

The dependence of antihypoxic activity on the chemical structure in a series of N-(3-methyl-7-acetylmethylxanthinyl)-8-piperazine ammonium salts

*V. I. Kornienko¹, B. A. Samura², N. I. Romanenko³

¹Department of Pharmacology and Toxicology, State Academy of Animal Health, Kharkiv, Ukraine

²Department of Pharmacotherapy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

³Department of Biological Chemistry, State Medical University, Zaporozhie, Ukraine

*Corresponding author: kornienko-valentina1966@mail.ru. Manuscript received February 05, 2013; accepted April 18, 2013

Abstract

The comparative investigation of the dependence of antihypoxic activity on chemical structure in a series of N-(3-methyl-7-acetylmethylxanthinyl)-8-piperazine ammonium salts has been conducted on the model of acute atmospheric hypoxia with hypercapnia in tests on white Wistar line rats. It has been found that among the tested compounds aminoacetic ammonium salt showed the lowest antihypoxic activity, and the highest one was shown by N-(3-methyl-7-acetylmethylxanthinyl)-8-piperazine succinate that increased the life time of rats by 79,9% in the conditions of acute atmospheric hypoxia and exceeded by 9,2% the activity of the reference drug of mexidol. The series of N-(3-methyl-7-acetylmethylxanthinyl)-8-piperazine ammonium salts are the promising group of organic compounds for the further synthesis and pharmacological screening for the purpose of using them as effective antihypoxic drugs.

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

Реферат

Сравнительное 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 белых крысах линии Вистар. Обнаружено, что среди исследованных соединений наименьшую антигипоксическую активность проявила аминоацетатная аммониевая соль, а наибольшую – сукцинат N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния, который увеличивал продолжительность жизни крыс на 79,9% в условиях острой нормобарической гипоксии и превышал активность препарата сравнения мексидола на 9,2%. 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.

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

Введение

Проблема коррекции гипоксических состояний определяет основные направления рационального лечения различных заболеваний человека. Гипоксию характеризуют как несоответствие энергопотребности клетки энергопродукции в системе митохондриального окислительного фосфорилирования [1].

Причины нарушения продукции энергии в гипоксической клетке зависят от расстройства внешнего дыхания, кровообращения в легких, кислороднотранспортной функции крови, нарушения системного, регионарного кровообращения и микроциркуляции. Снижение поступления кислорода в митохондрии приводит к угнетению митохондриального окисления и подавлению активности дегидрогеназ цикла Кребса [2, 3, 4].

Нарушение митохондриального окисления приводит к угнетению сопряженного с ним фосфорилирования и, следовательно, вызывает прогрессирующий дефицит АТФ – универсального источника энергии в клетке [5-7].

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, затрагивающих липидный биослой и мембранные ферменты. Повреждаются главные функции мембран: барьерная, рецепторная, каталитическая. Распад фосфолипидов и ингибирование синтеза ведут к повышению концентрации ненасыщенных жирных кислот и усилению их перекисного окисления [1].

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 [8, 9].

Наряду с терапевтическими эффектами антигипоксанты могут вызывать диспептические явления: тошноту, рвоту, боль в животе, головную боль, бессонницу, ощущение сердцебиения, аллергические реакции, кожную сыпь [10]. В связи с этим поиск новых антигипоксантов является рациональным. Наше внимание привлекли впервые синтезированные производные ксантина [11].

Прогноз биологической активности производных N-(3-метил-7-ацетил-метилксантинил-8-) пиперазиния с помощью компьютерной программы PASS показал, что

производные ксантина являются перспективным классом соединений с антиоксидантным, антигипоксическим, противоишемическим действием.

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

Материал и методы

Объектом исследования являются 14 аммониевых солей в ряду производных N-(3-метил-7-ацетил-метилксантинил)-8-пиперазиния (табл. 1). Структура синтезированных соединений подтверждена с помощью современных физико-химических методов: элементного анализа, УФ-, ИК-, ПМР- и масс-спектрофотометрических исследований. Чистота синтезированных соединений контролировалась методом тонкослойной хроматографии.

Исследование антигипоксической активности синтезированных веществ проведено на модели острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией в опытах на белых крысах линии Вистар. Для проведения исследований отбирали самцов с массой тела 180-200 г. Опытным крысам с помощью металлического зонда, внутрибрюшинно вводили 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 мл и измеряли время до наступления агонального состояния животных [12]. В качестве препарата сравнения использовали антигипоксант мексидол [13], 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» [14]. Экспериментальные данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики с использованием программного обеспечения версии Microsoft Office Excel 2003. Достоверность различий меж-

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

ду экспериментальными группами оценивали при помощи t-критерия Стьюдента [12, 15].

Результаты и их обсуждение

Проведено сравнительное исследование антигипоксической активности аммониевых солей в ряду производных N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния (соединения 1-14). Установлено (табл. 1), что в контрольной группе продолжительность жизни крыс составила $24,9 \pm 0,72$ 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% в условиях острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией. Соединение 2 превышало действие эталонного препарата мексидола на 9,2%.

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-аспаргатная (соед. 3), аминоацетатная (соед. 6). Продолжительность жизни крыс в условиях острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией уменьшалась с 44,8 (79,9%) до 30,4 минут (22,1%) ($p < 0,05$).

Менее выраженное антигипоксическое действие проявили следующие аммонийные соли: бензоатная (соед. 10), L-глутаматная (соед. 4), 2-амино-3-гидрокси-

пропионатная (соед. 14), β-аминопропионатная (соед. 8), введение которых уменьшало продолжительность жизни крыс с 29,3 до 26 минут (табл. 1).

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 антигипоксической 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.

References

1. Koptsov SV, Vakhrushev AE, Pavlov YuV. Sovremennyye aspekty anti-gipoksantov v meditsine kriticheskikh sostoyaniy [Modern aspects of the application of antihypoxants in the medicine of critical conditions]. *Novye Sankt-Peterburgskie vrachebnye vedomosti*. 2002;2:54-56.
2. Kostuchenko AL, Semigolovskiy NYu. Sovremennyye realnosti klinicheskogo primeneniya antigipoksantov [Modern realities of clinical application of antihypoxants]. *FARMindeks: Praktik*. 2002;3:102-122.
3. Smirnov AV, Krivoruchka BI. Antigipoksanty v neotlozhnoy meditsine [Antihypoxants in urgent medicine]. *Anesteziologiya i reanimatologiya*. 1998;2:50-57.
4. Khazanov VA, Kiseliova AA, Vasiliev KY, et al. Cardioprotective effects of trimetazidine and a combination of succinic and malic acids in acute myocardial ischemia. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2008;146(2):218-222.
5. Okovityy SV, Smirnov AV. Antigipoksanty [Antihypoxants]. *Ekspierimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya*. 2001;64(3):76-80.
6. Khayat R, Patt B, Hayes D. Obstructive sleep apnea: the new cardiovascular disease. Part I: Obstructive sleep apnea and the pathogenesis of vascular disease. *Heart Fail Rev*. 2009;14(3):143-153.
7. Ucar ZZ, Taymaz Z, Erbaycu AE, et al. Nocturnal hypoxia and arterial lactate levels in sleep-related breathing disorders. *South. Med. J.* 2009;102(7):693-700.
8. Pavlov OO. Effect of antihypoxant actovegin on dynamics of markers of the oxygen cascade. *Klin Khir*. 2008;9:57-59.
9. Wang XH, Cavell BE, Syed Alwi SS, et al. Inhibition of hypoxia inducible factor by phenethyl isothiocyanate. *Biochem. Pharmacol.* 2009;78(3):261-272.
10. Mashkovskiy MD. Lekarstvennye sredstva [Drugs]. 15-e izd., pererab., ispr. i dop. M.: OOO Izd-vo Novaya volna, 2009;1206.
11. Romanenko MI, Rak TM, Martynuk OO, i. dr. Sintez, fiziko-khimichni ta biologichni vlastivosti pohidnikh imidazo[1,2-f]ksantil-8-alkanovykh kislot [Synthesis, physical, chemical and biological properties of derivatives of imidazo[1,2-f]xanthinil-8-alkan acids]. *Visnik farmatsii*. 2011;1(65):38-41.
12. Sernov LN, Gatsura VV. Elementy eksperimentalnoy farmakologii [Elements of experimental pharmacology]. M.: Meditsina, 2000;308-328.
13. Levitina EV. Vliyanie meksidola na kliniko-biologicheskie proyavleniya perinatalnoy gipoksii u novorozhdennykh detey [Influence of mexidolum on the clinical and biochemical displays of perinatal hypoxia in newborn children]. *Ekspierimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya*. 2001;64(5):34-36.
14. Doklinichni doslidzhennya likarskikh zasobiv [Preclinical researches of medicinal facilities]. [za red. O. V. Stefanov]. K: Avitsena, 2001;433-443.
15. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem EXCEL [Statistical methods in medical and biological researches with the use of EXCEL]. K.: Morion, 2000;320.

