

Рекомендована д.м.н., професором С.Ю.Штриголем

УДК 547.756:615.31

## СКРИНІНГ АНТИГІПОКСИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В РЯДУ НОВИХ ПОХІДНИХ 3,2'-СПІРО-ПІРОЛО-2-ОКСІНДОЛУ

О.В.Багаурі, Р.Г.Редькін, О.А.Ходаківський

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова

Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського НАМН України

**Проведені скринінгові дослідження з виявлення антигіпоксичної активності серед 10 оригінальних похідних 3,2'-спіро-піроло-2-оксіндолу на моделях гострої нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією та гострої асфіксії дозволили виділити серед 10 оригінальних похідних вказаного ряду сполуку з лабораторним шифром R-86, яка виявляла протигіпоксичні властивості в умовах даного патологічного стану. Її превентивне внутрішньошлункове введення у дозах 10 мг/кг (на моделі гіпоксії з гіперкапнією) та 5 мг/кг (в умовах гострої асфіксії) сприяло збільшенню тривалості життя тварин та біоелектричної активності серця щурів у заданих умовах відносно контролю відповідно на 33,7% ( $p < 0,05$ ) та 12,1%. Враховуючи особливості розвитку ішемічного каскаду таких патологічних станів, як інсульт та інфаркт міокарда, де гіпоксія займає ключове місце, можна стверджувати, що сполука R-86 є перспективною для подальшого вивчення її ефективності при гострій церебральній та кардіальній ішемії.**

Відомо, що гіпоксичний процес обов'язково супроводжує будь-який прояв ішемічного ураження тканин. Церебральний інсульт та ішемічна хвороба серця не є винятком. Гіпоксія є одним із провідних механізмів ушкодження головного мозку та серця у хворих із гострим порушенням мозкового кровообігу (ГПМК) та інфарктом міокарда (ІМ), що призводить до незворотних змін у нейронах та кардіоміоцитах [3, 12, 13]. Оскільки головний мозок та серцевий м'яз відрізняються високим рівнем споживання кисню і великою чутливістю до його дефіциту [1, 14, 15], навіть в умовах достатнього насичення крові киснем і за нормальних показників центральної та веневої гемодинаміки в осередку ішемічного вогнища клітини страждають від гіпоксичного енергодефіциту [2, 7].

Останнім часом все більше уваги приділяється дослідженню препаратів, які здатні підвищувати стійкість нейронів та міоцитів в умовах гіпоксії, антигіпоксантам [6-10].

Для забезпечення цитопротекції в умовах ГПМК та ІМ широко використовують лікарські засоби, в яких однією зі складових механізму захисної дії на ішемізовані клітини є антигіпоксична активність. Вищезазначені властивості повною мірою представлені у препаратів, створених на основі бурштинової кислоти (мексидол, цитофлавін, реамберин) [6]. Буршти-

нова кислота є природним ендogenous субстратом клітини, в умовах ішеміко-гіпоксичного пошкодження нейронів сукцинат прискорює перебіг реакцій циклу Кребса, знижує концентрацію лактату, пірувату та цитрату та сприяє утилізації тканинами кисню [2]. Клінічні дослідження показали, що застосування мексидолу при ГПМК та ІМ достовірно покращує клініко-лабораторні показники, відновлення когнітивно-мнестичних функцій, регрес неврологічного дефіциту та зменшення летальності хворих, які перенесли судинну катастрофу [3, 7]. Однак, усі ці засоби представлені на нашому ринку закордонними фармацевтичними компаніями, що, безумовно, віддзеркалюється на їх вартості. Крім того, ім також притаманні низка протипоказань та несприятлива взаємодія з іншими препаратами, що обмежує можливості терапії. Пошук перспективних сполук з антигіпоксичною активністю, які могли б стати основою для створення вітчизняного цитопротекторного засобу для більш успішної терапії інсульту та ІМ, ведеться серед різних біологічно активних речовин [8]. У цьому аспекті нашу увагу привернули похідні 3,2'-спіро-піроло-2-оксіндолу, котрі за структурою молекули є біозостерними рослинними алкалоїдами 3,3'-спіро-піролідин-2-оксіндолічного ряду та мають високий потенціал фармакологічної активності [11]. Крім того, раніше серед похідних спіро-пірано-2-оксіндолу нами вже були описані сполуки з вираженими антигіпоксичними та церебропротекторними властивостями [4, 5].

Мета роботи полягала у дослідженні наявності і ступеня антигіпоксичної активності у ряду нових похідних 3,2'-спіро-піроло-2-оксіндолу та оцінці перспективності найбільш активних речовин для їх подальшого вивчення в якості цитопротекторів в умовах гострої церебральної та кардіальної ішемії.

### Матеріали та методи

Дослідження антигіпоксичної активності 10 оригінальних похідних 3,2'-спіро-піроло-2-оксіндолу проводили на моделях гострої нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (ГНГТТ) та гострої асфіксії [7, 8]. ГНГТТ моделювали, розмістивши щурів в ізольованих гермооб'ємах (0,001 м<sup>3</sup>). Спостереження тривало до моменту загибелі тварин. Антигіпоксичну активність оцінювали за тривалістю життя (у хв) відносно контролю, прийнятого за 100%, за формулою  $AA = t_d / t_k \times 100\%$ , де: AA – антигіпоксична активність (%);  $t_d$  – час життя дослідних тварин,  $t_k$  – час життя контрольних тварин.

Гостру асфіксію моделювали у наркотизованих пропофолом (60 мг/кг) внутрішньоочеревинно (в/о)

Таблиця 1

Вплив превентивного введення похідних 3,2'-спіро-піроло-2-оксіндолу та мексидолу на тривалість життя щурів в умовах нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією

Умови досліджу, препарати	Доза	Кількість тварин	Тривалість життя, хв	Антигіпоксична активність, %
Контроль (0,9% розчин NaCl)	2 мл/кг в/о	15	31,57±0,67	–
R-24	10 мг/кг в/ш	10	35,31±1,48	+11,8%
R-34	10 мг/кг в/ш	10	36,57±2,78	+15,4%
R-108	10 мг/кг в/ш	10	40,60±1,3*	+28,6%
R-87	10 мг/кг в/ш	10	36,00±2,48	+14,0%
R-86	10 мг/кг в/ш	10	42,20±1,26*	+33,7%
KT-4064	10 мг/кг в/ш	10	31,00±1,23	-2,8%
R-76	10 мг/кг в/ш	10	38,29±0,92	+21,3%
R-38	10 мг/кг в/ш	10	33,27±0,83	+5,4%
R-34	10 мг/кг в/ш	10	37,47±1,66	+18,7%
R-27	10 мг/кг в/ш	10	33,08±1,85	+4,8%
Мексидол	100 мг/кг в/о	10	56,89±0,59*	+80,2%

Примітка: тут і надалі \* – статистично значуща різниця з контролем ( $p < 0,05$ ); в/о – внутрішньоочеревинно, в/ш – внутрішньошлунково.

щурів шляхом повного перетискання трахеї при реєстрації електрокардіограми (ЕКГ). Антигіпоксичну дію оцінювали за тривалістю біоелектричної активності серця (БЕАС). Така модель дозволяє оцінити чутливість серця до гіпоксії. Припиненням БЕАС вважали ізоелектричну лінію на ЕКГ протягом 1 хв, момент закінчення БЕАС відповідав останньому комплексу QRS на ЕКГ. Розрахунок антигіпоксичної активності виконували за вищенаведеною формулою, вважаючи часом життя момент реєстрації останнього комплексу QRS.

Попередній скринінг досліджуваних речовин проводили на моделі ГНГГГ. Усі похідні вводили в однаковій дозі 10 мг/кг внутрішньошлунково (в/ш) за 1 год до моделювання патологічного стану. Дію речовин, які виявились найбільш активними за результатами попереднього тестування, вивчали на моделі БЕАС. Ефективність сполуки лідера оцінювали в дозах 5; 10 та 15 мг/кг в/ш. У якості референс-препарату було обрано мексидол (виробництва ЗАТ «Мирфарм», Росія), який чинить антигіпоксичну дію, що поєднується з антиоксидантною та мембранопротекторною активністю та з успіхом використовується у хворих з ГПМК та ІМ. Мексидол вводили внутріш-

ньоочеревинно (в/о) у дозі 100 мг/кг за аналогічною схемою [7, 8].

#### Результати та їх обговорення

Дані, отримані у ході попереднього скринінгу 10 оригінальних похідних 3,2'-спіро-піроло-2-оксіндолу, дозволили виявити сполуки, що проявляють достатньо високу антигіпоксичну активність на моделі ГНГГГ (табл. 1). Так, превентивне введення сполук під шифрами R-86 та R-108 в однаковій дозі 10 мг/кг в/ш, так само як і мексидолу (100 мг/кг в/о), вірогідно збільшувало тривалість життя щурів відносно контролю в середньому відповідно на 33,7; 28,6 та 80,2%. Решта речовин у дозі 10 мг/кг не чинила суттєвого впливу на збільшення тривалості життя тварин, що може вказувати на відсутність у них антигіпоксичної активності в умовах даного патологічного стану.

Оскільки гіпоксичний процес за своїм патогенезом є гетерогенним, для того, щоб стверджувати про наявність у тієї чи іншої сполуки антигіпоксичної активності, необхідно довести її хоча б на двох різних за механізмом розвитку моделях гіпоксії. Ця теза знайшла своє підтвердження при встановленні антигіпоксичної дії у двох сполук (R-86 та R-108), які виявились достатньо ефективними на попередній моделі.

Таблиця 2

Вплив введення сполук R-108, R-86 та мексидолу на тривалість біоелектричної активності серця щурів в умовах гострої асфіксії

Умови досліджу, препарати	Доза	Кількість тварин	Тривалість біоелектричної активності серця, хв	Антигіпоксична активність, %
Контроль (0,9% розчин NaCl)	2 мл/кг в/о	15	11,6±0,7	–
R-108	10 мг/кг в/ш	7	9,5±1,1	-18,4
R-86	10 мг/кг в/ш	7	13,0±1,5	+ 12,1
R-86	10 мг/кг в/ш	7	12,3±1,4	+ 5,8
R-86	10 мг/кг в/ш	7	11,3±1,0	-2,8
Мексидол	100 мг/кг в/о	7	17,5±0,5*	+50,9

Результати, отримані при дослідженні ефективності сполуки R-108 у скринінговій дозі 10 мг/кг в/ш, показали, що на моделі БЕАС її антигіпоксична активність була низькою – тривалість біоелектричної активності серця зменшилась відносно контролю на 18,4%. У той же час, на тлі превентивного введення сполуки R-86 виявилася слабка тенденція до проти-гіпоксичного захисту організму – тривалість БЕАС збільшилась відносно контролю на 5,8%. Цікаві дані встановлені при дослідженні різних доз сполуки R-86. Так, її антигіпоксична активність зростає в 2 рази при зменшенні дози до 5 мг/кг в/ш (тривалість БЕАС підвищилась відносно контролю на 12,1%). Поряд із цим підвищення дози до 15 мг/кг в/ш негативно віддзеркалилось на тривалості БЕАС (зменшення відносно контролю на 2,8%) (табл. 2).

Таким чином, результати проведених досліджень антигіпоксичної активності 10 нових похідних 3,2'-спіро-піроло-2-оксіндолу показали, що в найбільшій мірі ця дія притаманна сполуці з лабораторним шифром R-86. На користь такого твердження вказують дані стосовно її ефективності на двох різних моде-

лях гіпоксії. Отримані дані свідчать про перспективність подальшого вивчення ефективності цієї сполуки в умовах різних патологічних станів, які супроводжуються ішемічно-гіпоксичним ураженням клітин, зокрема при ГПМК та ІМ, оскільки в цих умовах навіть помірний протигіпоксичний ефект може бути одним із важливих компонентів цитопротекторної терапії.

#### ВИСНОВКИ

1. Досліджувані похідні 3,2'-спіро-піроло-2-оксіндолу є носіями антигіпоксичної активності. В найбільшій мірі ця властивість притаманна сполуці з лабораторним шифром R-86.

2. На моделях гострої нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією та гострої асфіксії превентивне введення R-86 у дозах 10 та 5 мг/кг в/ш сприяло збільшенню стійкості тварин у заданих умовах (антигіпоксична активність) відносно контролю на 33,7% ( $p < 0,05$ ) та 12,1%.

3. Похідне 3,2'-спіро-піроло-2-оксіндолу сполука R-86 є перспективною для подальшого вивчення її ефективності при гострій церебральній та кардіальній ішемії.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Молекулярная фармакология антигипоксантов. – С.Пб.: ООО «Изд-во Н-Л», 2004. – 361 с.
2. Лутошкина Е.Б., Сапина Е.А., Шоломов И.И. // *Неврол. вестник*. – 2009. – Т. XLI, вып. 1. – С. 16-19.
3. Островая Т.В. Черный В.И. // *Медицина неотложных состояний*. – 2007. – №2 (9). – С. 48-52.
4. Пат. №49 789 Україна, МПК А 61 К 31/33, 31/403, 31/4353, 31/38 Застосування 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-С]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндолу] як цереб्रोпротекторного засобу / Н.А.Цубанова, С.Ю.Штриголь, Р.Г.Редькін. – Заявл.: 25.11.09. Опубл.: 11.05.10. – *Бюл. №9*.
5. Репетева Е.В., Березняков В.І., Тищенко І.Ю. та ін. // *Запорожский мед. журн.* – 2007. – Т. 43, №4. – С. 133-135.
6. Соловьева Э.Ю., Миронова О.П., Баранова О.А. // *Неврол. вестник*. – 2009. – Т. XLI, вып. 2. – С. 59-65.
7. Степанюк Г.І., Ходаківський О.А. // *Вісник Вінницького національного медичного університету*. – 2008. – №12 (1). – С. 252-253.
8. Степанюк Г.І., Драчук О.П., Олійник С.А. та ін. // *Спортивна медицина*. – 2010. – №1-2. – С. 76-78.
9. Carney J.M., Tatsuko T. // *J. Neurosci.* – 2009. – Vol. 81, №4. – P. 532-544.
10. Clarke M., Bennett M., Littlewood T. // *Heart*. – 2007. – Vol. 93. – P. 659-664.
11. Galliford Chris V., Scheidt Karl A. // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2008. – Vol. 46. – P. 8748-8758.
12. Grinberg L.T., Thal D.R. // *Acta Neuropathol.* – 2010. – Vol. 119. – P. 277-290.
13. Gueraud F., Atalay M., Bresgen N. et al. // *Free Radic. Res.* – 2010. – Vol. 44. – P. 1098-1124.
14. Pandya R.S., Mao L., Zhou H. // *Cent. Nerv. Syst. Agents. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 1(27). – P. 56-59.
15. Weis S.N., Schunck R.V., Pettenuzzo L.F. et al. // *Int. J. Dev. Neurosci.* – 2011. – Vol. 29. – P. 115-120.

УДК 547.756:615.31

СКРИНІНГ АНТИГІПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В РЯДУ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 3,2'-СПИРО-ПИРОЛО-2-ОКСИНДОЛА

О.В.Багаури, Р.Г.Редькин, А.А.Ходаковский

Проведенные скрининговые исследования по выявлению антигипоксической активности среди 10 оригинальных производных 3,2'-спиро-піроло-2-оксіндола на моделях острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией и острой асфиксии позволили выделить среди 10 оригинальных производных указанного ряда соединение с лабораторным шифром R-86, которое проявляло антигипоксические свойства в условиях данного патологического состояния. Его превентивное внутрижелудочное введение в дозах 10 мг/кг (на модели гипоксии с гиперкапнией) и 5 мг/кг (в условиях острой асфиксии) способствовало увеличению продолжительности жизни животных и биоэлектрической активности сердца крыс в заданных условиях относительно контроля соответственно на 33,7% ( $p < 0,05$ ) и 12,1%. Учитывая особенности развития ишемического каскада таких патологических состояний, как инсульт и инфаркт миокарда, где гипоксия занимает ключевое место, соединение R-86 является перспективным для дальнейшего изучения его эффективности при острой церебральной и кардиальной ишемии.

UDC 547.756:615.31

SCREENING OF THE ANTIHYPOXIC ACTIVITY FROM THE SERIES OF NEW DERIVATIVES OF 3,2'-SPIRO-PYRROLO-2-OXSYNDOLE

O.V.Bagauri, R.G.Redkin, O.A.Khodakovskiy

Carried out The screening research in revealing of the antihypoxic activity among 10 original derivatives of 3,2'-spiro-pirrole-2-oxindole on the models of acute normobarometric hypoxic hypoxia with hypercapnia and acute asphyxia allowed to distinguish among 10 original derivatives of the series indicated a compound with the laboratory code R-86, which revealed the antihypoxic properties under the conditions of the given pathological state. The preventive intragastric introduction of this compound in the dose of 10 mg/kg (on the model of hypoxia with hypercapnia) and 5 mg/kg (under the condition of acute asphyxia) promoted to increase of the lifetime of the animals and the bioelectric activity of the heart of rats in 33.7% ( $p < 0.05$ ) and 12.1%, respectively, under the conditions set compared to the control. Taking into account the peculiarities of development of the ischemic cascade of such pathological states as insult and myocardial infarction where hypoxia takes the main position, compound R-86 is promising for further investigation of its efficiency in acute cerebral and cardiac ischemia.