

УДК 619.615.212.276

**ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ, АНАЛЬГЕТИЧНОЇ І ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ПОХІДНИХ 7-ЗАМІЩЕНИХ 8-N-МЕТИЛПІПЕРАЗИНО-3-МЕТИЛКСАНТИНУ**

**ПОНОМАРЕНКО М. Г.**, аспірант<sup>1</sup>  
**КОРНІЄНКО В. І.**, д. біол. наук, доцент<sup>1</sup>  
**ЛАДОГУБЕЦ О. В.**, к. біол. наук, доцент<sup>1</sup>  
**ГАРКУША І. В.**, к. вет. наук, асистент<sup>1</sup>  
**ДУЧЕНКО К. А.**, асистент<sup>1</sup>  
**САМУРА Б. А.**, д. фарм. наук, професор<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

<sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків

*Встановлено, що гостра токсичність 7-заміщених 8-N-метилпіперазино-3-метил-ксантину знаходиться в діапазоні від 225 до 945 мг/кг. Найбільшу анальгетичну активність проявила сполука 5, яка у дозі 22,7 мг/кг зменшила кількість оцтових судом на 45,3%. Виражену протизапальну активність виявила сполука 3, яка у дозі 11,3 мг/кг пригнічувала розвиток флогогенного набряку лапки щурів на 49,8% і за активністю порівнянна з диклофенаком натрію.*

**Гостра токсичність, анальгетична активність, протизапальна активність.**

**Постановка проблеми.** Біль є провідним клінічним синдром захворювань опорно-рухового апарату у тварин. Больові синдроми, які виникають внаслідок активації ноцицептивних рецепторів при травмі, запаленні, ішемії, розтягненні тканин відносять до хвороб зі соматогенним больовим синдромом [3].

Відчуття, проведення і аналіз больових сигналів в організмі великої рогатої худоби забезпечують спеціальні нейрональні структури ноцицептивної системи, які входять до вмісту соматосенсорного аналізатору. В зв'язку з цим, біль можна розглядати як одну з сенсорних модальностей, необхідну для нормальної життєдіяльності тварин [6].

Розвиток нейрогенних больових синдромів у тварин пов'язують з ураженнями структур периферичної або центральної нервової системи, які приймають участь в проведенні ноцицептивних сигналів. Клінічно серед них виділяють: посттравматичний і післяопераційний больові синдроми, болі при запаленні суглобів, міофасціальні больові синдроми [6].

Пригнічення нестероїдними протизапальними засобами (НПЗЗ) перекисного окислення в мембранах можна також розглядати як проявлення їх протизапальної дії. НПЗЗ блокують ексудацію, стабілізують мембрани лізосом, які понижують чутливість рецепторів до хімічних подразників [6].

Одним з основних джерел генерації вільних радикалів є реакції метаболізму арахідонової кислоти. НПЗЗ функціонують як пастки для цих сполук, відкривають можливість нового підходу до профілактики та лікування пошкоджених тканин [6].

Терапевтичні ефекти НПЗЗ пов'язані з їх здібністю інгібувати ЦОГ-2, а побічна дія (ураження ШКТ, нирок, порушення агрегації тромбоцитів) – з пригніченням ЦОГ-1 [9-11, 13]. В теперішній час в зв'язку з широким застосуванням НПЗЗ в ветеринарній практиці шлункопатії представляють серйозну проблему, оскільки шлункові кровотечі можуть представляти загрозу для життя тварин [4, 5, 7]. В зв'язку з цим пошук нових НПЗЗ є актуальною проблемою сучасної експериментальної ветеринарної фармакології і токсикології.

Ці дані створюють теоретичну основу для синтезу нових хімічних сполук в ряді похідних 3-метилксантинів [12], що дозволить підійти до створення препаратів з більшою протизапальною активністю і меншою токсичністю.

**Мета досліджень** – вивчити гостру токсичність, анальгетичну і протизапальну активність синтезованих похідних 7-заміщених-8-N-метилпіперазино-3-метилксантину для лікування хвороб тварин з клінічним синдромом захворювань опорно-рухового апарату.

**Матеріал і методи дослідження.** Вивчення

загальної дії і гострої токсичності досліджуваних похідних 7-заміщених-8-N-піперазино-3-метилксантину проведено на білих нелінійних мишах обох статей, вагою 18-24 г по п'ять тварин у кожній групі. Досліджувані речовини у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої Твін-80, об'ємом не більше 1 мл, вводили одноразово внутрішньочеревно. Контрольній групі тварин аналогічним шляхом у відповідному об'ємі рідини вводили ізотонічний розчин натрію хлориду та Твін-80. Тварин утримували на стандартному кормовому раціоні. Спостереження проводили протягом 14-ти днів, звертали увагу на поведінкові реакції, нервово-м'язову збудливість, стан шкірного покриву, зміну маси тіла, характер виділень і тривалість життя [1].

Анальгетичну активність досліджуваних 7-заміщених-8-N-піперазино-3-метилксантину вивчали на моделі «оцтових корчів» в дослідах на білих нелінійних щурах обох статей вагою 180-200 г. Під впливом оцтової кислоти відбувається активація калікреїн-кінінової системи, простагландинів, біогенних амінів, які є ендогенними медіаторами запалення і сприяють розвитку корчів черевних м'язів, що супроводжується витягуванням задніх кінцівок і прогинанням спини. Корчі викликали 0,75% розчином оцтової кислоти, яку вводили внутрішньочеревно (в дозі 1 мл на 100 г тварини).

Досліджувані речовини вводили внутрішньощлунково за 30 хвилин до введення оцтової кислоти. Фіксування числа корчів проводили протягом 30 хвилин. Зменшення кількості корчів у тварин, яким вводили досліджувані сполуки в порівнянні з контрольною групою, було показником анальгетичної активності, яку виражали у відсотках зниження числа оцтових корчів у дослідних груп. Препаратом порівняння був використаний диклофенак натрію [4].

Протизапальну дію досліджуваних речовин вивчали на моделі карагенінового набряку лапки у нелінійних щурів вагою 180-210 г. Ексадативне запалення моделювали шляхом субплантарного введення в задню лапку щура 0,1 мл 1% розчину карагеніну. Об'єм лапи вимірювали за допомогою онкометра до початку дослідів і в момент максимального розвитку набряку – через 4 години після введення фло-

гогенного агента. Збільшення набряку виражали у відсотках [1, 3]. Відсоток пригнічення запалення розраховували за формулою:

$$\% \text{ пригнічення запалення} = \frac{(V_k - V_0)}{V_k} 100\%, \text{ де:}$$

$V_k$  – об'єм лапки у контролі мінус вихідний об'єм цієї лапки до набряку;

$V_0$  – об'єм лапки, яка набрякла в досліді мінус вихідний об'єм цієї лапки.

Препаратом порівняння був використаний диклофенак натрію.

При проведенні експериментальних досліджень щури знаходилися в стандартних умовах виварію у відповідності з положеннями і вимогами «Європейської конвенції захисту позвоночних живих тварин, котрих використовують для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986 г.) і «Общими етичними принципами експериментів на живих тваринах» (Київ, 2001) [1].

Отримані результати обчислювали з використанням методів варіаційної статистики на персональному комп'ютері із застосуванням комп'ютерних програм «Microsoft Excel 2003», «STATISTICA® for Windows 6.0». Розраховували середні значення показників ( $\bar{x}$ ) та стандартну похибку ( $S_{\bar{x}}$ ). Статистичну значущість внутрішньогрупових відмінностей розраховували за критерієм t Стьюдента [2].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Первинну оцінку фармакологічної активності усіх синтезованих речовин проводили в альтернативній формі: враховували зміну поведінки, соматичну збудливість, деякі вегетативні реакції рухової активності, положення тіла, ходи, стану шкірного покриву та тривалість життя. Проведені дослідження показали, що ознаки токсичної дії виявлялися через 10-30 хвилин після введення токсичних доз досліджуваних речовин. Спостерігалась підвищена чутливість на зовнішній подразник (больовий, звуковий), настороженість, збережений рефлекс задирання голови, при дотику до вусів. Зазначалося також незначне почастищення дихання, збліднення шкіри на відкритих ділянках (хвіст, вуха). Рогівка очей залишалася прозо-

рою і вологою, зіниці звичайного діаметру, рогівковий рефлекс збережений. У деяких тварин хвіст був піднятий догори, що свідчило про порушення рефлекторної функції соматичних спинальних мотонейронів. Потім через 20-40 хвилин збудження змінювалося пригніченням. Тварини ставали малорухливими. Згодом розвивалася м'язова гіпотонія, і миші гинули від зупинки дихання та припинення серцевої діяльності.

Досліджені сполуки №№ 2, 3, 4 і 5 мали дещо іншу характеристику центральної дії. Після їх введення рухова активність тварин знижувалася, температура тіла знижувалася в середньому на 1-2°C, колір шкіри на відкритих ділянках ставав синюшним, зменшувалися рогівкові рефлекси та швидкість реагування на зовнішні подразники. Це свідчило про наявність седативного ефекту в спектрі фармакологічної дії цих речовин. Менш виражену заспокійливу дію виявляли сполуки №№ 7, 8 і 10. При їх введенні спостерігалось зниження рухової активності, у деяких тварин була ослаблена реакція на звуковий та больовий подразник. Загибель наступала в різні періоди часу – від 15 хвилин до 48 годин після введення досліджуваних сполук. Однак, більша частина тварин загинула в перші 2-6 годин.

Тварин, які загинули препарували та проводили патоморфологічні дослідження, які не виявили у мишей достовірних змін маси серця, нирок і селезінки після одноразового введення досліджуваних речовин.

Результати вивчення гострої токсичності вперше синтезованих похідних 7-заміщених-8-N-піперазино-3-метилксантину (сполуки №№ 1-10) залежали від їх хімічної структури і знаходились в інтервалі від 225 до 945 мг/кг. Найбільш токсичною ( $LD_{50}=225$  мг/кг) була сполука № 3 – 7-(бутил-2)-8-N-метилпіперазино-3-метилксантину. Заміна у 7-му положенні молекули 8-N-метилпіперазино-3-метилксантину бутильного радикалу (сполука № 3) на *n*-пропильний (сполука № 2), етильний (сполука № 1), *b*-гідрокси-*g-i*-пропилоксипропильний (сполука № 8), 3-хлорбутилен-2-ільний (сполука № 5), 2-метилалильний (сполука № 7), *m*-бромбензильний (сполук № 4), *b*-гідрокси-*g-i*-пропилоксипропильний (сполука № 6), *n*-

додецильний (сполука № 10), *n*-гептильний (сполука № 9) фрагменти призводить до зменшення гострої токсичності. Найменш токсичною серед досліджених похідних 7-заміщених-8-N-метилпіперазино-3-метилксантину була сполука № 9 – 3-метил-7-*n*-гептил-8-N-етилпіперазиноксантин  $LD_{50}=945,0 \pm 73,9$  мг/кг.

Результати комп'ютерного прогнозу видів фармакологічної активності за програмою PASS свідчать, що з високим ступенем ймовірності вперше синтезовані 7-заміщені-8-піперазинозаміщені-3-метилксантину (сполуки №№ 1-10) можуть проявляти анальгетичні властивості, що стало підставою для проведення даних досліджень. Згідно результатів досліджень, наведених у табл. 1, встановлено, що більшість похідних 7-заміщених-8-піперазино-3-метилксантину проявили анальгетичну активність, яка знаходилась в інтервалі від 20,2 до 45,3%. Найбільший анальгетичний ефект виявила сполука №7 – (3-хлорбутилен-2-іл-1)-8-N-метилпіперазино-3-метилксантин, яка має 3-хлорбутилен-2-іл-1 радикал у 7-му положенні. Вказана сполука № 5 у дозі 22,7 мг/кг зменшує кількість оцтових судом на 45,6%. Заміна в 7-му положенні (3-хлорбутилен-2-ільного) (сполука № 5) радикала на пропильний (сполука № 6), фенилетильний додецильний (сполука № 10) *m*-бромбензильний (сполука № 4), *n*-гептильний (сполука № 9) призводить до посилення рефлекторної реакції на оцтовий подразник.

Аналіз результатів дослідження протизапальної активності 7-заміщених-8-метилпіперазино-3-метилксантину (сполуки №№ 1-10) показали, що більшість сполук проявили протизапальну активність (таблиця). Найбільший протизапальний ефект виявила сполука № 3 – 7-(бутил-2)-8-N-метилпіперазино-3-метилксантину, яка в дозі 11,3 мг/кг, пригнічує запальний набряк лапки щурів на 49,8%. Заміна бутильного фрагменту (сполука № 3) на *n*-пропильний (сполука № 2) на *b*-гідрокси-*g-i*-пропилоксипропильний (сполука № 6), 2-метилалильний (сполука № 7), *b*-гідрокси-*g-i*-пропилоксипропильний (сполука № 8) *m*-бромбензильний (сполука № 4) радикала призвела до зниження протизапальної активності

Таблиця. Анальгетична і протизапальна активність похідних  
7-заміщених-8-N-метилпіперазино-3-метилксантину

№ з/п	Доза мг/кг	Анальгетична активність		Протизапальна активність	
		Кількість корчів за 20 хвилин	% від контролю	Набряк лапки, мл	% від контролю
1	18,5	41,5±3,4	7,0	1,52±0,08	34,2
2	13,3	38,4±2,7	13,9	1,28±0,21	45,6
3	11,3	35,6±2,4*	20,2	1,16±0,14*	49,8
4	32,5	31,5±2,8*	29,4	1,45±0,12*	37,2
5	22,7	24,4±1,9*	45,3	1,24±0,09*	24,3
6	36,8	28,1±2,5*	37,0	1,34±0,15*	42,0
7	25,9	41,6±2,3	6,7	1,36±0,13	41,1
8	21,9	33,8±2,4*	24,2	1,41±0,14*	39,0
9	47,3	32,5±2,2*	27,1	1,59±0,12*	31,2
10	42,8	30,4±1,9*	31,8	1,69±0,09*	26,8
Диклофенак	8,0	24,1±1,2*	46,0	1,22±0,16*	47,2
Контроль	—	44,6±2,1	100	2,31±0,14	100

Примітка: \* –  $p < 0,05$  в порівнянні з контролем.

досліджених речовин.

Можна допустити, що протизапальний ефект вперше синтезованих похідних 7-заміщених-8-піперазино-3-метилксантину реалізується за рахунок зниження викиду медіаторів запалення з тучних клітин та інгібування експресії генів, відповідальних за синтез протизапальних цитокінів.

Таким чином, серед досліджених похідних 7-заміщених-8-піперазино-3-метилксантину протизапальну дію сполуки № 3 можна порівняти з активністю еталонного препарату диклофенаку натрію.

### Висновки.

1. Гостра токсичність похідних 7-заміщених-8-метилпіперазино-3-метилксантину знаходиться в інтервалі від 225 до 945 мг/кг.

2. Анальгетичну активність проявила сполука № 5, яка у дозі 22,7 мг/кг пригнічувала розвиток рефлекторної реакції на хімічний подразник на 45,3%.

3. Протизапальну активність виявила сполука № 3, яка у дозі 11,3 мг/кг пригнічувала розвиток флогогенного набряку лапки щурів на 49,8% і за активністю може бути порівняна з диклофенаком натрію.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / За ред. О. В. Стефанова.] – К. : «Авіцена», 2001. – 528 с.
2. Лапач С. Н. Статистика в науке и би знесе / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич // К. : «Морион», 2002. – 640 с.
3. Малинин О. А. Ветеринарная токсикология / О. А. Малинин, Г. А. Хмельницкий, А. Т. Куцан. – Корсунь-Шевченковский, 2002, . – 464 с.
4. Мохорт М. А. Пошук та експериментальне вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як ненаркотичні анальгетики / М. М. Мохорт, Л. В. Яковлева, О. М. Шаповал // Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації. – Київ, 2001. – С. 307–320.
5. Насонов Е. Л. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов / Е. Л. Насонов // Российский медицинский журнал. – 2002. – Т. 10, № 4. – С. 206–212.
6. Патологічна анатомія тварин / За ред. П. П.

- Урбановича та М. К. Потоцького. – К. :Ветінформ, 2008.– С. 604-607.
7. Побочное действие лекарств / С. М. Дрогвоз, А. П. Гудзенко, Я. А. Бутко [и др.]. – Х. : «СИМ», 2010. – 480 с.
  8. 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.
  9. Hinz В. More pronounced inhibition of cyclooxygenase 2, increase in blood pressure, and reduction of heart rate by treatment with diclofenac compared with celecoxib and rofecoxib / В. Hinz, Н. Dormann, К. Brune // Arthritis Rheum. – 2006. – № 54 (1) – P. 282–291.
  10. Kato М. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs: investigation using human peripheral monocytes / М. Kato, S. Nishida, Н. Kitasato // J. Pharm. Pharmacol. – 2001.– №53 (12). – P. 1679–1685.
  11. Goldstein J. L. 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.
  12. Synthesis, physicalchemical and biological properties of 8-aminosubstituted 7-β-hydroxy (oxo)alkyl (aryl)-xanthenes / N. I. Kornienko, V. I. Kornienko, O. A. Pakhomova [et al.] // Xth International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds Nov. – 2013. – Tashkent-Bukhara, Republic of Uzbekistan. – P. 269.
  13. 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. Mc Cune [et al.] // Arthritis Rheum. – 2000. – Vol. 43. – P. 1891–1896.

#### ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ, АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ И ПРОТИВО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 7-ЗАМЕЩЕННЫХ 8-N-МЕТИЛПИПЕРАЗИНО-3-МЕТИЛКСАНТИНА

Пономаренко Н. Г., Корниенко В. И., Ладогубец Е. В., Гаркуша И. В Дученко Е. А.<sup>1</sup>, Самура Б. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков

<sup>2</sup>Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Установлено, что острая токсичность 7-замещенных 8-N-метилпиперазино-3-метилксантина находится в диапазоне от 225 до 945 мг/кг. Наибольшую анальгетическую активность проявило соединение 5, которое в дозе 22,7 мг/кг уменьшало количество укусных корчей на 45,3%. Выраженную противовоспалительную активность выявило соединение 3, которое в дозе 11,3мг/кг угнетало развитие флогогенного отека лапки крыс на 49,8% и по активности сопоставимо с диклофенаком натрия.

**Ключевые слова:** острая токсичность, анальгетическая активность, противовоспалительная активность.

#### RESEARCH OF ACUTE TOXICITY, ANALGESIC AND ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF DERIVATIVES

#### 7-SUBSTITUTED 8-N-METHYLPIPERAZINYL-3-METHYLXANTHINE

M. Ponomarenko, V. Kornienko, E. Ladogubets, I. Garkusha, E. Duchenko,<sup>1</sup> B. Samura<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kharkov State Zooveterinary Academy, Kharkiv

<sup>2</sup>National Pharmaceutical University, Kharkiv

As a result of research, sharp toxicness of derivatives of 7- deputized-8- methylpiperazino3-methylksantinum is in an interval from 225 to 945 mg/kg. Analgetichnu activity was shown by connection 5, which in a dose 22,7 mg/kg repressed development of reflex reaction on a chemical irritant on 45,3%. Protizapal'nu connection found out activity 3, which in a dose 11,3 mg/kg repressed development of flogogenes edema of paw of rats on 49,8% and after activity can be compared to diklofenakum of sodium.

*The primary estimation of pharmacological activity of all synthesized matters was conducted in an alternative form: took into account the change of conduct, somatic excitability, some vegetative reactions of motive activity, position of body, step, state of a skin cover, and life-span. The conducted researches made, that the signs of toxic action had appeared in 10-30 minutes after introduction of toxic doses of the probed matters. There was an small sensitiveness on an external irritant (pain, voice), watchfulness, stored reflex of lifting up of chairman, at a touch to the moustaches. For some animals was heaved up a tail up, that testified to violation of reflex function of somatic vertebral motoneuron. Then in 20-40 minutes excitation changed oppression. Animals became not mobile. Muscular low blood pressure developed afterwards, and mouses perished from the stop of breathing and stopping of cardiac activity.*

*The results of study of sharp toxicness of the first synthesized derivatives of 7-substituted-8-N-piperazino-3-methylsantininum (matters 1-10) depended on their chemical structure and is in an interval from 225 to 945 mg/kg. Most toxic (LD50=225 mg/kg) was connection 3 – 7-(butyl-2)-8-N-methylpiperazino 3-methylsantininum.*

*It is set that most derivatives of 7- substituted -8-piperazino-3-methylsantininum showed analgetichnum activity which was in an interval from 20,2 to 45,3%.*

*Analysis of results of research of protizapal'noy activity of 7- the deputed-8- methylpiperazino 3-methylsantininum (matters 1-10) was showed, that most connections had showed antiinflammatory activity. Connection found out a most protizapal'niy effect 3 – 7-(butyl-2)-8- N- methylpiperazino 3-methylsantininum, what in a dose 11,3 mg/kg, represses the inflammatory edema of paw of rats on 49,8%.*

**Key words:** Sharp toxicness, analgetic activity, antiinflammatory activity.

---