

<sup>1</sup>В.А. Волошина, <sup>1</sup>И.Д. Сапегин, <sup>2</sup>С.И. Коваленко, <sup>1</sup>Г.Г. Берест, <sup>1</sup>А.К. Билый

## СКРИНИНГ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,2,4-ТРИАЗОЛА И 1,2,4-ТРИАЗОЛО[1,5-с]ХИНАЗОЛИНА НА ОСНОВАНИИ ОЦЕНКИ АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ НАРУШЕНИЙ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЙ ГИПОКИНЕЗИИ

<sup>1</sup>Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского,

<sup>2</sup>Запорожский государственный медицинский университет

**Ключові слова:** похідні 1,2,4-тріазолу та 1,2,4-тріазоло[1,5-с]хіназоліну, антиортостатична гіпокінезія, антигіпоксична активність.

**Ключевые слова:** производные 1,2,4-триазола и 1,2,4-триазоло-[1,5-с]хиназолина, антиортостатическая гипокінезія, антигіпоксическая активність.

**Key words:** 1,2,4-triazolo and 1,2,4-triazolo[1,5-c]quinazoline derivatives, antiorthostatic hypokinesia, antihypoxic activity.

У хронічних експериментах на безсонних кроликах, з попередньо вживленими у кору великих півкуль, таламус та гіпоталамус голчастими платиновими електродами, методом полярографії вивчено антигіпоксичну активність ряду нових похідних 1,2,4-тріазолу і 1,2,4-тріазоло[1,5-с]хіназоліну за умов моделювання ішемічної гіпоксії мозку за допомогою антиортостатичного положення з кутом нахилу 45°. Запропоновано шкалу оцінки антигіпоксичної активності, згідно з якою високу активність проявляють сполуки SI-10, SI-14, SI-21, SI-23, SI-25 і SI-26, які суттєво перевищують препарат порівняння пірацетам та підлягають більш поглибленому дослідженню.

В хронических экспериментах на бодрствующим кроликам, с предварительно вживленными в кору больших полушарий, таламус и гипоталамус игльчатыми платиновыми электродами, методом полярографии изучена антигипоксическая активность ряда новых производных 1,2,4-триазола и 1,2,4-триазоло-[1,5-с]хиназолина в условиях моделирования ишемической гипоксии мозга с помощью антиортостатического положения с углом наклона 45°. Предложена шкала оценки антигипоксической активности, согласно которой высокой активностью обладают соединения SI-10, SI-14, SI-21, SI-23, SI-25 и SI-26, которые существенно превосходят препарат сравнения пирацетам и подлежат более глубокому изучению.

Antihypoxic activity of 1,2,4-triazole and 1,2,4-triazolo[1,5-c]quinazoline new derivatives series was investigated in chronic experiments on awake rabbits with preliminary implanted in the bark of large hemispheres, thalamus and hypothalamus needle-shaped platinum electrodes by the method of polarography in the conditions of brain ischemic hypoxia modelling by antiorthostatic position with the angle of slope 45°. The scale of estimation of antihypoxic activity was offered, in obedience to which high activity was possessed by substances SI-10, SI-14, SI-21, SI-23, SI-25 and SI-26, which substantially exceeded the reference substance pyracetam and were to be studied more deeply.

Поиск новых лекарственных средств с антигипоксической активностью является одной из актуальных задач современной фармакологии и фармацевтической химии. Наиболее распространенной причиной гипоксии являются нарушения кровообращения, в том числе мозгового. В связи с этим, наряду с проблемами химического синтеза большое значение имеет выбор адекватной и неинвазивной модели нарушений мозгового кровообращения. В настоящее время в экспериментальной практике наиболее распространена двухсторонняя перевязка сонных артерий у крыс, вызывающая грубые нарушения и ведущая к гибели животных [6]. В то же время на кафедре фармакологии Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского предложено использовать для моделирования нарушений мозгового кровообращения некоторые формы болезни движения. Эти методы, с одной стороны, более предпочтительны с позиций биоэтики, так как являются неинвазивными, проводятся в хронических экспериментах и не вызывают гибели животных. С другой стороны, они адекватно воспроизводят приходящие функциональные нарушения мозгового кровообращения и в связи с этим утверждены Государственным фармакологическим центром МЗ Украины [2]. Среди различных форм болезни движения для изучения сосудорасширяющего и антигипоксического действия наиболее подходит антиортостатическая гипокінезія с углом наклона 45° головой вниз [2]. Она сопровождается перемещением жидких сред в краниальном направлении, ростом внутричерепного давления, венозным застоем, развитием компенсаторной вазоконстрикции, гипоксии и незначительного отека мозга [1, 4, 7, 8].

**ЦЕЛЬ** нашего ИССЛЕДОВАНИЯ: отбор наиболее эффективных антигипоксантов в ряду новых производных 1,2,4-триазола и 1,2,4-триазоло[1,5-с]хиназолина [9], синтезированных на кафедре фармацевтической химии Запорожского государственного медицинского университета под руководством проф. Коваленко С.И., для дальнейшего изучения при других модельных патологиях.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.** Опыты проведены на бодрствующих кроликах породы шиншилла с предварительно вживленными в кору больших полушарий, таламус и гипоталамус игльчатыми платиновыми электродами [2]. Координаты структур определяли согласно атласу стереотаксических исследований на мозге кролика [10]. Напряжение кислорода в тканях указанных структур изучали методом полярографии [3, 5]. Полученные данные без вычисления абсолютных значений  $pO_2$  непосредственно переводили в  $\pm\%$  к исходному уровню, принятому за 100%. В результате величины, связывающие силу тока и  $pO_2$ , при вычислении сокращались, что исключало влияние индивидуальных характеристик электродов на получаемые результаты. Моделирование антиортостатической гипокінезія с углом наклона 45° головой вниз осуществлялось при помощи разработанного на кафедре фармакологии Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского специального стенда [7, 8].

Исследуемые вещества производные 1,2,4-триазола (SI-9, SI-10, SI-12, SI-22, SI-23, SI-28, SI-29, SI-32, SI-34, SI-50) и 1,2,4-триазоло[1,5-с]хиназолина (SI-2, SI-4, SI-5, SI-11, SI-14, SI-20, SI-21, SI-25, SI-26) вводили в виде суспензии (к навеске вещества прибавляли 0,3 мл ТВИН-80) и вводились перорально в дозе 10 мг/кг за 30 минут до пе-



Изменения напряжения кислорода ( $pO_2$ ) в тканях мозга бодрствующих кроликов при АОП без применения препаратов и на фоне действия исследуемых веществ

Показатель	Изменения показателя в $\pm\%$ к исходному уровню, принятому за 100% через 2 часа воздействия							
	В-во	Кора	Таламус	Гипоталамус	В-во	Кора	Таламус	Гипоталамус
M	Без препаратов	-29,22	-25,13	-19,28	Пирацетам	-18,54	-21,07	-4,37
$\pm m$		1,97	1,32	0,51		2,64	1,85	0,94
P		<0,01	<0,01	<0,01		<0,01	<0,01	<0,01
$\Delta$		-	-	-		+	+	++
M	Si-2	-9,07	+3,38	+4,86	Si-4	-14,37	-1,68	+12,27
$\pm m$		1,42	1,89	1,65		0,97	2,19	2,08
P		<0,01	>0,25	<0,05		<0,01	>0,5	<0,01
$\Delta$		+	+++	+++		+	++	+++
M	Si-5	-18,61	+3,81	+3,61	Si-9	-20,79	-10,05	+3,01
$\pm m$		1,54	2,56	4,60		2,54	1,61	1,69
P		<0,01	>0,25	>0,5		<0,01	<0,01	>0,25
$\Delta$		+	++	++		+	+	++
M	Si-10	-0,65	-2,40	+6,38	Si-11	-6,03	-8,98	-0,90
$\pm m$		2,12	1,63	1,91		2,60	1,06	1,19
P		>0,5	>0,25	<0,01		<0,05	<0,01	>0,5
$\Delta$		++	++	+++		+	+	++
M	Si-12	-6,07	-12,22	-0,54	Si-14	+7,75	-4,73	+4,15
$\pm m$		3,18	1,27	1,54		3,92	1,04	1,89
P		>0,1	<0,01	>0,5		>0,5	<0,01	>0,1
$\Delta$		+	+	++		++	++	++
M	Si-20	-10,11	-0,69	+28,26	Si-21	+0,67	-1,60	-3,98
$\pm m$		2,63	1,39	4,75		2,20	3,00	2,98
P		<0,01	>0,5	<0,01		>0,5	>0,5	>0,25
$\Delta$		+	++	+++		++	++	++
M	Si-22	-7,54	+12,75	-7,56	Si-23	-2,18	+23,24	+18,66
$\pm m$		2,34	2,61	1,75		2,72	2,36	3,15
P		<0,01	<0,01	<0,01		>0,5	<0,01	<0,01
$\Delta$		+	+++	+		++	+++	+++
M	Si-25	+8,47	+18,58	+3,57	Si-26	+1,60	+4,30	+5,53
$\pm m$		4,90	5,12	3,06		1,66	2,13	2,67
P		>0,1	<0,01	>0,5		>0,5	>0,1	>0,1
$\Delta$		+++	+++	++		++	++	+++
M	Si-28	-6,94	+16,62	+13,69	Si-29	-17,70	+3,75	+14,91
$\pm m$		1,82	2,63	2,71		0,72	1,41	1,98
P		<0,01	<0,01	<0,01		<0,01	<0,05	<0,01
$\Delta$		+	+++	+++		+	++	+++
M	Si-32	-13,21	-18,42	+3,16	Si-34	-14,52	+2,60	+3,27
$\pm m$		2,06	2,96	4,46		1,84	3,34	2,70
P		<0,01	<0,01	>0,5		<0,01	>0,5	>0,25
$\Delta$		+	+	++		+	++	++
M	Si-50	-6,91	-9,36	-7,45				
$\pm m$		1,78	1,59	1,29				
P		<0,01	<0,01	<0,01				
$\Delta$		+	+	+				

ревода в антиортостатическое положение. В качестве препарата сравнения использован пирарцетам в дозе 250 мг/кг в виде водного раствора внутрь за 30 минут до перевода в антиортостатическое положение.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.** Перевод животных в антиортостатическое положение вызывает уменьшение напряжения кислорода в тканях (табл. 1). Это обусловлено смещением крови в краниальном направлении и рефлекторным спазмом мозговых сосудов в ответ на повышение внутричерепного давления [1, 4; 7, 8]. Данная реакция носит защитный характер и препятствует развитию отека мозга. Однако компенсаторная вазоконстрикция вызывает уменьшение перфузии тканей и развитие гипоксии мозга. В данной работе будет рассмотрено антигипоксическое действие синтезированных субстанций, которое может быть производным как метаболического, так и сосудорасширяющего действия. Данное исследование носит скрининговый характер, а выявленные наиболее эффективные соединения подлежат более глубокому изучению.

Препарат сравнения – пирарцетам проявил слабую антигипоксическую активность, уменьшая снижение  $pO_2$  наиболее значительно в гипоталамусе (табл. 1). Следует отметить, что большинство исследуемых субстанций также наиболее эффективно противодействовали снижению  $pO_2$  в данной структуре, что можно связать с лучшим проникновением их через гематоэнцефалический барьер в гипоталамусе. Важным является то, что исследуемые соединения отличались как по степени антигипоксической активности ( $\Delta$ ), так и по ее проявлению в изученных структурах мозга. Степень активности "+" – «умеренная» отмечалась, если в результате действия вещества в данной структуре сохраняется снижение  $pO_2$  более, чем на -5% относительно контрольного уровня (уменьшение снижения показателя). Степень активности «++» – «средняя» отмечалась, если наблюдалось отклонение  $pO_2 \pm 5\%$  относительно контрольного уровня (устранение снижения показателя). Степень активности «+++» – «высокая» отмечалась, если наблюдалось абсолютное повышение  $pO_2$  более, чем на +5% относительно контрольного уровня (абсолютный рост показателя). Соответственно распределению активности по структурам, исследуемые вещества можно условно разделить на 3 группы. Первая группа, «с низкой эффективностью» – умеренная активность во всех структурах и средняя активность в одной из структур. К этой группе следует отнести пирарцетам, SI-32 и SI-50. Вторая группа, «с неравномерной эффективностью» – умеренная активность в одних структурах сочетается со средней или высокой в других. К этой группе следует отнести SI-2, SI-4, SI-5, SI-9, SI-11, SI-12, SI-20, SI-22, SI-28, SI-29, SI-34. Третья группа, «с высокой эффективностью» – равно-

мерная средняя эффективность во всех структурах или ее сочетание с высокой. К этой группе следует отнести SI-10, SI-14, SI-21, SI-23, SI-25 и SI-26. Именно эта группа наиболее перспективна для дальнейшего изучения.

## ВЫВОДЫ

Перевод животных в антиортостатическое положение вызывает уменьшение напряжения кислорода в тканях, обусловленное снижением перфузии тканей за счет компенсаторной вазоконстрикции в ответ на рост внутричерепного давления.

Предложена шкала оценки антигипоксической активности. Согласно предложенным критериям оценки эффективности препарат сравнения пирарцетам обладает низкой антигипоксической активностью, а все изученные вещества – аналогичной или более высокой активностью.

Исследуемые соединения SI-10, SI-14, SI-21, SI-23, SI-25 и SI-26, которые существенно превосходят препарат сравнения пирарцетам, подлежат более глубокому изучению.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бекетов А.И., Коняева Е.И. Кровообращение и напряжение кислорода в головном мозге бодрствующих и наркотизированных кроликов при антиортостатическом воздействии // Физиол. ж. СССР. – 1989. – Т.75, №11. – С.1548-1553.
2. Бекетов А.И., Сапегин И.Д., Полевик И.В. Экспериментальное (доклиническое) изучение фармакологических средств, влияющих на мозговое кровообращение: методические рекомендации. – Киев: "Авиценна", 2002. – 33с.
3. Березовский В.А. Напряжение кислорода в тканях животных и человека. – Киев: Наукова думка, 1975. – 280с.
4. Горгиладзе Г.И., Брянов И.И. Космическая болезнь движения // Космич. биол. и авиакосмич. мед. – 1989. – Т.23, №3. – С.4-14.
5. Коваленко Е.А., Березовский В.А., Эпштейн И.М. Полярно-графическое определение кислорода в организме. – М.: Медицина, 1975. – 231с.
6. Методические указания по экспериментальному изучению препаратов для лечения нарушений мозгового кровообращения и мигрени. / Р.С. Мирзоян, А.С. Саратиков, М.Б. Плотников и др. // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: ИИА "Ремедиум", 2000. – С.159-161.
7. Полевик И.В. Влияние верапамила и нимодипина на мозговой кровоток и цереброваскулярную реактивность в покое и при антиортостатическом воздействии: Автореферат дисс. ... канд. мед. наук: 14.00.25 / Ростов-на Дону, 1991. – 21с.
8. Сапегин И.Д. Влияние пикамилона и фенибута на мозговое кровообращение при моделировании гемодинамических нарушений, связанных с болезнью движения: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 14.00.25 / Киев, 1993. – 20с.
9. Синтез та нуклеофильне розщеплення 2-R-[1,2,4]тріазоло[1,5-c]-хіназолінів / Коваленко С.І., Волошина В.О., Карпенко О.В. // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2009. – Т.7. – Випуск 6(26). – С.49-54.
10. Monier M., Gangloff M. Atlas for stereotaxic brain research on the conscious rabbit. – Amsterdam: Elsevier Publishing Company, 1961. – 145р.

### Сведения об авторах:

Волошина Виктория Александровна, ассистент кафедры фармаци Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского.

Сапегин Игорь Дмитриевич, д. мед. н., профессор, заведующий кафедры фармакологии Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского

Коваленко Сергей Иванович, д. фарм. н., профессор, Запорожский государственный медицинский университет.

Берест Галина Григорьевна, ассистент кафедры фармакогнозии, фармацевтической химии и технологии лекарств ФПО, Запорожский государственный медицинский университет.

Билый Андрей Константинович, студент-интерн, Запорожский государственный медицинский университет.

Адрес для переписки: 69035, Запорожье, пр. Маяковского, 26, тел. 224-69-25950067