

Г. І. Степанюк¹, О. В. Почелова¹, Н. Г. Степанюк¹,
С. І. Коваленко², О. Ю. Воскобойник²

Актопротекторна активність солей (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино-[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їхніх галогенвмісних аналогів

¹Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

²Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: актопротекторна активність, похідні (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино-[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот, бемітил, плавальний тест

Актопротектори – це засоби, що запобігають виникненню втоми та покращують працездатність за звичайних та екстремальних умов (гіпоксія, гіподинамія, високі та низькі температури тощо). Нині вказаний клас фармацевтичних препаратів представлений практично одним бемітилом. Слід також враховувати недостатню ефективність останнього та наявність у нього побічних ефектів, які обмежують використання препарату в клініці [6]. До того ж бемітил в Україні не випускають, хоча потреба в таких засобах, без сумніву, велика.

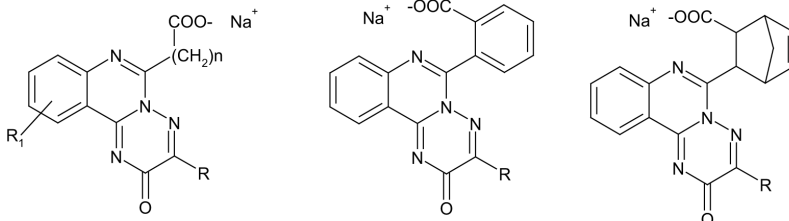
У зв'язку з цим пошук нових речовин з актопротекторною дією, придатних для створення на їхній основі нового лікарського засобу, є актуальною задачею фармакології. У цьому плані нашу увагу привернули похідні (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот, яким, за даними літератури [3, 7], притаманні церебро- та кардіопротекторні властивості, що дає підставу сподіватись на наявність у речовин даного класу хімічних сполук актопротекторного ефекту, оскільки за фізичних перевантажень, у першу чергу, страждають життєвоважливі органи – мозок та серце [4, 8]. Інтерес до сполук цього класу зумовлений ще й тим, що вони містять у своїй структурі фармакофорні фрагменти, а саме тетраазафенантеновий цикл, алкіл-(циклоалкіл-, арил-)

карбоксылну функціональні групи, алкіл-(алкокси-, галогено-)арильний та бензильний фрагменти, які визначають біологічну активність низки лікарських препаратів [6].

Мета дослідження – виявити наявність та величину актопротекторного ефекту в ряді вказаних речовин, визначити сполуки-лідери, придатні для поглибленого вивчення їхніх фармакологічних властивостей.

Матеріали та методи. Для дослідження взято 32 нові натрієві солі (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їхні галогенвмісні аналоги (лабораторні шифри речовин наведено в табл. 1), що були синтезовані в Запорізькому державному медичному університеті під керівництвом професора С. І. Коваленко. Хімічну структуру зазначених похідних наведено на рисунку.

Експерименти проведено на 315 білих нелінійних щурах обох статей масою 160–220 г. Скринінг актопротекторної активності досліджуваних речовин здійснено за плавальним тестом: визначали показник тривалості (у хв) плавання щурів у воді ($t = 24-26\text{ }^{\circ}\text{C}$) з додатковим навантаженням (10 % від маси тіла) до появи ознак повної втоми (10-с занурення тварини на дно) [2]. На етапі скринінгу досліджувані сполуки вводили тваринам одноразово внутрішньоочеревинно (в/оч) за 40–50 хв до початку дослідження в дозах 10 мг/кг (взято емпірично). Препарат порівняння бемітил застосовували так само в терапевтично ефективній дозі (50 мг/кг), запозиченій з літератури [5]. Контрольна група тварин ($n = 21$) отримувала в/оч еквівалентну кількість



R=CH₃, C₆H₅, 4-CH₃C₆H₄, 4-CH₃OC₆H₄, 4-C₂H₅C₆H₄, 4-(CH₃)₂CHC₆H₄, 3,4-(CH₃)₂C₆H₃,
4-F-C₆H₄; R₁=H, F, Cl, CH₃; n=0, 1, 3, 4

Рисунок. Хімічна структура натрієвих солей (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їхніх галогенвмісних аналогів

0,9 % розчину NaCl. Дію кожної сполуки вивчали на групі з 6 щурів. Величину актопротекторного ефекту оцінювали за зміною середньої тривалості плавального тесту (%) відносно контролю. Для найактивніших за результатами скринінгу сполук додатково вивчали дозозалежну дію за результатами плавальної проби та розраховували ЕД₅₀ (середньоефективну дозу речовини, що сприяла зростанню тривалості плавання тварин на 50 %), яку визначали графічним методом Літчфілда-Уїлкоксона [1].

Обробку цифрових даних здійснювали з використанням методу варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента. Різницю між показниками вважали статистично вірогідною при $p \leq 0,05$. Отримані результати наведено в таблицях 1 та 2.

Результати та їх обговорення. Із даних, наведених у таблиці 1, видно, що на тлі дії переважної більшості досліджуваних сполук у дозі 10 мг/кг (за винятком DSK-70, DSK-106, AV-225 та AV-229) подібно до бемітилу (50 мг/кг) спостерігали вірогідне зростання показника тривалості плавання щурів за умов експерименту. Зазначені зміни фізичної витривалості тварин, викликані досліджуваними сполуками, можуть бути ознакою наявності в похідних (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)карбонових кислот, як і в бемітилу, актопротекторної активності. Найбільшу спроможність підвищувати фізичну витривалість організму виявляли сполуки з лабораторними шифрами AV-224, DSK-38, AV-227 та DSK-39 (сполуки-лідери): тривалість плавального тесту на їхньому тлі зросла відповідно на 318, 291,

206 та 171 % проти 141 % у бемітилу. При цьому за ефективністю сполуки AV-224 та DSK-38 вірогідно переважали референс-препарат у 2,2 та 2,0 разу відповідно, а AV-227 та DSK-39 – співставлялись з еталонним актопротектором. Важливо, що зазначені сполуки є натрієвими солями (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-тріазино-[2,3-с]хіназолін-6-іл)пропанових (AV-224, AV-227) та бутанових (DSK-38, DSK-39) кислот і містять у гетероциклічній компоненті бром та хлор.

У подальших дослідженнях встановлено, що актопротекторна дія сполук-лідерів є дозозалежною (табл. 2).

За величиною показника ЕД₅₀ сполуки AV-227, DSK-38, DSK-39 та AV-224 переважають актопротекторну активність бемітилу в 8,1; 7,1; 6,2 та 6,1 разу відповідно.

Таким чином, результати проведеного дослідження показали, що похідні (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-тріазино-[2,3-с]хіназолін-6-іл) карбонових кислот є носіями актопротекторної активності, яка найбільше проявилася в сполук з лабораторними шифрами AV-227 DSK-38, DSK-39 та AV-224. При цьому їхня дія, як і референс-препарату, є дозозалежною. Характеризуючи залежність «структура-актопротекторна активність» серед досліджених сполук, можна констатувати, що, по-перше, її наявність обумовлює гетероциклічний фрагмент, по-друге, вона залежить від природи замісників у положеннях 3, 6, 9 та 10. Так, більша активність характерна для сполук, які в положенні 6 містять карбоксиалкільні (карбоксипропіл або карбоксибутил) замісники, а в положенні 3 – метильний та ариль-

**Тривалість плавання щурів ($t = 24-26\text{ }^{\circ}\text{C}$)
за впливу досліджуваних сполук, $M \pm t$**

№	Шифр сполуки	Доза, мг/кг	n	Тривалість плавального тесту, хв	% змін відносно контролю
1	Інтактні щурі (контроль)	-	21	$6,04 \pm 0,39$	-
2	Бемітил	50,0	6	$14,54 \pm 1,38^*$	+ 141,0
3	AV-224	10,0	6	$25,25 \pm 3,40^{**}$	+ 318,0
4	DSK-38	10,0	6	$23,63 \pm 2,65^{**}$	+ 291,0
5	AV-227	10,0	6	$18,45 \pm 1,50^*$	+ 205,0
6	DSK-39	10,0	6	$16,40 \pm 1,50^*$	+ 171,0
7	DSK-107	10,0	6	$13,10 \pm 0,70^*$	+ 117,0
8	AV-217	10,0	6	$13,00 \pm 1,68^*$	+ 115,0
9	AV-226	10,0	6	$12,71 \pm 0,88^*$	+ 110,0
10	DSK-110	10,0	6	$11,79 \pm 1,00^*$	+ 95,2
11	AV-228	10,0	6	$11,54 \pm 1,36^*$	+ 91,0
12	AV-232	10,0	6	$11,14 \pm 0,76^*$	+ 84,0
13	AV-230	10,0	6	$10,84 \pm 1,68^*$	+ 79,0
14	DSK-77	10,0	6	$10,43 \pm 0,67^*$	+ 72,7
15	DSK-127	10,0	6	$10,33 \pm 1,80^*$	+ 71,0
16	DSK-75	10,0	6	$9,95 \pm 0,53^*$	+ 64,7
17	AV-216	10,0	6	$9,85 \pm 0,57^*$	+ 63,0
18	DSK-72	10,0	6	$9,80 \pm 0,88^*$	+ 62,2
19	AV-218	10,0	6	$9,44 \pm 0,32^*$	+ 56,0
20	AV-11	10,0	6	$9,16 \pm 0,72^*$	+ 51,6
21	AV-223	10,0	6	$9,09 \pm 0,63^*$	+ 50,0
22	DSK-70	10,0	6	$8,96 \pm 1,15$	+ 48,3
23	DSK-74	10,0	6	$8,57 \pm 0,49^*$	+ 41,9
24	DSK-111	10,0	6	$8,54 \pm 0,58^*$	+ 41,4
25	DSK-105	10,0	6	$8,45 \pm 0,74^*$	+ 39,9
26	DSK-73	10,0	6	$8,32 \pm 0,57^*$	+ 37,7
27	DSK-71	10,0	6	$8,20 \pm 0,46^*$	+ 36,0
28	AV-231	10,0	6	$8,15 \pm 0,79^*$	+ 35,0
29	DSK-69	10,0	6	$8,13 \pm 0,14^*$	+ 34,6
30	DSK-128	10,0	6	$7,53 \pm 0,39^*$	+ 25,0
31	DSK-114	10,0	6	$7,30 \pm 0,44^*$	+ 21,0
32	DSK-106	10,0	6	$7,06 \pm 0,53$	+ 16,9
33	AV-225	10,0	6	$6,30 \pm 1,41$	+ 4,3
34	AV-229	10,0	6	$4,92 \pm 0,90$	- 18,5

Примітка. * $p \leq 0,05$ відносно контролю, ** $p \leq 0,05$ відносно бемітилу.

ний замісники з радикалом (метокси-, флюоро-, ізопропіл), що підвищує ліпофільність молекули. Слід зазначити, що в деяких випадках суттєво підвищує активність галоген (хлор, бром) у положенні 10 гетероциклу.

Спроможність досліджуваних речовин підвищувати фізичну витривалість щурів у нормотермічних умовах експерименту можна пов'язати, певною мірою, з їхньою властивістю стимулювати кровопостачання серця та мозку

**Тривалість плавання щурів ($t = 24-26\text{ }^{\circ}\text{C}$) за впливу
різних доз сполук-лідерів, $M \pm m$, $n = 6$**

№	Шифр сполук	Доза, мг/кг	Тривалість плавання, хв	% змін відносно контролю	ЕД ₅₀ , мг/кг
1	AV-227	10,0	18,45 ± 1,50*	+ 205,5	4,2
		5,0	9,61 ± 0,60*	+ 59,0	
		2,5	7,38 ± 0,63	+ 22,3	
2	DSK-38	10,0	23,63 ± 2,65*	+ 291,0	4,8
		7,5	9,97 ± 0,37*	+ 65,0	
		5,0	9,51 ± 0,40*	+ 57,0	
		2,5	7,91 ± 0,53	+ 31,0	
3	DSK-39	10,0	16,40 ± 1,50*	+ 171,0	5,5
		7,5	10,40 ± 0,32*	+ 72,4	
		5,0	8,85 ± 0,42*	+ 46,6	
4	AV-224	10,0	25,25 ± 3,40*	+ 318,0	5,6
		7,5	10,58 ± 1,20*	+ 75,0	
		5,0	8,38 ± 0,55*	+ 39,0	
5	Бемітил	50,0	14,54 ± 1,38*	141,0	34,0
		37,5	9,74 ± 0,44*	+ 61,0	
		25,0	7,22 ± 0,23*	+ 19,5	
6	Інтактні щури (контроль $n = 21$)	–	6,04 ± 0,39	–	

Примітка. * $p \leq 0,05$ відносно контролю.

[3, 7], які найбільше страждають за умов фізичних навантажень [8]. Отримані дані вказують на доцільність поглибленого вивчення фармакологічних властивостей похідних (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-тріазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл)карбонових кислот з лабораторними шифрами AV-227, DSK-38, DSK-39 та AV-224 з метою створення на їхній основі нового актопротекторного засобу, конкурентоспроможного порівняно з бемітилом.

Висновки

1. Серед похідних (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-тріазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот найбільшою актопротекторною активністю характеризуються сполуки з лабораторними шифрами AV-227, DSK-38, DSK-39 та AV-224.

2. За величиною показника ЕД₅₀ сполуки AV-227, DSK-38, DSK-39 та AV-224 переважають еталонний актопротектор у 8,1; 7,1; 6,2 та 6,1 разу відповідно.

3. Ступінь актопротекторної дії досліджуваних речовин обумовлює як сам гетероциклічний фрагмент, так і природа замісників в положеннях 3, 6, 9 та 10. Найбільшу активність мають сполуки, які в положенні 6 містять карбоксиалкільні (карбоксипропіл або карбоксибутил) замісники, а в положенні 3 – метильний та арильний замісники з радикалом (метокси-, флюоро-, ізопропіл), що підвищує ліпофільність молекули.

4. Зазначені похідні перспективні для подальшого вивчення їхньої актопротекторної дії, зокрема, в ускладнених умовах експерименту.

1. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. Л. Беленький. – Л. : Госмедиздат, 1963. – 152 с.
2. Головенко М. Я. Экспериментальне вивчення ноотропної активності фармакологічних сполук: Методичні рекомендації ДФЦ МОЗУ / М. Я. Головенко. – К. : Авіцена, 2002. – 27 с.

3. Джигалюк О. В. Порівняльна оцінка впливу похідного 4-оксо(аміно)-хіназоліну (сполуки ПК-66) та перлінганіту на динаміку показників вінцевої та церебральної гемодинаміки у котів в умовах наркозу // О. В. Джигалюк, Г. І. Степанюк, О. А. Ходаківський // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, №4. – С. 779–782.
4. Дружинин А. Е. Кардиопротекторная активность адаптогенов и антиоксидантов при экспериментальной миокардиодистрофии физического перенапряжения /А. Е. Дружинин // Спортивная медицина. – 2010. – № 1–2. – С. 98–100.
5. Скринінг актопротекторної дії нових похідних адамантану / О. П. Лонська, Г. І. Степанюк, Ю. В. Короткий, М. О. Лозинський // Biomedical and Biosocial Antropology. – 2007. – № 9. – С. 134–137.
6. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – М. : Новая Волна, 2012. – 1216 с.
7. Степанюк Г. І. Оцінка церебропротекторної дії похідних (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]тріазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот на моделі гострого порушення мозкового кровообігу в щурів / Г. І. Степанюк, Н. О. Семененко, С. І. Коваленко [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 6 (25). – С. 22–26.
8. Фармакологія спорта; под. ред. С. А. Олейника, Л. М. Гуниной, Р. Д. Сейфулла. – К. : Олимпийская литература, 2010. – 638 с.

Г. І. Степанюк, О. В. Почелова, Н. Г. Степанюк, С. І. Коваленко, О. Ю. Воскобойнік
**Актопротекторна активність солей (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]
хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їхніх галогенвмісних аналогів**

Мета дослідження – виявити наявність та величину актопротекторного ефекту солей (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їхніх галогенвмісних аналогів, визначити сполуки-лідери, придатні для поглибленого вивчення їхніх фармакологічних властивостей.

Величину актопротекторної дії сполук оцінювали за їхнім впливом на тривалість плавання щурів у воді (24–26 °С) з додатковим навантаженням (10 % від маси тіла).

Встановлено, що одноразове внутрішньоочеревинне введення тваринам похідних (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот в емпірично взятій дозі 10 мг/кг, як і бемітилу (50 мг/кг), викликає збільшення тривалості плавання тварин, що є ознакою наявності в похідних (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот, як і в еталонного препарату, актопротекторної активності. Найбільшу спроможність підвищувати фізичну витривалість організму проявили сполуки з лабораторними шифрами AV-224, DSK-38, AV-227 та DSK-39 (сполуки-лідери): тривалість плавального тесту на тлі їхньої дії збільшилася відносно контролю на 318, 291, 205 та 171 % відповідно проти 141 % під впливом бемітилу.

У подальших дослідженнях доведено, що актопротекторний ефект сполук-лідерів, як і бемітилу, є дозозалежним. За величиною показника ED_{50} сполуки-лідери переважали препарат порівняння в 6,1–8,1 разу. Найбільша активність характерна для сполук, які в положенні 6 містять карбоксильні (карбоксипропіл або карбоксибутил) замісники, а в положенні 3 – метильний та арильний замісники з радикалом (метокси-, флюоро-, ізопропіл), що підвищує ліпофільність молекули. Отримані результати вказують на перспективність поглибленого вивчення фармакологічних властивостей сполук-лідерів з метою створення нового актопротектора.

Ключові слова: актопротекторна активність, похідні (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот, бемітил, плавальний тест

Г. И. Степанюк, Е. В. Почелова, Н. Г. Степанюк, С. И. Коваленко, А. Ю. Воскобойник
**Актопротекторная активность солей (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]
хіназолин-6-ил)карбоновых кислот и их галогенсодержащих аналогов**

Цель исследования – установить наличие и величину актопротекторного эффекта солей (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолин-6-ил)карбоновых кислот и их галогенсодержащих аналогов, выявить соединения-лидеры, пригодные для углубленного изучения их фармакологических свойств.

Величину актопротекторного действия соединений оценивали по их влиянию на продолжительность плавания крыс в воде (24–26 °С) с дополнительным грузом (10 % от массы тела).

Установлено, что одноразовое внутрибрюшинное введение животным производных (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолин-6-ил)карбоновых кислот в эмпирически взятой дозе 10 мг/кг, как и бемитила (50 мг/кг), вызывает увеличение длительности плавания животных, что является признаком наличия у этих соединений, как и у эталонного препарата, актопротекторной активности.

Наибольшую способность повышать физическую выносливость организма проявили соединения с лабораторными шифрами AV-224, DSK-38, AV-227 та DSK-39: продолжительность плавательного теста на фоне их действия увеличилась относительно контроля на 318, 291, 205 и 171 % соответственно против 141 % под влиянием бемитила. В дальнейших исследованиях установлено, что актопротекторный эффект соединений-лидеров, как и бемитила, является дозозависимым. По величине

показателя ED₅₀ соединения – лидеры превосходили препарат сравнения в 6,1–8,1 раз. Наибольшая активность характерна для соединений, которые в положении 6 содержат карбоксиалкильные (карбокситрипропил или карбоксибутил) заместители, а в положении 3 – метильный и арильный заместители с радикалами (метокси-, флюоро-, изопротил), которые повышают липофильность молекулы. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности углубленного исследования фармакологических свойств соединений-лидеров с целью создания нового актопротектора.

Ключевые слова: актопротекторная активность, производные (3-*R*-оксо-2H-[1,2,4]-триазино[2,3-*c*]хиназолин-6-ил)карбоновых кислот, бемитил, плавательный тест

G. I. Stepanyuk, E. V. Pochelova, N. G. Stepanyuk, S. I. Kovalenko, A. Y. Voskoboynik
An actoprotective activity of salts of (3-*R*-oxo-2H-[1,2,4]-triazino[2,3-*c*] quinazolin-6-yl) carboxylic acids and their halogen containing analogues

The purpose of the study was to evaluate the actoprotective effects of salts of (3-*R*-oxo-2H-[1,2,4]-triazino[2,3-*c*] quinazolin-6-yl) carboxylic acids and their halogen containing analogues, to identify compounds – leaders, suitable for in-depth study of their pharmacological properties.

The actoprotective activities of the compounds were evaluated on white rats by the duration of swimming test in water (24–26 °C) with the additional load (10 % of body weight).

There were established that single intraperitoneal administration to animals (3-*R*-oxo-2H-[1,2,4]-triazino[2,3-*c*] quinazolin-6-yl) carboxylic acids derivatives in the empiric taken dose 10 mg/kg, as well as bemetyl (50 mg/kg), caused an increase of the duration of swimming test. Marked increase of the physical endurance of rats induced by the test compounds provided the evidence of their actoprotective activity. The greatest abilities to promote physical endurance of animals showed the compounds under laboratory code AV-224, DSK-38, AV-227 and DSK-39: under their action the duration of swimming test elongated accordingly by 318, 291, 205 and 171 % against 141 % under influence of bemetyl as to control group. It was established that actoprotective effects of these compounds as bemetyl are dose dependent. Leader compounds were superior comparator drug bemetyl about 6,1–8,1 times on the value of ED₅₀. The highest activities were characterized for the compounds that contain carboxyalkyl (carboxypropyl or carboxybutyl) substituents at position 6 and methyl radicals with aryl substituents (methoxy, flyuoro-, isopropyl) at position 3 which led to an increase the lipophilicity of the molecule. The results obtained indicate the prospects of in-depth study the pharmacological properties of the leader compounds to create a new actoprotector.

Key words: actoprotective activity, derivatives of (3-*R*-oxo-2H-[1,2,4] triazino [2,3-*c*] quinazolin-6-yl) carboxylic acid, bemetyl, swimming test

Надійшла: 15.09.2014 р.

Контактна особа: Степанюк Георгій Іванович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21021. Тел.: +38 0 432 61 14 00.