

ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА АНТИЕКСУДАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ ІЛІДЕНГІДРАЗІДІВ 8-МОРФОЛІНОТЕОФІЛІНІЛ-7-ОЦТОВОЇ КИСЛОТИ

Харківська державна зооветеринарна академія (м. Харків)

kornienko-valentina1966@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Стаття є фрагментом комплексної теми кафедри фармакології і токсикології Харківської державної зооветеринарної академії та Запорізького державного медичного університету «Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (№ державної реєстрації 0106U003709).

Вступ. Більшість захворювань супроводжують запальні процеси і є найбільш розповсюдженим симптомом в клінічній практиці. В розвитку запальних реакцій важлива роль належить міграції лейкоцитів в мікроциркуляторному руслі тканин. В реалізації запальних процесів приймають участь медіатори запалення: інтерлейкін-1, фактор некрозу пухлин, фактор активації тромбоцитів, цитокіни, лейкотриєн B_4 , а також простагландини.

В даний час доведено існування принаймні двох ізоферментів – ЦОГ-1 і ЦОГ-2. ЦОГ-1 присутній в організмі в нормі та контролює утворення простагландинів із захисною функцією, забезпечуючи гастропротекцію, посилення перфузії нирок, регуляцію утворення тромбоцитів. ЦОГ-2 утворюється переважно в зоні запалення при індукуванні утворення ЦОГ-2 з ЦОГ-1. Таким чином, ЦОГ-2 стимулює утворення простагландинів безпосередньо в зоні запалення, які провокують запалення, біль, підвищення температури. Зменшення в організмі кількості простагландинів приводить до пригнічення захисної дії та розвитку небажаних побічних ефектів [1,2,3], а стимулювання синтезу простагландинів ненаркотичними анальгетиками приводить до реалізації їх основних ефектів – протизапального, болезаспокійливого і жарознижуючого, а також в реалізації виникнення болю і лихоманки. Для лікування даного симптому застосовуються нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) [4,5].

За принципом впливу на активність ЦОГ всі НПЗЗ підрозділяються на неселективні інгібітори, які здатні блокувати і ЦОГ-1, і ЦОГ-2 та селективні, які пригнічують активність переважно ЦОГ-2. Саме за рахунок блокади ЦОГ-2 препарати проявляють протизапальну, болезаспокійливу і жарознижуючу дію, тоді як блокада активності ЦОГ-1 приводить до зниження захисної дії простагландинів і, в результаті цього, до розвитку небажаних побічних ефектів. Синтез простагландинів контролює фермент циклооксигеназа (ЦОГ), який перетворює арахідонову кислоту на циклічні ендопероксида і далі вже безпосередньо в простагландини [6].

Аналізуючи раніше проведені дослідження та дані комп'ютерного прогнозування фармакологічної активності, можна передбачити у нових синтезованих іліденгідразидів в ряду похідних 3-метилксантину наявність протизапальної і знеболюючої дії [7,8]. Оптимізація структури та дослідження нових похід-

них ксантину, яким притаманна, окрім діуретичної, знеболювальна та/або протизапальна дія, сприятимуть удосконаленню фармакологічної корекції запального процесу.

Мета дослідження. Вивчити гостру токсичність та залежність протизапальної активності від хімічної структури в ряду похідних іліденгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження були похідні іліденгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти, синтез яких здійснено на кафедрі біологічної хімії Запорізького державного медичного університету під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора Романенка М.І. [9].

Структура похідних іліденгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти підтверджена за допомогою сучасних фізико-хімічних методів елементного аналізу, УФ-, ІК-, ПМР- і мас-спектрометрії, зустрічним синтезом, а чистота речовин контролювалася методом тонкошарової хроматографії. Синтезовані речовини є білими кристалічними порошками, без запаху, з гірким смаком, не розчинні у воді, легко розчинні в диметилформаміді, диметилсульфоксиді, практично не розчинні в ефірі, етанолі, хлороформі [9].

Дослідження гострої токсичності похідних іліденгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти проведено на 40 інтактних білих нелінійних мишах вагою 20-24 г. LD_{50} вираховували за методом Кьорбера [10].

Проведено експериментальні дослідження протизапальної активності похідних іліденгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти на моделі гострого запального набряку лапок у щурів, викликаного субплантарним введенням 1% розчину карагеніну. Максимальна протизапальна активність біологічно активних речовин проявляється при гострому запальному набряку, який супроводжується вираженою ексудацією. Досліди проведені на 42 безпородних білих щурах вагою 190-220 г [11]. Досліджувані речовини вводили внутрішньочеревно в дозах 0,05 LD_{50} у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80, об'ємом 0,5 мл. Референтний препарат диклофенак натрію вводили внутрішньочеревно у дозі ED_{50} – 8 мг/кг. Контрольний групі тварин аналогічним шляхом в тім же об'ємі вводили ізотонічний розчин натрію хлориду та твін-80 у відповідних дозах [10].

Через 30 хв. після введення досліджуваних сполук під апоневроз задньої лапки щурів вводили по 0,1 мл 1% водного розчину суспензії карагеніну. За допомогою онкометра виміряли об'єм лапки у щурів до початку досліду та через кожну годину протягом 4 годин. Протизапальну активність похідних іліденгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти

визначали за ступенем зменшення експериментального набряку лапки дослідних щурів у порівнянні з контрольними і виражали у відсотках. Протизапальну активність визначали за формулою:

$$A = 100\% - \frac{U_k - U_o}{U_k} \cdot 100, \text{ де}$$

A – протизапальна активність, %

U_k і U_o, відповідно, об'єм лапки в контролі та в досліді [12].

При проведенні досліджень тварини знаходились в стандартних умовах віварію згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС по питанням захисту хребетних тварин, яких використовували для експериментальних та других наукових досліджень [11,13]. При роботі з тваринами дотримувались принципів біоетики та вимог гуманного ставлення до тварин (Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, Страсбург, 18 березня 1986 р.).

Обробку цифрових даних здійснювали методом варіаційної статистики з використанням однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA за допомогою програми Originpro 7.5. Результати представлені у вигляді середнього арифметичного та стандартної похибки. Вірогідність різниць між середніми значеннями визначали за критерієм t Стьюдента при нормальному розподіленні. Порівняння груп за якісною ознакою проводили за допомогою критерію χ². Результати дослідження оброблені із застосуванням статистичних пакетів програм “Microsoft Office Excel 2010”, “IBM SPSS Statistics v. 20”. “STATISTICA 6.0”. Статистично значущими вважали відмінності при рівні значимості не менше 95% (p<0,05) [10,14].

Результати досліджень та їх обговорення. Аналіз результатів дослідження гострої токсичності (табл. 1) при внутрішньочеревному введенні похідних іліденгідразидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти показує, що LD₅₀ знаходиться в інтервалі від 650 до 940 мг/кг. При вивченні залежності «структура – гостра токсичність» встановлено, що найбільш токсичною була сполука № 1 – 5-нітрофурил-2-пропеніліденгідразид 8-мофолінотеофілініл-7-оцтової кислоти (LD₅₀=650 мг/кг). Заміна у 7-му положенні 5-нітрофурил-2-пропеніліденгідразидного радикала (сполука № 1) на 2-бромо-3-фенілпропеніліденгідразидний (сполука № 2) сприяє зменшенню її токсичності: LD₅₀ становила 790 мг/кг.

Введення в оцтовий залишок, який знаходиться в 7-му положенні структури синтезованих похідних іліденгідразидів 8-піперидинотеофілініл-7-оцтової кислоти, індолон-2-іліден-3-гідразидного фрагмента (сполука № 3) замість 2-бромо-3-фенілпропеніліденгідразидного (сполука № 2) замісника привело до зниження гострої токсичності – LD₅₀ становила 870 мг/кг.

Дослідження гострої токсичності сполуки № 4, яка містить 5-бромоіндолон-2-іліден-3-гідразид оцтової кислоти в ацильному фрагменті 7-го поло-

Таблиця 1.

Гостра токсичність похідних іліденгідразидів 8-мофолінотеофілініл-7-оцтової кислоти

№	Шифр	R	LD ₅₀ , мг/кг
1	γ-8652	5-нітрофурил-2-пропеніліденгідразид оцтової кислоти	650,0±48,8
2	γ-8653	2-бромо-3-фенілпропеніліденгідразид оцтової кислоти	790,0±54,2
3	γ-8654	індолон-2-іліден-3-гідразид оцтової кислоти	870,0±62,1
4	γ-8655	5-бромоіндолон-2-іліден-3-гідразид оцтової кислоти	940,0±45,7

ження структури вперше синтезованих гетероциклічних сполук – нових похідних іліденгідразидів 8-мофолінотеофілініл-7-оцтової кислоти показало, що LD₅₀ становить 940 мг/кг.

У відповідності з класифікацією К.К. Сидорова [15] серед досліджених сполук в ряду похідних іліденгідразидів 8-мофолінотеофілініл-7-оцтової кислоти всі 5 сполук відносяться до помірно токсичних речовин.

Результати проведених експериментальних досліджень протизапальної активності вперше синтезованих похідних іліденгідразидів 8-мофолінотеофілініл-7-оцтової кислоти (табл. 2) свідчать, що найбільш виражений антиексудативний ефект проявила сполука № 1 – 5-нітрофурил-2-пропеніліденгідразид-8-мофолінотеофілініл-7-оцтової кислоти, яка в дозі 32,5 мг/кг, через 4 години після введення у дослідних щурів викликала зменшення експериментального набряку лапки на 48,7%. Заміна в 7-ому положенні молекули похідних 8-мофолінотеофілініл-7-оцтової кислоти 5-нітрофурил-2-пропеніліденгідразидного радикалу (сполука № 1) на індолон-2-іліден-3-гідразидний залишок (сполука № 3) призводить до зменшення антиексудативної активності. Так після введення сполуки № 3 в дозі 47,0 мг/кг через 4 години спостерігали зменшення флогогенного набряку лапки у щурів на 28,5% в порівнянні з контрольною групою.

Менш виражену антиексудативну дію (7,1%) проявила сполука № 2, яка містить в 7-ому положенні молекули 8-мофолінотеофілініл-7-заміщених іліден-

Таблиця 2.

Антиексудативна активність похідних іліденгідразидів 8-мофолінотеофілініл-7-оцтової кислоти, M ± m, n = 7

№ сполуки	Хімічна назва речовин	Доза, мг/кг	Антиексудативна активність	
			Об'єм лапки через 4 години, мл	% пригнічення набряку лапки
1	5-нітрофурил-2-пропеніліденгідразид оцтової кислоти	32,5	1,17±0,08*	48,7
2	2-бромо-3-фенілпропеніліденгідразид оцтової кислоти	39,5	1,96±0,06	14,1
3	індолон-2-іліден-3-гідразид оцтової кислоти	43,5	1,63±0,09*	28,5
4	5-бромо-2-гідроксибензиліденгідразид оцтової кислоти	47,0	2,12±0,11	7,1
Диклофенак натрію		8,0	1,19±0,07*	47,8
Інтактний контроль		–	2,28±0,10	100

Примітка. * – p<0,05 у порівнянні з інтактним контролем.

гідразидів оцтової кислоти 5-бромоіндолон-2-іліден-3-гідразидний замісник.

Можна допустити, що протизапальний ефект нових синтезованих похідних 8-морфолінотеофілініл-7-іліденгідразидів оцтової кислоти реалізується за рахунок зниження викиду медіаторів запалення з тучних клітин та інгібування експресії генів, відповідальних за синтез запальних цитокінів [5].

Таким чином, серед досліджених похідних іліденгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти виявлена сполука № 1, яка сприяє зменшенню експериментального карагенінового набряку у щурів та за протизапальною дією не поступається препарату порівняння диклофенаку натрію.

Висновки

1. У відповідності з класифікацією К.К. Сидорова гострої токсичності всі 5 сполук в ряду похідних ілі-

денгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти відносяться до помірно токсичних речовин.

2. Виражену протизапальну активність проявила сполука № 1 – 5-нітрофуріл-2-пропеніліденгідразид-8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти, яка зменшувала експериментальний карагеніновий набряк на 48,7% і по активності не поступалася дії диклофенаку натрію.

3. Похідні іліденгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти є перспективною групою органічних речовин для проведення спрямованого синтезу і фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі нових нестероїдних протизапальних фармакологічних речовин.

Література

1. Zupanets IA, Andrieieva EA. Do kharakterystyky hastrotoksychnoi dii nesteroidnykh protyzapalnykh zasobiv – neselektyvnykh, selektyvnykh i spetsyfichnykh inhibitoriv TsOH-2. *Liky Ukrainy*. 2005;4:113-4. [in Ukrainian].
2. Drogozov SM, Gudzenko AP, Butko YA, Drogozov VV. *Pobochnoe dejstvie lekarstv*. Xarkov: SIM; 2010. 480 s. [in Russian].
3. Soroczkaya VN, Karateev AE. Zheludochno-kishechnye oslozhneniya kak odna iz prichin smerti bolnyh revmaticheskimi zabolevaniyami. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2005;4:34-7. [in Russian].
4. Mashkovskij MD. *Lekarstvennye sredstva*. 15 th ed. Moskva: Novaya volna; 2008. 1206 s. [in Russian].
5. Nasonov EL. *Primenenie nesteroidnykh protivovospalitelnykh preparatov*. Rossijskij medicinskij zhurnal. 2002;10:206-12. [in Russian].
6. Kato M, Nishida S, Kitasato H. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs: investigation using human peripheral monocytes. *J. Pharm. Pharmacol*. 2001;53(12):1679-85.
7. Kornienko VI, Samura BA, Romanenko NI. Protivovospalitel'naya aktivnost ammonievyyh soley zameshennykh 1,3,7-trimetilimidazo[1,2-f]ksantiniil-8-butanoata. *Liky liudyni*. Suchasni problemy stvorennia, doslidzhennia ta aprobatsii likarskykh zasobiv. Materialy XXXI naukovo-praktychnoi konferentsii z mizhnarodnoiu uchastiu. 2013. s. 61-2. [in Russian].
8. Kornienko V, Tarasyavichyus E, Samura B, Romanenko N. Conformity research of antiexudative activity of the chemical structure among 7-benzoyl-8-substituted theophyllines. *Medicinos*. 2013;19(2):137-40.
9. Romanenko NI, Rak TN, Nazarenko MV, Pakhomova OA, Cherkhova AV, Kornienko VI. Synthesis and biological activity of annelated xanthine derivatives. In: *Xth International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds Nov; 2013; Tashkent-Bukhara, Republic of Uzbekistan*. 2013. p. 268.
10. Sernov LN, Gaczura VV. *Elementy eksperimentalnoj farmakologii*. Moskva: Medicina; 2000. 352 s. [in Russian].
11. Stefanov OV, redaktor. *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv*. Kyiv: Avitsena; 2001. 528 s. [in Ukrainian].
12. Mokhort MA, Yakovleva LV, Shapoval OM. Poshuk ta eksperimentalne vyvchennia farmakologichnykh rehovyn, yaki proponuiutsia yak nenarkotychni analgetyky. *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv: metodychni rekomendatsii*. Kyiv; 2001. s. 307-20. [in Ukrainian].
13. Reznikov OH, Soloviov AI, Dobrelia NV, Stefanov OV. Bioetichna ekspertyza doklinichnykh ta inshykh naukovykh doslidzhen, shcho vykonuiutsia na tvarynakh: metodychni rekomendatsii. *Visnyk farmakologii ta farmatsii*. 2006;7:47-61. [in Ukrainian].
14. Lapach SN, Chubenko AV. *Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem EXCEL*. Kiev: Morion; 2000. 320 s. [in Russian].
15. Sidorov KK. O klassifikatsii toksichnosti yadov pri parenteralnykh sposobakh vvedeniya. *Toksikologiya novykh promyshlennykh himicheskikh veshchestv*. 1973;13:47-51. [in Russian].

ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА АНТИЕКСУДАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ ІЛІДЕНГІДРАЗІДІВ 8-МОРФОЛІНОТЕОФІЛІНІЛ-7-ОЦТОВОЇ КИСЛОТИ

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

Резюме. Мета дослідження – експериментальне вивчення гострої токсичності та протизапальної активності в залежності від хімічної структури похідних іліденгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти.

Встановлено, що LD_{50} похідних іліденгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти знаходиться в інтервалі від 650 до 940 мг/кг. В досліді на щурах досліджено залежність протизапальної активності від хімічної структури похідних іліденгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти. Найбільшу антиексудативну активність виявила сполука № 1 – 5-нітрофуріл-2-пропеніліденгідразид-8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти, яка у дослідних щурів зменшувала експериментальний карагеніновий набряк лапки на 48,7% і за активністю не поступалася дії препарату порівняння диклофенаку натрію.

Похідні іліденгідразидів 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти є перспективною групою органічних речовин для проведення подальшого цілеспрямованого синтезу і фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі нових більш небезпечних нестероїдних протизапальних фармакологічних засобів.

Ключові слова: іліденгідразиди 8-морфолінотеофілініл-7-оцтової кислоти, гостра токсичність, протизапальна активність.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И АНТИЭКСУДАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ИЛИДЕНГИДРАЗИДОВ 8-МОРФОЛИНОТЕОФИЛЛИНИЛ-7-УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

Дученко Е. А., Корниенко В. И., Ладогубец Е. В., Пономаренко О. В., Гаркуша И. В.

Резюме. Цель исследования – экспериментальное изучение острой токсичности и противовоспалительной активности в зависимости от химической структуры производных илиденгидразидов 8-морфолинотеофиллинил-7-уксусной кислоты.

Установлено, что LD_{50} производных илиденгидразидов 8-морфолинотеофиллинил-7-уксусной кислоты находится в интервале от 650 до 940 мг/кг. В опытах на крысах изучена зависимость противовоспалительной активности от химической структуры производных илиденгидразидов 8-морфолинотеофиллинил-7-уксусной кислоты. Наибольшую антиэкссудативную активность проявило соединение № 1 – 5-нитрофурил-2-пропенилиденидразид-8-морфолинотеофиллинил-7-уксусной кислоты, которое у опытных крыс уменьшало экспериментальный каррагениновый отек лапки на 48,7% и по активности не уступало действию препарата сравнения диклофенака натрия.

Производные илиденгидразидов 8-морфолинотеофиллинил-7-уксусной кислоты являются перспективной группой органических веществ для проведения дальнейшего целенаправленного синтеза и фармакологического скрининга с целью создания на их основе новых более безопасных нестероидных противовоспалительных фармакологических средств.

Ключевые слова: илиденгидразиды 8-морфолинотеофиллинил-7-уксусной кислоты, острая токсичность, противовоспалительная активность.

THE STUDY OF THE ACUTE TOXICITY AND ANTI-EXUDATIVE ACTIVITY OF 8-MORPHOLINOTHEOPHYLLINYL-7-ACETIC ACID YLIDENE HYDRAZIDE DERIVATIVES

Duchenko K. A., Kornienko V. I., Ladogubets E. V., Ponomarenko O. V., Harkusha I. V.

Abstract. Purpose. To study the acute toxicity and dependence of anti-inflammatory activity from chemical structures in a series of 8-morpholinotheophyllinyl-7-acetic acid ylidene hydrazide derivatives.

Object and methods of the research. The object of the study are 8-morpholinotheophyllinyl-7-acetic acid ylidene hydrazide derivatives.

The study of acute toxicity of 8-morpholinotheophyllinyl-7-acetic acid ylidene hydrazide derivatives was held on intact white non-linear mice. LD_{50} was calculated by Karber's method.

Experimental evaluation of the anti-inflammatory activity of 8-morpholinotheophyllinyl-7-acetic acid ylidene hydrazide derivatives was done on acute inflammatory carrageen paw edema in rats caused by subplantar injection of 1% solution. Maximum anti-inflammatory activity of bioactive substances revealed while acute inflammatory edema, which is accompanied by a pronounced exudation. Sodium diclofenac served as the reference drug.

Digital data processing was carried out by the method of variative statistics using one-way ANOVA test on the Originpro 7.5 software.

Results and discussion. It was found that the LD_{50} is in 650 to 940 mg/kg range. In accordance with Sidorov's classification, all 5 compounds are related to moderately toxic substances among investigated derivatives of 8-morpholinotheophyllinyl-7-acetic acid ylidene hydrazide.

The results of experimental research of anti-inflammatory activity for the first synthesized 8-morpholinotheophyllinyl-7-acetic acid ylidene hydrazide derivatives suggest, that the most pronounced anti-exudative effect has compound № 1 – 5-nitrofuryl-2-propenylidenehydrazide-8-morpholinotheophyllinyl-7-acetic acid, which is in a dose of 32.5 mg/kg after 4 hours after administration caused a decrease in the experimental edema on 48.7%. The substitution of the 5-nitrofuryl-2-propenylidenehydrazide radical in the second position of the molecule of 8-morpholinotheophyllinyl-7-acetic acid with idolon-2-ylidene-3-hydrazide radical leads to a decrease in anti-exudative activity.

Less pronounced anti-exudative activity (7.1%) has a compound that contains 5-bromoindolon-2-ylidene-3-hydrazide substituent in position 7 of 8-morpholinotheophyllinyl-7-acetic acid derivative molecule.

It is possible to suggest, that the anti-inflammatory effect of new synthesized derivatives of 8-morpholinotheophyllinyl-7-acetic acid ylidene hydrazide is realized by the decreasing of the release of inflammation mediators of mastocytes and inhibition of gene expression, responsible for the synthesis of inflammatory cytokines.

Thus, among the investigated derivatives of 8-morpholinotheophyllinyl-7-acetic acid, the compound 1 was discovered, which helps to reduce the experimental carrageen paw edema in rats and which anti-inflammatory effect is comparable with that for the reference drug – sodium diclofenac.

Key words: 8-morpholinotheophyllinyl-7-acetic acid ylidene hydrazide, acute toxicity and anti-exudative activity.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Стаття надійшла 04.12.2018 року