

О. В. Севрюков, В. А. Волковой, С. В. Колісник, К. М. Ситнік

Визначення антиексудативної активності нових сполук у ряду похідних 5,7-дигідро-1H-піроло [2,3-d] піримідину

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: антиексудативна активність, карагеніновий набряк, похідні 5,7-дигідро-1H-піроло[2,3-d] піримідину, гостра токсичність

Запалення – місцева реакція живої тканини на ушкодження, яка може протікати як хвороба за участю всіх систем організму. Причини запалення можуть бути різними: від дії мікроорганізмів до дії фізичних та хімічних факторів. У патогенезі запальних реакцій одним з ключових механізмів ушкодження тканин є процес вільно-радикального окиснення. За тривалої активації окисних процесів відбувається розвиток синдрому ліпопероксидації – ушкодження мембранних ліпідів, накопичення продуктів перекисної деструкції ліпідів і білків, які порушують структуру мембран клітин та призводять до розвитку альтеративних і ексудативних процесів у тканинах [1]. Для лікування запальних процесів застосовують нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), механізм дії яких пов'язаний зі здатністю пригнічувати синтез простагландинів шляхом блокування ферментів циклооксигенази. Деякі НПЗЗ здатні інгібувати утворення вільних радикалів, що визначає їхню антиокиснювальну, антиоксидантну та мембраностабілізуючу дію. Фармакологічна корекція запального процесу залишається найактуальнішою проблемою сучасної медицини, а перспективні протизапальні препарати крім антиексудативної активності мають проявляти антиоксидантну [2, 3]. Становило інтерес вивчити протизапальну (антиексудативну) активність нових похідних 5,7-дигідро-1H-піроло[2,3-d] піримідину, що були синтезовані на кафедрі органічної хімії Національного фармацевтичного університету доцентом К. М. Ситні-

ком під керівництвом академіка В. П. Черниха. На кафедрі патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету було встановлено, що деякі з цих сполук мали антигіпоксичну та антиоксидантну активність.

Мета дослідження – вивчити антиексудативну активність нових похідних 5,7-дигідро-1H-піроло[2,3-d] піримідину на моделі карагенінового набряку в щурів та гостру токсичність сполуки-лідера.

Матеріали та методи. Антиексудативну активність вивчали на білих нелінійних щурах масою 180–200 г на моделі набряку, викликаного субплантарним введенням у стопу щура 0,1 мл 1 % розчину карагеніну [4]. У механізмі розвитку карагенінового набряку беруть участь різні медіатори запалення: у перші 30–90 хв – переважно серотонін і гістамін, у інтервалі 1,5–2,5 год – кініні, а 2,5–5,5 год – простагландини. За 1 год до введення карагеніну 1 групі тварин (контрольна патологія) внутрішньошлунково вводили 1 мл дистильованої води, іншим групам вводили внутрішньошлунково одну з досліджуваних сполук у дозі 8 мг/кг маси тварини, або вольтарен (диклофенак натрію) – стандартний препарат порівняння, класичний інгібітор ЦОГ внутрішньошлунково в ефективній дозі – 8 мг/кг. У кожній групі було по 6 тварин. За розвитком набряку спостерігали в динаміці через 1, 2, 3, 4 год, для чого вимірювали об'єм стоп за допомогою механічного онкометра А. С. Захаревського. Максимальний набряк спостерігали через 4 год. Величину набряку розраховували за різницею між об'ємом здорової та набряклої кінцівки. Антиексудативну активність досліджуваних сполук визначали за ступенем зменшення набряку в дослідних тварин відносно

контрольної групи. Антиексудативну активність виражали у відсотках і розраховували за формулою:

$$A = \frac{V_k - V_d}{V_k} \cdot 100 \%,$$

де A – антиексудативна активність;
($V_k - V_d$) – різниця об'ємів між ненабряклого та набряклого стопою в контролі та досліді.

Середньосмертельну дозу сполуки KMS-211, яка проявила найвищу антиексудативну активність, розраховували за методом Кербера [5]. Розрахунки LD_{50} проводили за формулою:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\Sigma(zd)}{n};$$

де LD_{100} – кількість речовини, яка викликала летальний ефект у 100 % стандартної групи піддослідних тварин протягом терміну спостереження;

d – інтервал між кожними двома суміжними дозами;

z – середнє арифметичне з числа загиблих тварин під впливом кожних двох суміжних доз;

$\Sigma(zd)$ – сума середньоарифметичних чисел;

n – кількість піддослідних тварин у кожній групі.

Стандартну похибку середньої величини LD_{50} визначали за формулою Геддама:

$$S_{LD_{50}} = \sqrt{\frac{Ksd}{n}},$$

де K – коефіцієнт 0,564;

s – стандарт розподілення;

d – інтервал між кожними двома суміжними дозами;

n – число тварин у групах.

Верхню та нижню довірчі межі LD_{50} сполуки KMS-211 визначали за формулою $x - t \cdot S_x$ та $x + t \cdot S_x$, t – величина, що залежить від n і знаходиться за таблицею (при $f = n - 1$, $n = 6$ і $p = 0,05$, $t = 2,45$). Експерименти було проведено на 6 групах тварин. Субстанцію KMS-211 вводили внутрішньоочеревинно мишам у дозах 1000, 1500, 2000, 2500, 3500 мг/кг маси тіла тварини, щурам – 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000 мг/кг маси тіла.

Статистичну достовірність оцінювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA. Достовірною вважали різницю при $p < 0,05$ [6].

Результати та їх обговорення. Вивчено 15 нових сполук під шифрами: KMS: 161, 162, 163, 164, 166, 168, 172, 174, 176, 178, 179, 191, 211, 214, 217, що являються похідними 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину.

Аналіз отриманих даних (табл. 1) свідчить про те, що з 15 сполук тільки 4 (KMS-191, 211, 214, 217) проявили антиексудативну активність у межах від 36,9 до 48,8 %. Найбільшу флоголітичну активність, аналогічну дії вольтарену, виявлено в сполуки KMS-211 ($p < 0,05$ щодо контролю).

Аналізуючи хімічну залежність нових сполук можна вважати, що похідні 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину (сполуки KMS-191, 211, 214, 217) становлять перспективну групу для подальшого вивчення. Інші похідні проявили меншу протизапальну дію (сполуки KMS: 178, 179), інші сполуки не проявили антиексудативну дію.

Середньосмертельну дозу найактивнішої сполуки KMS-211 (умовна назва «Дезапур») визначали за методом Кербера на двох видах тварин при внутрішньоочеревинному введенні (табл. 2, 3).

Виходячи з отриманих результатів, було розраховано середньосмертельну дозу сполуки KMS-211 для мишей при внутрішньоочеревинному введенні, що становить 3041,7 мг/кг (3187,13 ÷ 2896,27), для щурів 4250 мг/кг (4421,4 ÷ 4078,6). За класифікацією К. К. Сидорова, сполука KMS-211 відноситься до VI класу, тобто є речовиною відносно нешкідливою [7].

Висновки

1. Серед нових похідних 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину виявлено сполуку KMS-211 з антиексудативною дією, аналогічною диклофенаку.
2. Середньосмертельна доза сполуки KMS-211 при внутрішньоочеревинному введенні мишам та щурам, розрахована за методом Кербера, дорівнює 3041,7 мг/кг та 4250 мг/кг відповідно.

Таблиця 1

Антиексудативна дія похідних 5,7-дигідро-1H-піроло[2,3-d] піримідину на моделі карагенінового набряку в щурів

Шифр сполуки	Об'єм кінцівки, від. од., $\bar{X} \pm Sx$	Антиексудативна активність, %
Набряк (контроль)	21,40 ± 0,54	–
Вольтарен	10,90 ± 0,33*	49,2
KMS-161	22,80 ± 0,48	-6,8
KMS-162	23,30 ± 0,53	-8,9
KMS-163	22,90 ± 0,41	-7,2
KMS-164	20,35 ± 0,59	4,9
KMS-166	21,1 ± 0,5	1,3
KMS-168	21,30 ± 0,58	0,5
KMS-172	21,30 ± 0,63	0,5
KMS-174	21,60 ± 0,58	-1,2
KMS-176	21,20 ± 0,55	0,8
KMS-178	18,40 ± 0,76*	14,0
KMS-179	17,43 ± 0,42*	18,6
KMS-191	11,33 ± 0,45*	47,1
KMS-211	11,00 ± 0,38	48,8
KMS-214	12,66 ± 0,27*	40,8
KMS-217	13,51 ± 0,33*	36,9

Примітка. *Достовірно щодо контролю ($p < 0,05$), $n = 6$.

Таблиця 2

Визначення гострої токсичності сполуки KMS-211 (Дезапуру) у мишей при внутрішньоочеревинному введенні, $n = 6$

Серія	Доза, мг/кг	Кількість тварин, що вижили	Кількість загиблих тварин, %	
			кількість	%
I	1000	6	0	0,00
II	1500	6	0	0,00
III	2000	6	0	0,00
IV	2500	5	1	16,70
V	3000	3	3	50
VI	3500	0	6	100

Таблиця 3

Визначення гострої токсичності сполуки KMS-211 (Дезапуру) у щурів при внутрішньоочеревинному введенні, $n = 6$

Серія	Доза, мг/кг	Кількість тварин, що вижили	Кількість загиблих тварин, %	
			кількість	%
I	2500	6	0	0,00
II	3000	6	0	0,00
III	3500	5	1	16,70
IV	4000	4	2	33,33
V	4500	3	3	50
VI	5000	0	6	100

1. Acute oral toxicity and anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extract from *Lampaya medicinalis* Phil in rats / G. Morales, A. Peredes, A. Olivares [et al.] // *Biological Research*. – 2014. – V. 47 (6).
2. New drug targets in depression: inflammatory, cell-mediate immune, oxidative and nitrosative stress, mitochondrial, antioxidant and neuroprogressive pathways / Maes M., Fisar Z., Medina M., Scapagnini G. // *Inflammopharmacology*. – 2012. – Т. 20 (3). – P. 127–150.
3. Caro A. A. Oxidative stress, toxicology, and pharmacology of CYP 2 E1 / A. A. Caro, A. I. Cererbum // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2004. – V. 44. – P. 27–42.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів / О. В. Стефанов. – Київ : «Авіцена», 2001. – С. 292–307.
5. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – Москва : Медицина, 2000. – С. 117–320.
6. Методы статистической обработки медицинских данных : методические рекомендации / А. Г. Кочетов, О. В. Лянг, И. В. Жиров [и др.]. – Москва : РКНПК, 2012. – 42 с.
7. Сидоров К. К. Токсикология новых промышленных химических веществ. – Вып. 13. – Москва, 1973. – С. 47–51.

О. В. Севрюков, В. А. Волковой, С. В. Колісник, К. М. Ситнік
Визначення антиексудативної активності нових сполук в ряду похідних 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину

Мета дослідження – вивчення антиексудативної активності нових похідних 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину на моделі карагенинового набряку в щурів та гострої токсичності сполуки-лідера.

Антиексудативну активність вивчали на білих нелінійних щурах масою 180–200 г на моделі набряку, викликаного субплантарним введенням у стопу щура 0,1 мл 1 % розчину карагенину. За 1 год до введення карагенину 1 групі тварин (контрольна патологія) внутрішньошлунково вводили 1 мл дистильованої води, іншим групам вводили внутрішньошлунково одну з досліджуваних сполук у дозі 8 мг/кг маси тварини або вольтарен – стандартний препарат порівняння в ефективній дозі 8 мг/кг внутрішньошлунково. За розвитком набряку спостерігали в динаміці через 1, 2, 3, 4 год, для чого вимірювали об'єм стоп за допомогою механічного онкометра А. С. Захаревського. Середньосмертельну дозу сполуки KMS-211, яка проявила найвищу антиексудативну активність, досліджували на двох видах тварин за внутрішньоочеревинного введення та розраховували за методом Кербера.

Аналіз отриманих даних свідчить про те, що з 15 сполук тільки 4 (KMS-191, 211, 214, 217) мали антиексудативну активність у межах від 36,9 до 48,8 %. Найбільшу флоголітичну активність, аналогічну дії вольтарену, виявлено в сполуки KMS-211.

Середньосмертельна доза сполуки KMS-211 для мишей при внутрішньоочеревинному введенні становить 3041,7 мг/кг (3187,13 ± 2896,27), для щурів – 4250 мг/кг (4421,4 ± 4078,6).

Таким чином, серед досліджуваних похідних 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину найвищу антиексудативну активність виявила сполука KMS-211, яка за визначенням середньосмертельної дози може бути віднесена до VI класу токсичності за класифікацією К. К. Сидорова (порівняно нетоксичні речовини).

Ключові слова: антиексудативна активність, карагениновий набряк, похідні 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину, гостра токсичність

А. В. Севрюков, В. А. Волковой, С. В. Колесник, К. М. Ситнік
Определение антиэкссудативной активности новых соединений в ряду производных 5,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-d]пириимидина

Цель исследования – изучить антиэкссудативную активность новых производных 5,7-дигидро-1Н-пирроло [2,3-d] пириимидина на модели карагенинового отека у крыс и острую токсичность соединения-лидера. Антиэкссудативную активность изучали на белых нелинейных крысах 180–200 г на модели отека, вызванного субплантарным введением в стопу крысы 0,1 мл 1 % раствора карагенина. За 1 ч до введения карагенина одной группе животных (контрольная патология) внутрижелудочно вводили 1 мл дистиллированной воды, остальным группам – вводили внутрижелудочно одно из исследуемых соединений в дозе 8 мг/кг массы животного или вольтарен – стандартный препарат сравнения в его эффективной дозе 8 мг/кг. За развитием отека наблюдали в динамике через 1, 2, 3, 4 ч, для чего измеряли объем стоп с помощью механического онкометра А. С. Захаревского. Среднесмертельную дозу соединения KMS-211, которое проявило высокую антиэкссудативную активность, определяли на двух видах животных при внутрибрюшинном введении и рассчитывали по методу Кербера.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что среди 15 соединений только 4 (KMS-191, 211, 214, 217) проявили антиэкссудативную активность в пределах от 36,9 до 48,8 %. Наибольшую флоголитическую активность, аналогичную действию вольтарена, обнаружено у соединения KMS-211.

Среднесмертельная доза соединения KMS-211 для мышей при внутрибрюшинном введении составляет 3041,7 мг/кг (3187,13 ± 2896,27), для крыс – 4250 мг/кг (4421,4 ± 4078,6).

Таким образом, среди исследуемых производных 5,7-дигидро-1H-пирроло [2,3-d] пиримидина наивысшую антиэкссудативную активность проявило соединение KMS-211, которое по результатам определения среднесмертельной дозы при внутрибрюшинном введении мышам и крысам может быть отнесено к VI классу токсичности по классификации К. К. Сидорова (относительно нетоксические вещества).

Ключевые слова: антиэкссудативная активность, карагениновый отек, производные 5,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-d] пиримидина, острая токсичность

A. V. Sevryukov, V. A. Volkovoy, S. V. Kolisnyk, K. M. Sytnik
Determination of antiexudative activity of new derivatives 5,7-dihydro-1h-pyrrolo [2,3-d] pyrimidine

The aim of this research was to study the antiexudative activity of new derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo [2,3-d] pyrimidine under the model of karagenin edema in rats and acute toxicity of the leader compound.

Antiexudative activity was studied on white non-linear rats 180–200 g under the model of karagenin edema induced by subcutaneous injection of 0,1 ml 1% karagenin solution in rat's rear foot. The first group of animals (control) was administered intragastrically 1 ml of distilled water 1 hour before karagenin, the animals of another groups were intragastrical administered one of the test compounds at a dose of 8 mg/kg of body weight or voltaren – standard reference-drug in its effective dose 8 mg/kg. Development of edema was observed in dynamics after 1, 2, 3, 4 hours and its value was measured by a mechanical onkometer. The acute toxicity of the leader compound KMS-211 with highest antiexudative activity was determined after intraperitoneal injections to mice and rats and calculated according to Kerber's method.

It was shown that only 4 (KMS-191, 211, 214, 217) from 15 compounds posses the antiexudative activity in the range from 36,9 to 48,8%. The greatest flogolytic activity, similar to Voltaren, found the compound under the code KMS-211.

The average lethal dose of KMS-211 after intraperitoneal injection was 3041,7 mg/kg (3187,13 ÷ 2896,27) for mice and 4250,0 mg/kg (4421,4 ÷ 4078,6) for rats.

Thus, among the tested derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo [2,3-d] pyrimidine the highest antiexudative activity were founded for the compound KMS-211. Determination of its average lethal doses after intraperitoneal injection to mice and rats shown that the compound KMS-211 can be refers to practically non-toxic substances (the VI class of toxicity).

Key words: antiexudative activity, karagenin edema, derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo [2,3-d] pyrimidine, acute toxicity

Надійшла: 27 липня 2015 р.

Контактна особа: Севрюков О. В., Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002.