

Степаненко С.В., Штейнгарт М.В., Чуешов В.И., Трунова Т.В. Рентгеноструктурний аналіз діючих речовин та таблеток «Амкесол».

Проведено рентгеноструктурний аналіз зразків суміші діючих речовин (амброксолу гідрохлориду, кетотифену фумарату, теоброміну та екстракту коренів солодки сухого) та порошку розтертих таблеток. Встановлено незмінність структури активних інгредієнтів після механічного та термічного впливу в ході процесу таблетування.

**Ключові слова:** рентгеноструктурний аналіз, таблетки, амброксол, кетотифен, теобромін, екстракт солодки.

## Резюме

Степаненко С.В., Штейнгарт М.В., Чуешов В.И., Трунова Т.В. Рентгеноструктурний аналіз діючих речовин та таблеток «Амкесол».

Проведен рентгеноструктурний аналіз образцов смеси действующих веществ (амброксола гидрохлорида, кетотифена фумарата, теобромина и экстракта корней солодки сухого) и порошка растертых таблеток. Установлена неизменность структуры активных ингредиентов после механического и термического воздействия в ходе процесса таблетирования.

**Ключевые слова:** рентгеноструктурный анализ, таблетки, амброксол, кетотифен, теобромин, экстракт солодки.

## Summary

Stepanenko S.V., Shteingarth M.W., Chuyeshov V.I., Troonova T.V. X-ray structure analysis of active substances and tablets "Amkesol".

The x-ray structure analysis of samples of active ingredients mixture (ambroxol hydrochloride, ketotifene fumarate, theobromine and licorice root dry extract) and powdered tablets has been carried out. The constant structure of active ingredients after mechanical and thermal influence during the tableting process has been confirmed.

**Key words:** x-ray structure analysis, tablets, ambroxol, ketotifene, theobromine, licorice root dry extract.

*Рецензент: д.фарм.н., проф. П.Д. Пашиєв*

### АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 7-β-ГИДРОКСИ-γ-(n-ХЛОРО-ФЕНОКСИ)ПРОПИЛ-8-ТИОЗАМЕЩЕННЫХ 3-МЕТИЛКСАНТИНА

А.В. Таран, Л.В. Григорьева, Б.А. Самура, Н.И. Романенко, О.Ю. Черчесова

Национальный фармацевтический университет (Харьков)  
Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина  
Запорожский государственный медицинский университет

## Вступление

В настоящее время актуальной проблемой экспериментальной фармакологии является поиск новых веществ, повышающих устойчивость организма к кислородной недостаточности, неблагоприятным факторам внешней среды, ведущим к гипоксии [3,4]. Коррекция гипоксических состояний определяет основные направления рационального лечения больных, у которых органная гипоксия определяет развитие эндогенной интоксикации. Гипоксию характеризуют как несоответствие энергопотребности клетки энергопродукции в системе митохондриального окислительного фосфорилирования [7,8].

Нарушения продукции энергии в гипоксической клетке зависят от расстройства внешнего дыхания, кровообращения в легких, кислородтранспортной функции крови, нарушения системного, регионарного кровообращения и микроциркуляции в тканях. В большинстве патологических состояний причиной гипоксии является снижение поступления кислорода в митохондрии. В результате развивается угнетение митохондриального окисления, которое приводит к нарушению фосфорилирования и вызывает прогрессирующий дефицит АТФ - источника энергии в клетке [2,6,17].

При гипоксии первично развивается угнетение энергетического обмена, которое проявляется уменьшением содержания креатинфосфата и АТФ при одновременном увеличении содержания аденозиндиди- и аденозинмонофосфорных кислот, а также неорганического фосфата. Это приводит к нарушениям мембранного транспорта, процессов биосинтеза и других функций клетки, а также к внутриклеточному ацидозу, увеличению внутриклеточной концентрации свободного кальция и активации перекисного окисления липидов. Данную проблему можно

решить, если применять антигипоксанты, которые улучшают утилизацию организмом кислорода и снижают потребность в нем, повышая устойчивость к гипоксии органов и тканей [9,11]. Гипоксия приводит к модификации функций биологических мембран, затрагивающей липидный бислой и мембранные ферменты, что ведет к нарушению барьерной, рецепторной, каталитической функции мембран. Распад фосфолипидов и ингибирование их синтеза приводит к повышению концентрации ненасыщенных жирных кислот, усилению их перекисного окисления [16]. Активация свободнорадикальных процессов и перекисного окисления сопровождается многими заболеваниями: атеросклероз и его тромбгеморрагические осложнения (инфаркт, инсульт), сахарный диабет, хронические неспецифические поражения легких, снижение клеточного и гуморального иммунитета. Антиоксиданты являются обязательными компонентами комплексной терапии. Острая гипоксическая гипоксия обусловлена уменьшением количества кислорода во вдыхаемом воздухе при сохранении компенсаторных возможностей сердечно-сосудистой системы и эритроцитарного звена крови [13,14,15]. Наряду с терапевтическими эффектами антигипоксанты могут вызывать побочное действие: диспептические явления (тошноту, рвоту, боль в животе), головную боль, бессонницу, ощущение сердцебиения, аллергические реакции, и др. [6]. В связи с этим, дальнейший поиск антигипоксантов является актуальным. Наше внимание привлекли впервые синтезированные 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)пропил-8-тиозамещенных 3-метилксантина [12].

**Связь работы с научными программами, планами, темами:** исследование выполнено в рамках программы научно-исследовательских работ Национального фармацевтического университета и является фрагментом темы «Создание новых лекарственных препаратов» (№ госрегистрации 0198U007008).

**Целью** данного исследования было изучение антигипоксической активности впервые синтезированных производных 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)пропил-8-тиозамещенных-3-метилксантина в опытах на животных.

#### **Материалы и методы исследований**

Объектом исследования были взяты 18 впервые синтезированных веществ в ряду производных 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)-пропил-8-тиозамещенных 3-метилксантина. Структура синтезированных веществ подтверждена с помощью современных физико-химических методов: элементного анализа, УФ-, ИК-, ПМР- и масс-спектрофото-

метрических исследований. Чистота синтезированных веществ контролировалась методом тонкослойной хроматографии [12].

Исследование антигипоксической активности синтезированных веществ проведено на модели острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией в опытах на белых крысах линии Вистар. Для проведения исследований были отобраны самцы массой (в пределах от 175 грамма до 185 г). Опытным крысам вводили внутривентриально исследуемые вещества в дозе 0,05 ЛД<sub>50</sub> в виде 3-5% тонкодисперсной водной суспензии, стабилизированной твином-80. Через 30 минут крыс помещали в изолированные герметические камеры объемом 1000 мл и измеряли время до наступления агонального состояния животных. В качестве препарата сравнения был выбран антигипоксант мексидол (производство Киевского витаминного завода). Мексидол вводили перорально однократно в дозе 10 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 [10]. При проведении экспериментальных исследований животные находились в стандартных условиях согласно нормам и принципам Директивы Совета ЕС по вопросам защиты позвоночных животных, которых используют для экспериментальных и других научных целей [1]. Полученные результаты анализировали общепринятыми методами вариационной статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента, программного обеспечения "Windows-2000" и электронных таблиц Excel [5].

#### **Полученные результаты и их обсуждение**

Полученные результаты изучения антигипоксической активности производных 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)пропил-8-тиозамещенных 3-метилксантина приведены у табл. 1. Установлено, что в ряду производных 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)-пропил-8-тиозамещенных-3-метилксантина исследуемые вещества 6-9, 12-17 проявляли выраженные антигипоксические свойства, которые увеличивают среднюю продолжительность жизни подопытных животных находящихся в герметической камере, в условиях острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией в пределах от 27,9% до 86,9%.

Наибольшую антигипоксическую активность проявило соединение 6 - 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)пропил-8-бутилтио-3-метилксантина, которое в дозе 18 мг/кг увеличило продолжительность жизни крыс в условиях острой нормобарической гипоксии на 86,9% (*p*<0,01). Замена в 8-ом положении молекулы 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)пропил-8-тиобутил-3-метилксантина бутилтиольного (соед. 6) за-

местителя на *i*-алиттиольный (спол. 8),  $\beta$ -гидроксипропил-тиольный (спол. 14),  $\beta$ -гидроксиэтилтиольный (спол. 13), алиттиольный, *n*-нитрофенацилметилтиольный (спол. 17), 3-хлоробутен-2-іл-1-тиольный (спол. 16), амиттиольный (спол. 7) и гексилтиольный (спол. 9) радикалы приводит к уменьшению продолжительности жизни крыс, на модели острой гипоксии с гиперкапнией. Антигипоксическая активность производных 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)пропил-8-тиозамещенных-3-метилксантина уменьшилась с 86,9% до 27,9% при пребывании животных в закрытом пространстве герметической камеры.

Таблица 1

**Антигипоксическая активность производных  
7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)пропил-8-тиозамещенных  
3-метилксантина**

Соединение №	Шифр	Доза, мг/кг	Продолжительность пребывания крыс в закрытой камере		
			(M $\pm$ m), минут	% к контролю	Активность в %
1	$\gamma$ -1668	20,5	22,8 $\pm$ 0,11	102,7	2,7
2	$\gamma$ -1808	21,3	20,6 $\pm$ 0,16	92,8	-
3	$\gamma$ -1711	24,3	16,3 $\pm$ 0,23*	73,4	-
4	$\gamma$ -1713	20,3	17,5 $\pm$ 0,12*	78,8	-
5	$\gamma$ -1715	25,5	18,1 $\pm$ 0,17	81,5	-
6	$\gamma$ -1736	18,0	41,5 $\pm$ 0,31**	186,9	86,9
7	$\gamma$ -1739	17,5	29,9 $\pm$ 0,24*	134,7	34,7
8	$\gamma$ -1740	13,4	39,8 $\pm$ 0,17**	179,3	79,3
9	$\gamma$ -1741	24,5	28,4 $\pm$ 0,21*	127,9	27,9
10	$\gamma$ -1744	19,0	22,5 $\pm$ 0,19	101,3	1,3
11	$\gamma$ -1809	19,8	21,9 $\pm$ 0,14	98,6	-
12	$\gamma$ -1812	33,5	19,8 $\pm$ 0,21	89,2	-
13	$\gamma$ -1814	34,3	38,1 $\pm$ 0,27*	171,6	71,6
14	$\gamma$ -1815	20,4	39,6 $\pm$ 0,29	178,4	78,4
15	$\gamma$ -1816	14,8	37,5 $\pm$ 0,31*	169,0	69,0
16	$\gamma$ -1817	16,0	33,6 $\pm$ 0,24*	151,4	51,4
17	$\gamma$ -1823	38,5	35,4 $\pm$ 0,32*	159,5	59,5
18	$\gamma$ -1826	46,5	28,7 $\pm$ 0,17*	129,3	29,3
Мексидол		10,0	37,5 $\pm$ 0,24*	168,9	68,9
Контроль		-	22,2 $\pm$ 0,14	100	-

**Примечание:** «\*», «\*\*»- достоверность результатов при  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ , соответственно.

Соединения № 2-5 и № 12 ухудшали течение острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией, уменьшая продолжительность жизни подопытных животных в среднем на 7,2%– 26,6%. Соединения № 1, № 10 и № 11 не оказывали влияния на продолжительность жизни животных в герметической камере в условиях острой гипоксии с гиперкапнией.

Полученные результаты согласуются с данными литературы [14], которые показывают, что наличие тиольного фрагмента в молекуле 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)пропил-8-тиозамещенных-3-метилксантина обуславливает их антигипоксические свойства. Увеличение продолжительности жизни опытных крыс в условиях острой нормобарической гипоксии, по-видимому, является результатом улучшения метаболических процессов и повышением уровня АТФ в дыхательной цепи митохондрий под действием производных 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)пропил-8-тиозамещенных-3-метилксантина [7].

На основании полученных результатов можно предположить, что соединение 6 способно регулировать энергетические потоки в дыхательной цепи митохондрий и достигать значительного уменьшения расходов АТФ при одновременном увеличении скорости окисления, что способствует улучшению функции клеток и увеличению продолжительности жизни животных [9]. Соединение 6 превышает антигипоксическую активность эталонного препарата мексидола на 18,9%.

Полученные данные изучения антигипоксической активности производных 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)пропил-8-тиозамещенных-3-метилксантина являются основанием для дальнейшего исследования механизмов антигипоксической активности с целью создания нового препарата с антигипоксической активностью.

Таким образом, среди исследованных производных 3-метилксантина наиболее выраженную антигипоксическую активность проявило соединение 6, которое увеличивало среднюю продолжительность жизни подопытных животных на 86,9% ( $p < 0,01$ ).

#### Выводы

1. Однократное введение синтезированного соединения 6 – 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)пропил-8-бутилтио-3-метилксантина увеличивает антигипоксическую устойчивость подопытных животных на 86,9% на модели острой гипоксической гипоксии, превосходя эффект мексидола на 18%.

2. Производные 7- $\beta$ -гидрокси- $\gamma$ -(*n*-хлорофенокси)пропил-8-тиозамещенные 3-метилксантина являются перспективной группой органических соединений для последующего синтеза и фармакологического скрининга с целью создания на их основе эффективных антигипоксических препаратов.

#### Литература

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів / [За ред. О.В. Стефанова]. – Київ: Авіцена, 2001. – С. 433-443.

2. Компендиум-2007 – Лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П.Викторова. – Киев: Морион, 2007. – 2270 с.

3. Копцов С.В. Современные аспекты применения антигипоксантов в медицине критических состояний / С.В. Копцов, А.Е. Вахрушев, Ю.В. Павлов // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. – 2002. – № 2. – С. 54-56.

4. Костюченко А.Л. Современные реальности клинического применения антигипоксантов / А.Л. Костюченко, Н.Ю. Семиголовский // ФАРМиндекс: ПРАКТИК. – 2002. – Вып. 3. – С. 102-122.

5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морион, 2000. – 320 с.

6. Машиковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машиковский. – [15-е изд., перераб., испр. и доп.]. – М.: Новая волна, 2009. – 1206 с.

7. Новиков В.С. Коррекция функциональных состояний при экстремальных воздействиях / В.С. Новиков, Е.Б. Шустов, В.В. Горанчук. – СПб: Наука, 1998. – 542 с.

8. Новиков В.Е. Влияние аминотиоловых антигипоксантов на процессы гидратации и пероксидации при черепно-мозговой травме / В.Е. Новиков, Н.С. Понамарева // Экспер. и клин. фармакол. – 2007. – № 3. – С. 46-49.

9. Оковитый С.В. Антигипоксанты / С.В. Оковитый, А.В. Смирнов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – Т.64, № 3. – С. 76-80.

10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2000. – С. 153-159.

11. Сариев А.К. Взаимосвязь глюкоуроноконъюгации мексидола и особенностей его терапевтического действия у больных с органическим поражением ЦНС / А.К. Сариев, И.А. Давыдова, Г.Г. Незнамов [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – Т.64, № 3. – С. 17-21.

12. Синтез і вивчення діуретичної дії похідних 7-β-гідрокси-γ-(4'-хлорофенокси)пропіл-3-метил-8-тіоксантину / О.Ю. Черчесова, М.І. Романенко, Б.А. Самура, А.В. Таран // Актуальні питання фармацевтичної медичної науки та практики. – 2011. – Випуск XXIV. – С. 41-44.

13. Khayat R. Obstructive sleep apnea: the new cardiovascular disease. Part I: Obstructive sleep apnea and the pathogenesis of vascular disease / R. Khayat, B. Patt, D. Hayes // Heart Fail Rev. – 2009. – Vol. 14, № 3. – P. 143-153.

14. Pavlov O.O. Effect of antihypoxant actovegin on dynamics of markers of the oxygen cascade / O.O. Pavlov // Klin Khir. – 2008. – № 9. – P. 57-59.

15. Stanley W.C. Energy metabolism in the normal and failing heart: potential for therapeutic interventions? / W.C. Stanley, M.P. Chandler // Cardiovasc. Res. – 2002. – Vol. 7. – P. 115-130.

16. Ucar Z.Z. Nocturnal hypoxia and arterial lactate levels in sleep-related breathing disorders / Z.Z. Ucar, Z. Taymaz, A.E. Erbaycu [et al.] // South. Med. J. – 2009. – Vol. 102, № 7. – P. 693-700.

17. Wang X.H. Inhibition of hypoxia inducible factor by phenethyl isothiocyanate / X.H. Wang, B.E. Cavell, S.S. Syed Atwi, G. Packham // Biochem. Pharmacol. – 2009. – Vol. 78, № 3. – P. 261-272.

### Резюме

**Таран А.В., Григор'єва Л.В., Самура Б.А., Романенко М.І., Черчесова О.Ю.** Антигіпоксична активність 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-8-тіозаміцених 3-метилксантину.

Проведено дослідження залежності антигіпоксичної активності від хімічної структури 18 вперше синтезованих похідних 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-8-тіозаміцених 3-метилксантину. Встановлено, що сполука № 6 – 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-8-бутилтіо-3-метилксантину, в умовах гострої нормобаричної гіпоксії зменшує витрату АТФ на біологічне окислення в мітохондріях клітин, що приводить до збільшення тривалості життя щурів на 86,9%. Похідні 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-8-тіозаміцених 3-метилксантину є перспективною групою органічних речовин для подальшого проведення цілеспрямованого синтезу і фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі ефективних антигіпоксичних препаратів.

**Ключові слова:** похідні 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-8-тіозаміцених 3-метилксантину, антигіпоксична активність.

### Резюме

**Таран А.В., Григор'єва Л.В., Самура Б.А., Романенко Н.І., Черчесова О.Ю.** Антигіпоксична активність 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-8-тіозаміцених 3-метилксантину.

Проведено дослідження залежності антигіпоксичної активності від хімічної структури 18 вперше синтезованих похідних 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-8-тіозаміцених 3-метилксантину. Встановлено, що введення в 8-е положення молекули 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-8-тіозаміцених 3-метилксантину тиобутильного радикала приводить до проявлення найбільшого антигіпоксичного ефекта сполучення № 6 – 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-8-бутилтіо-3-метилксантину, яке в умовах гострої нормобаричної гіпоксії приводить до збільшення тривалості життя щурів на 86,9%. Похідні 7-β-гідрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-8-тіозаміцених 3-метилксантину є перспективною групою органічних речовин для подальшого проведення цілеспрямованого синтезу і фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі ефективних антигіпоксичних препаратів.

**Ключевые слова:** производные 7-β-гидрокси-γ-(n-хлорофенокси)пропіл-8-тіозаміцених 3-метилксантину, антигіпоксична активність.

### Summary

**Taran A.V., Grigor'eva L.V., Samura B.A., Romanenko M.I., Cherchesova O.Yu.** Antihypoxic activity of 7-β-hydroxy-γ-(n-chlorophenoxy)propyl-8-tiodeputized 3-methylxanthinum.

Research of dependence of antihypoxic activity is conducted from a chemical structure 18 the first synthesized derivatives 7-β-hydroxy-γ-(n-chlorophenoxy)propyl-8-tiodeputized 3-methylxanthinum. It is set that connection № 6 is 7-β-hydroxy-γ-(n-chlorophenoxy)propyl-8-tiodeputized 3-methylxanthinum, in the conditions of sharp normobaric hypoxia diminishes an expense ATP on a biooxidation in mitochondrium of cages, that brings to the increase of duration life over of rats on 86,9%. Derivates 7-β-hydroxy-γ-(n-chlorophenoxy)propyl-8-tiodeputized 3-methylxanthinum is the perspective group of organic matters for the subsequent leadthrough of purposeful synthesis and pharmacological screening with the purpose of creation on their basis of effective antihypoxic preparations.

**Key words:** derivatives 7-β-hydroxy-γ-(n-chlorophenoxy)propyl-8-tiodeputized 3-methylxanthinum, antihypoxic activity.

**Рецензент:** д.фарм.н., проф. І.П. Банний