноксі) пропіл-8-діетиламіно-теофілін, яка викликала зменшення розвитку експериментальних судом у щурів на 44,1%. Анальгетична активність сполуки 5 перевищувала ефективність референс-препарату метамізолу в 1,3 рази і була порівняна з активністю диклофенаку натрію.

Summary

EXPERIMENTAL STUDY OF ANALGESIC ACTION OF SOME 8-AMINO-SUBSTITUTED OF 3-METHYL XANTHINE

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

Key words: 8-substituted of 3-methylxantine, analgesic activity, metamizole, diclofenac sodium.

An urgent issue of experimental pharmacology and modern medicine is searching for new effective, safe drugs aimed at eliminating the pain syndrome. The aim of this research was to study the dependence of analgesic activity on the structure first synthesized 8-amino-substituted 3-methylxanthine. A comparative evaluation of the analgesic action of new 8-amino-substituted 3-methylxanthine was carried out on rats subjected to the chemical peritoneal stimulation induced by acetic acids. The pronounced analgesic activity was shown by the compound of 5 – 7-(3-*p*-ethoxyphenoxy) propyl-8-diethylamino-theophylline, which reduced the development of experimental cramps in the rats by 44.1%. The analgesic activity of the compound 5 exceeded the efficacy of the reference preparation metamizole by a factor of 1.3 and was comparable to that of diclofenac sodium.