

УДК 619.615.547

ЗАВИСИМОСТЬ АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОТ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ В РЯДУ АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ ПРОИЗВОДНЫХ КСАНТИНА

Корниенко В. И., к. фарм. н., доцент

Ладогубец Е. В., к. биол.н., доцент

Дученко Е.А., ассистент

Пономаренко О. В., к.вет.н., ст.наук. сотр.

Гаркуша И. В., к.вет.н., ассистент

Харьковская государственная зооветеринарная академия, м. Харків

Аннотация. *Исследование зависимости антигипоксической активности от химической структуры в ряду аммониевых солей N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния проведено на модели острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией в опытах на нелинейных белых крысах. Показано, что среди исследованных соединений наименьшую антигипоксическую активность проявила аминоксантиновая аммониевая соль, а наибольшую - сукцинат N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния, который увеличивал продолжительность жизни крыс на 79,9% и превышал активность препарата сравнения мексидола на 9,2%. На основании полученных результатов можно предположить, что сукцинатная аммониевая соль N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния способна регулировать энергетические потоки в дыхательной цепи митохондрий и достигать значительного уменьшения расходов АТФ при одновременном увеличении скорости ее окисления, что способствует улучшению функции клеток и увеличению продолжительности жизни крыс. Аммониевые соли в ряду производных ксантина являются перспективной группой органических соединений для последующего синтеза и фармакологического скрининга с целью создания на их основе эффективных антигипоксических препаратов.*

Ключевые слова: *сукцинат N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния, гипоксия, антигипоксическая активность.*

Актуальность проблемы. Вопросы коррекции гипоксических состояний определяют основные направления рационального лечения различных заболеваний. Гипоксию характеризуют как несоответствие энергопотребности клетки энергопродукции в системе митохондриального окислительного фосфорилирования [2]. Причины нарушения продукции энергии в гипоксической клетке зависят от расстройства внешнего дыхания, кровообращения в легких, кислородтранспортной функции крови, нарушения системного, регионарного кровообращения и микроциркуляции. Снижение поступления кислорода в митохондрии приводит к угнетению митохондриального окисления, подавлению активности дегидрогеназ цикла Кребса [3, 9].

Нарушение митохондриального окисления приводит к угнетению сопряженного с ним фосфорилирования и, следовательно, вызывает прогрессирующий дефицит АТФ - универсального источника энергии в клетке [6,10]. Дефицит энергии составляет суть любой формы гипоксии и обуславливает качественно однотипные метаболические и структурные сдвиги в различных органах и тканях. Гипоксия приводит к нарушению функций биологических мембран. Повреждаются главные функции мембран: барьерная, рецепторная, каталитическая. Распад фосфолипидов и ингибирование синтеза ведут к повышению концентрации ненасыщенных жирных кислот, усилению их перекисного окисления [2].

Для коррекции гипоксических состояний применяют антигипоксанты, которые улучшают утилизацию кислорода, снижают потребность в кислороде органов и тканей, повышают устойчивость к гипоксии. Антиоксиданты блокируют активацию свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов [10]. Наряду с терапевтическими эффектами антигипоксанты могут вызывать диспептические явления: тошноту, рвоту, учащение сердцебиения, аллергические реакции, кожную сыпь [5]. В связи с этим поиск новых антигипоксантов является рациональным. Наше внимание привлекли впервые синтезированные производные ксантина [7].

Целью исследований было изучение антигипоксической активности синтезированных производных N-(3-метил-7-ацетил-метилксантинил-8-)-пиперазиния.

Материал и методы исследования. Объектом исследования были отобраны 14 аммониевых солей в ряду производных N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния

Исследование антигипоксической активности синтезированных веществ проведено на модели острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией в опытах на нелинейных белых крысах-самцах с массой тела 180 - 200 г. Опытным крысам вводили внутривенно с помощью металлического зонда исследуемые вещества в дозе 0,05 ЛД₅₀ в виде 3-5% тонкодисперсной водной суспензии, стабилизированной твином-80. Через 30 минут крыс помещали в изолированные камеры объемом 3000 см³ и измеряли время до наступления агонального состояния [8]. В качестве препарата сравнения использовали антигипоксиксикс мексидол, 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 стандартных условиях вивария, 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]. Экспериментальные данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики с использованием программного обеспечения версии Microsoft Office Excel 2003. Достоверность различий между экспериментальными группами оценивали при помощи t-критерия Стьюдента [4,8].

Результаты исследования. Проведено сравнительное исследование антигипоксической активности аммониевых солей в ряду производных N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния (соединения 1-14). Установлено (табл. 1), что продолжительность жизни крыс контрольной группы составила 24,9±0,72 мин, а сукцинат N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния (соед.2) в дозе 16,5 мг/кг увеличивал продолжительность жизни крыс на 79,9% и превышал действие эталонного препарата мексидола на 9,2%.

Таблица 1

Антигипоксическая активность аммониевых солей N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил-8-)-пиперазиния у крыс (n=5)

| Соединение № | Шифр | Доза, мг/кг | Продолжительность нахождения крыс в закрытой камере, мин | |
|--------------|--------|-------------|--|-----------------------------------|
| | | | M±m | Доверительный интервал при p=0,05 |
| 1 | γ-7992 | 19,0 | 34,2 ± 0,24 | 33,5+34,9 |
| 2 | γ-7993 | 16,5 | 44,8 ± 0,51 | 43,4+46,2 |
| 3 | γ-7994 | 40,8 | 31,8 ± 0,46 | 30,5+33,1 |
| 4 | γ-7995 | 17,5 | 28,0 ± 0,35 | 27,0+29,0 |
| 5 | γ-7996 | 33,5 | 33,2 ± 0,30 | 32,4+34,0 |
| 6 | γ-7997 | 40,5 | 30,4 ± 0,56 | 28,9+31,9 |
| 7 | γ-7998 | 21,0 | 20,6 ± 0,45 | 19,4+21,8 |
| 8 | γ-7999 | 36,0 | 26,0 ± 0,53 | 24,6+27,4 |
| 9 | γ-8335 | 38,0 | 37,0 ± 0,44 | 35,8+38,2 |
| 10 | γ-8336 | 42,5 | 29,3 ± 0,27 | 28,6+30,0 |
| 11 | γ-8337 | 45,5 | 35,2 ± 0,32 | 34,3+36,1 |
| 12 | γ-8338 | 24,0 | 32,0 ± 0,56 | 30,5+33,5 |
| 13 | γ-8339 | 19,0 | 22,4 ± 0,37 | 21,4+23,4 |
| 14 | γ-8343 | 29,5 | 27,0 ± 0,42 | 25,9+28,1 |
| Мексидол | | 5,0 | 42,5 ± 0,74 | 38,5+42,5 |
| Контроль | | — | 24,9 ± 0,72 | 22,8+26,9 |

По убыванию антигипоксической активности аммониевые соли N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил-8-)-пиперазиния можно расположить в следующей последовательности: сукцинатная (соед. 2), оротатная (соед. 9), 4-аминобу-таноатная (соед. 11), оксалатная (соед. 1), цитратная (соед. 5) салицилатная (соед. 12), L-аспартатная (соед. 3), аминокетатная (соед. 6).

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

Продолжительность жизни крыс в условиях острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией уменьшалась с 44,8 мин (79,9 %) до 30,4 мин (22,1 %) ($p < 0,05$).

Менее выраженное антигипоксическое действие проявили следующие аммонийные соли: бензоатная (соед. 10), L-глутаматная (соед. 4), 2-амино-3-гидроксипропионатная (соед. 14), β -аминопропионатная (соед. 8), введение которых уменьшало продолжительность жизни крыс с 29,3 до 26 мин.

Замена перечисленных выше аммонийных солей производных N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния на L- α -аминопропионатную (соед. 7) и никотинатную (соед. 13) приводит к утрате антигипоксичной активности.

На основании полученных результатов можно предположить, что сукцинатная аммониевая соль N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния способна регулировать энергетические потоки в дыхательной цепи митохондрий и достигать значительного уменьшения расходов АТФ при одновременном увеличении скорости ее окисления, что способствует улучшению функции клеток и увеличению продолжительности жизни крыс [3].

Выводы

1. Сукцинат N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния в дозе 16,5 мг/кг увеличивал продолжительность жизни крыс на 79,9%, в условиях острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией.

2. Аммониевые соли в ряду производных N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния 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.: Авіцена, 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. – 2008. – № 2. – С. 54-56.
3. Костюченко А.Л. Современные реальности клинического применения антигипоксантов / А.Л. Костюченко, Н.Ю. Семиголовский // ФАРМиндекс: ПРАКТИК. – 2007. – Вып. 3. – С. 102-122.
4. 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.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – [15-е изд., перераб., испр. и доп.]. – М.: ООО "Изд-во Новая волна", 2009. – 1206 с.
6. Оковитый С.В. Антигипоксанты / С.В. Оковитый, А.В. Смирнов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – Т. 64, № 3. – С. 76-80.
7. Романко М.І. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 8-амінопохідних 1-бензилтеоброміну / М.І. Романко, Д.Г. Іванченко, І.Б. Самура та ін. // Запорозький мед. журнал. – 2006. – № 3 (36). – С. 142-146.
8. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии. / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М.: Медицина, 2000. – С. 308-328.
9. Смирнов А.В. Антигипоксанты в неотложной медицине / А.В.Смирнов, В. И. Криворучко // Анестезиология и реаниматология. – 1998–№ 2 –С. 50-57.
10. Ucar Z.Z. Nocturnal hypoxia and arterial lactate levels in sleep-related breathing disorders / Ucar Z.Z., Taymaz Z., Erbaycu A.E. et al. // South. Med. J. – 2009. – Vol. 102, № 7. – P. 693-700.

ЗАЛЕЖНІСТЬ АНТИГІПОКСИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ВІД ХІМІЧНОЇ СТРУКТУРИ В РЯДУ АМОНІЄВИХ СОЛЕЙ ПОХІДНИХ КСАНТИНУ

Корнієнко В.І., Ладогубець О.В., Дученко К.А., Пономаренко О.В., Гаркуша І. В.

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

Анотація. Дослідження залежності активності від хімічної структури в ряду амонієвих солей N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-пиперазинію проведено на моделі гострої нормобаричної гіпоксії з гіперкапнією в дослідах на нелінійних білих щурах. Показано, що серед досліджуваних сполук найменшу антигіпоксичну активність виявила аміноацетатна амонієва сіль, а найбільшу – сукцинат N-(3-метил-7-ацетиламіноксантинил)-8-пиперазинію, який збільшував тривалість життя щурів на 79,9 % та перевищував активність препарату порівняння мексидолу на 9,2 %. На підставі одержаних

результатів можна припустити, що сукцинатна амонієва сіль N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил-8-пиперазинію) здатна регулювати енергетичні потоки у дихальному ланцюгу мітохондрій і досягати значного зменшення витрат АТФ при одночасному підвищенні швидкості її окиснення, що сприяє поліпшенню функції клітин і збільшенню тривалості життя шурів. Амонієві солі в ряду похідних ксантинів є перспективною групою органічних сполук для подальшого синтезу і фармалогічного скринінгу з метою створення на їх основі ефективних антигіпоксичних препаратів

Ключові слова: сукцинат, N-(3-метил-7-ацетиламіноксантинил)-8-пиперазиній, гіпоксія, антигіпоксична активність.

INVESTIGATION OF ANTIHYPOXIC ACTIVITY-CHEMICAL STRUCTURE DEPENDENCE IN A SERIES OF XANTHINE DERIVATES AMMONIUM SALTS

Kornienko V.I., PhD. pharm. Sciences, Associate Professor, Ladogubets E.V., PhD. biol. Sciences, Associate Professor, Duchenko E. A., Assistant, Ponomarenko O.V., PhD. biol. Sciences, Garkusha I.V., PhD. vet. Sciences Kharkiv State Academy of Animal Health, Kharkiv, Ukraine

Summary. Questions of hypoxic conditions correction determine the main directions of rational treatment of various diseases. For correction of hypoxic conditions apply antihypoxants that improve oxygen utilization, reduce the oxygen demand of organs and tissues, increasing the out-resistance to hypoxia. Antioxidants block the activation of free radical processes and lipid peroxidation. In addition to the therapeutic effects antihypoxants can cause diarrhea phenomenon, heart palpitations, allergic reactions, skin rashes. In this connection, the search for new antihypoxants is rational. Our attention was drawn for the first time synthesized xanthine derivatives. Investigation of antihypoxic activity-chemical structure dependence in a series of N-(3-methyl-7-acetylmethylxanthinyl)-8-piperazine ammonium salts was conducted on the model of acute atmospheric hypoxia with hypercapnia in tests on nonlinear white rats. Experienced rats were administered intragastrically using a metal probe test substances in a dose of 0.05 LD₅₀ of finely divided 3.5% aqueous suspension, stabilized with Tween-80. Control rats received an equivalent amount of 3.5% aqueous suspension stabilized with Tween-80. After 30 minutes, the rats were placed in separate chambers of 3000 cm³ volume and measured time until the agonistic condition. It was found that, among the compounds tested the least antihypoxic activity showed for aminoacetic ammonium salt, and the highest one for N-(3-methyl-7-acetylmethylxanthinyl)-8-piperazine succinate, which increases the life time of rats by 79.9% in acute atmospheric hypoxia and exceeds on 9.2% the activity of the reference drug mexidol. Replacing the above ammonium salts of N-(3-methyl-7-acetylmethylxanthinyl)-8-piperazine on L- α -aminopropionate (comp. 7) and nicotinate (comp. 13) leads to a loss of antihypoxic activity. It is suggested by the results that ammonium succinate salt N-(3-methyl-7-8-acetylmethylxanthinyl) piperazine able to regulate energy flow in the mitochondrial respiratory chain and ATP to achieve significant reduction in costs while increasing the rate of its oxidation, thereby improving cell function and increased life expectancy of rats. The series of xanthine derivatives ammonium salts are promising group of organic compounds for the further synthesis and pharmacological screening for the purpose of using them as effective antihypoxic drugs.

Key words: succinate, N-(3-methyl-7-acetylmethylxanthinyl)-8-piperazine, hypoxia, antihypoxic activity.