

## Effect of derivatives of (3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]-triazino-[2,3-c]-quinazolin-6-il) carboxylic acids on the physical endurance under the conditions of hypoxia

\*E. V. Pochelova, G. I. Stepanyuk, O. P. Drachuk, N. G. Stepanyuk

Department of Pharmacology, N. I. Pirogov National Medical University of Vinnitsa, Ukraine

\*Corresponding author: farm\_vnmu@mail.ru. Manuscript received January 16, 2014; accepted February 15, 2014

### Abstract

**Background:** The limited arsenal of actoprotectors by almost one bemethyl has caused the necessity to search the substances with the above action, suitable for the creation of a new drug on their basis.

**Material and methods:** For the investigation the substances of 4 derivatives (3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]-triazino-[2,3-C]-quinazolin-6-il) of carboxylic acids with the laboratory ciphers DSK-38, DSK-39, AV-224 and AV-227 have been taken. The studies have been performed on 84 nonlinear male rats weighing 165-220 g using two models of hypoxic states – circulatory hypoxia and acute hemic hypoxia, which differ by their starting formation mechanisms. Circulatory hypoxia has been modeled by unilateral occlusion of the right common carotid artery. The animals have been divided into 7 groups, 6 animals in each group.

**Results:** It has been established that the course (15 days) intraperitoneal injections in rats with cerebral circulatory hypoxia model derivatives (3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]-triazino-[2,3-c]-quinazolin-6-il) of carboxylic acid DSK-38 (4.8 mg/kg), DSK-39 (5.5 mg/kg), AV-224 (5.6 mg/kg) and AV-227 (6.9 mg/kg) as well as bemethyl (34 mg/kg) cause an increase in dynamic (swimming test) and static (rotating rod) endurance of the animals. Similar changes in the physical endurance of rats have occurred in the prophylactic administration of the test substances in hemic hypoxia animals. According to the literature the compound DSK-38 also has cerebroprotective and analgesic activities.

**Conclusions:** The compound DSK-38 is the leader as it has the largest actoprotective effect virtually mapped to bemethyl. A complex of effects inherent of DSK-38 compound indicates the advisability of the in-depth study of its pharmacological properties to find out its safety and suitability for creating a new drug on its basis.

**Key words:** actoprotective agents, hypoxia of brain, bemethyl, carboxylic acids.

### Введение

Ограниченность арсенала актопротекторов практически одним бемитилом указывает на необходимость поиска веществ с аналогичным действием, пригодных для создания на их основе нового лекарственного препарата. В этом плане перспективными являются производные (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]-триазино-[2,3-с]-хиназолин-6-ил) карбоновых кислот (ТХКК), среди которых выявлены соединения, повышающие физическую выносливость организма [4].

В предыдущем исследовании нами установлено, что новым производным ТХКК с лабораторными шифрами DSK-38, DSK-39, AV-224 и AV-227 присущ актопротекторный эффект, что проявлялось, на фоне их действия, повышением физической выносливости животных в условиях гипер- (39-40°C) и гипотермии (10-12°C). На это указывало статистически значимое увеличение продолжительности плавания животных в заданных условиях эксперимента [4]. Поскольку при больших физических нагрузках в организме развивается гипоксический синдром [6], представлялось целесообразным оценить эффективность изучаемых ТХКК в условиях гипоксии.

Цель исследования: охарактеризовать влияние производных ТХКК на физическую выносливость организма в условиях экспериментальных гипоксий и определить соединение-лидер.

### Материал и методы

Для исследования взяты субстанции 4 производных ТХКК с лабораторными шифрами DSK-38, DSK-39, AV-224 и AV-227, синтезированных на кафедре биооргани-

ческой химии Запорожского государственного медицинского университета под руководством профессора С. И. Коваленка. Исследования проведены на 84 нелинейных крысах-самцах массой 165-220 г с использованием двух моделей гипоксических состояний – циркуляторной и острой гемической гипоксии, которые различаются по своим пусковым механизмам формирования. Циркуляторную гипоксию моделировали путем односторонней окклюзии правой общей сонной артерии. Животные были разделены на 7 групп по 6 особей в каждой: I – интактные крысы, II – животные с острым нарушением мозгового кровотока (ОНМК) без лечения (контрольная группа), III-VI – животные с ОНМК, которым в течении 15 дней в лечебном режиме внутрибрюшинно вводили изучаемые соединения в дозах, составляющих их  $ED_{50}$  по плавательному тесту [4], VII – животные с ОНМК, которым аналогично с предыдущими группами крыс вводили эталонный актопротектор бемитил в аналогичной дозе. Лигатуры под сонные артерии подводили в условиях пропофолового (60 мг/кг в/б) наркоза; окклюзию осуществляли после выхода животных из наркоза (в состоянии легкой седации). Актопротекторное действие исследуемых веществ в заданных условиях эксперимента оценивали по плавательному тесту – показателю продолжительности плавания животных в воде при температуре 24-26°C с дополнительным грузом (10% от массы тела). Регистрировали время (с) до появления полной усталости животных, о чем свидетельствовал отказ от плавания и погружение под воду. Статическую выносливость животных оценивали по показателю продолжительности (с) удерживания крыс на вращающемся (15 об/мин) стержне

[1]. Исследования проводили на 5 и 15 день эксперимента, через 5-6 часов после введения веществ в организм.

Острую гемическую гипоксию моделировали путем одноразового подкожного введения животным метгемоглобинообразователя – натрия нитрита в дозе 20 мг/кг [3]. Животные были разделены на группы по 6 особей в каждой: I – интактные крысы, II – животные с острой гемической гипоксией без коррекции (контрольная группа), III-VI – животные с гемической гипоксией, которым за 60 мин до тестирования (то есть за 30 минут до введения метгемоглобинообразователя) вводили отдельно и одноразово производные ТХКК и препарат сравнения бемитил в аналогичных с предыдущим исследованием количествах. Влияние изучаемых веществ на физическую выносливость животных, как и в предыдущем эксперименте, оценивали по динамике показателей продолжительности (в %) плавательного теста относительно контрольных животных. Статистическую обработку полученных данных проводили методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента [2]. Изменения показателей считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ . Полученные результаты представлены в таблицах 1-3.

### Результаты исследования

Проведенное исследование показало, что на фоне ишемично-гипоксического поражения головного мозга, вызванного односторонней окклюзией общей сонной артерии у крыс, имеет место значительное снижение физической выносливости животных, что было заметно уже на 5 день после моделирования ОНМК. В отмеченный период эксперимента продолжительность плавания нелеченных животных снизилась в среднем на 26,6% относительно интактных крыс (табл. 1). К концу эксперимента имела место тенденция к некоторому восстановлению физической активности контрольных животных:

продолжительность плавательного теста уменьшилась относительно интактных крыс всего на 18,8% ( $p > 0,05$ ).

Курсовое введение животным с ОНМК изучаемых производных ТХКК, также как и бемитила, способствовало увеличению продолжительности плавания крыс, что отчетливо проявилось уже на 5 день эксперимента. При этом наибольшая эффективность отмечена у соединения DKS-38, под влиянием которого физическая выносливость животных с циркуляторной гипоксией головного мозга возросла, как и на фоне бемитила, соответственно на 87,6% и 46% относительно нелеченных крыс.

При этом соединение DSK-38 по величине показателя прироста динамической выносливости организма в условиях гипоксии (ишемии) мозга практически сопоставлялось с эталонным актопротектором ( $p > 0,05$ ). Отмеченная динамика физической выносливости животных на фоне изучаемых производных ТХКК, в первую очередь DSK-38, сохранялась и на 15 день эксперимента.

Активирующее действие производных ТХКК, также как и бемитила, на физическую выносливость крыс с циркуляторной гипоксией головного мозга нашло подтверждение при оценке их влияния на статическую выносливость животных, что отчетливо проявилось уже на 5 день эксперимента (табл. 2). Среди производных ТХКК наибольшая эффективность отмечена, как и в предыдущем исследовании, у соединения DSK-38, под влиянием которого время удержания животных с ОНМК на вращающемся стержне увеличилось в среднем на 49,9% относительно контрольных животных. На фоне действия бемитила этот показатель возрос на 56%, то есть, по способности повышать статическую выносливость животных с ОНМК DSK-38 практически сопоставимо с эталонным актопротектором.

В дальнейшем отмеченное влияние производных ТХКК, также как и бемитила, на статическую выносливость крыс в условиях циркуляторной гипоксии мозга

Таблица 1

Влияние изучаемых веществ на продолжительность плавания крыс с острым нарушением мозгового кровотока ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ )

Условия эксперимента	Доза, мг/кг	Продолжительность плавания, с			
		5 день	Динамика, %	15 день	Динамика, %
Интактные крысы		552,0 ± 25,2		450,8 ± 19,2	
ОНМК без лечения (контроль)		379,8 ± 31,8*	-27,6u	366,0 ± 28,1*	-18,8u
ОНМК+бемитил	34,0	555,0 ± 52,8#	+46,0k	660,0 ± 84,6#	+80,3k
ОНМК+DSK-38	4,8	712,8 ± 60,6*#	+87,6k	706,8 ± 69,0*#	+64,6k
ОНМК+DSK-39	5,5	567,6 ± 38,4#	+49,4k	602,3 ± 37,2*#	+93,1k
ОНМК+AV-224	5,6	529,2 ± 63,6	+39,3k	552,0 ± 53,4#	+50,8k
ОНМК+AV-227	6,9	514,8 ± 52,8#	+35,5k	621,6 ± 27,0*#	+69,8

Примечание: 1) \* –  $p \leq 0,05$  относительно интактных крыс; 2) # –  $p \leq 0,05$  относительно контрольных крыс; 3) u – динамика относительно интактных крыс; 4) k – динамика относительно контрольных крыс; 5) ОНМК – острое нарушение мозгового кровотока.

Таблица 2

Влияние изучаемых веществ на статическую выносливость крыс с острым нарушением мозгового кровотока, (M ± m, n = 6)

Условия эксперимента	Доза, мг/кг	5 день		15 день	
		Длительность удерживания на стержне, с	Динамика%	Длительность удерживания на стержне, с	Динамика, %
Интактные крысы		172,2 ± 7,8		164,4 ± 12,2	
ОНМК без лечения (контрольная группа)		89,5 ± 8,5*	-48,0	95,4 ± 10,4*	-42,0
ОНМК+ бемитил	34,0	139,6 ± 9,2*#	+56,0	160,3 ± 7,8#	+68,0
ОНМК+DSK-38	4,8	134,2 ± 7,8*#	+49,9	148,8 ± 6,0#	+56,0
ОНМК+DSK-39	5,5	125,3 ± 8,8*#	+40,0	141,2 ± 13,4#	+48,0
ОНМК+AV-224	5,6	122,5 ± 8,5*#	+36,9	137,3 ± 8,8#	+43,9
ОНМК+AV-227	6,9	124,5 ± 9,4*#	+39,1	129,7 ± 10,9#	+35,9

Примечание: \* – p ≤ 0,05 относительно интактных животных; # – p ≤ 0,05 относительно контрольных животных.

сохранялось и на 15 день эксперимента. При этом статическая выносливость животных на фоне действия изучаемых соединений, в первую очередь DSK-38, также как и препарата сравнения, практически достигла уровня интактных крыс (табл. 2).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о способности изучаемых производных ТХКК повышать как динамическую, так и статическую выносливость организма в условиях гипоксии циркуляторного генеза подобно бемитилу. При этом соединением-лидером является DSK-38.

На модели гемической гипоксии под влиянием производных ТХКК, также как и бемитила, имело место увеличение времени плавательного теста соответственно на 36–64% и 58% относительно контрольной группы животных, у которых этот показатель снижался в среднем на 52% по сравнению с интактными животными (табл. 3). Эти данные указывают на способность изучаемых производных ТХКК, также как и эталонного актопротектора, препятствовать снижению физической выносливости животных в условиях гемической гипоксии. При этом

наибольшая эффективность отмечена на фоне соединения DSK-38, которое практически в такой же степени, как и бемитил (соответственно на 64% и 58%) увеличивало продолжительность плавания крыс, подверженных воздействию гипоксии гемического генеза. Эти данные можно расценивать как наличие у изучаемых производных ТХКК и бемитила противоhipоксической активности.

Обсуждение

Оценивая результаты проведенных экспериментов, можно отметить, что новым производным (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-триазоно-[2,3-с]-хиназолин-6-ил) карбоновых кислот с лабораторными шифрами DSK-38, DSK-39, AV-224 и AV-227, также как и бемитилу, присуще актопротекторное действие на моделях циркуляторного и гемического кислородного голодания организма, что отчетливо проявилось повышением как динамической, так и статической выносливости животных в заданных условиях эксперимента. Среди изучаемых производных ТХКК лидером можно считать соединение DSK-38, которое в дозе 4,8 мг/кг по величине актопротекторного

Таблица 3

Влияние производных ТХКК и бемитила на длительность плавательного теста у крыс в условиях гемической гипоксии (M ± m, n = 6)

Условия эксперимента	Доза, мг/кг	Длительность плавания, с	Динамика, %
Интактные крысы		364,6 ± 24,4	
Гипоксия без коррекции (контроль)		175,0 ± 14,1*	52,0u
DSK- 38+гипоксия	4,8	287,0 ± 21,9*#	+64,0k
DSK- 39+гипоксия	5,5	264,2 ± 24,0*#	+51,0k
AV- 224+гипоксия	5,6	245 ± 23,7*#	+40,0k
AV- 227+гипоксия	6,9	238,0 ± 27,9#8	+36,0k
Бемитил	34,0	276,5 ± 25,4*#	+58,0k

Примечание: 1) \* – p ≤ 0,05 относительно интактных крыс; 2) # – p ≤ 0,05 относительно контрольных крыс; 3) u – динамика относительно интактных крыс; 4) k – динамика относительно контрольных крыс.

эффекта в условиях циркуляторной и гемической гипоксий сопоставимо с эффективностью бемитила (34 мг/кг), а в некоторых случаях превосходит его эффективность.

Механизм защитного действия изучаемых производных ТХКК на организм в условиях разных видов гипоксий можно связать, прежде всего, со способностью соединений этого класса стимулировать кровоснабжение головного мозга [7], который в первую очередь страдает от гипоксии при больших физических нагрузках [6]. Вторым, не менее важным механизмом актопротекторного и противогипоксического эффектов изучаемых производных ТХКК, в частности соединения DSK-38, может быть его активирующее влияние на энергетический обмен, процессы аэробного окисления глюкозы, а также способность снижать лактатацидоз в ишемизированном головном мозге [5]. Поскольку в основе патогенеза физического утомления лежит гипоксия [6], на основании результатов проведенного исследования можно предположить, что одним из механизмов актопротекторного действия производных ТХКК является наличие у них противогипоксического эффекта.

#### Выводы

1. Новым производным (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]-триазино-[2,3-*c*]-хиназолин-6-ил) карбоновых кислот с лабораторными шифрами DSK-38, DSK-39, AV-224 и AV-227, также как и бемитилу, присуща актопротекторная и противогипоксическая активность на моделях циркуляторной и гемической гипоксий. Это действие наиболее выражено у DSK-38.

2. Курсовое (15 дней) внутрибрюшинное введение производных ТХКК – DSK-38 (4,8 мг/кг), DSK-39 (5,5 мг/кг), AV-224 (5,6 мг/кг) и AV-227 (6,9 мг/кг) – также как и бемитила (34 мг/кг) в организм крыс с моделью циркуляторной гипоксии способствует восстановлению физической выносливости животных, о чем свидетельствует статистически значимое увеличение динамической (плавательный тест) и статической (время удерживания

на вращающемся стержне) выносливости на 5 и 15 день эксперимента.

3. Одноразовое, профилактическое, внутрибрюшинное введение крысам DSK-38 (4,8 мг/кг), DSK-39 (5,5 мг/кг), AV-224 (5,6 мг/кг) или AV-227 (6,9 мг/кг) в такой же мере, как и бемитила (34 мг/кг) в условиях гемической гипоксии способствует статистически значимому увеличению физической выносливости животных.

#### References

1. Gatsura VV. Metody pervichnogo farmakologicheskogo issledovaniya biologicheski aktivnyh veshstv [Methods of primary pharmacological research of biologically active substances]. M.: Meditsina, 1974;142.
2. Lapach SN, Chiubenko, AV, Babichi PN. Statistika v nauke i biznese: prakticheskoe rukovodstvo [Statistics in science and business: a practical guide]. K.: Morion, 2002;640.
3. Lukianchiuk VD, Savchenkova LV, Nemyatykh OD, et al. Poshuk i eksperimentalne vivchenia potentsiynikh protigipoksichnykh zasobiv [Search and experimental study of the potential antihypoxic methods]. K.: ДФЦ МОЗУ, 2002;27.
4. Pochelova OV, Stepaniuk GI, Denisyuk OM, et al. Kharakteristika aktoprotektoynoy dii pokhidnykh (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]-триазино-[2,3-*c*]-хиназолин-6-ил) карбоновых кислот за rznikh temperaturnikh rezhimiv [Characterization of act protecting actions of (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]-триазино-[2,3-*c*]-хиназолин-6-ил) carboxylic acid derivatives at various temperature modes]. *Farmakologiya ta likarska toksikologiya [Pharmacology and medical toxicology]*. 2013;3(34):54-57.
5. Semenenko NO, Stepaniuk GI, Marchuk OV, et al. Vpliv natrievoy soli H-(2-оксо-3-метил-2-*H*-[1,2,4] триазино-[2,3-*c*]-хиназолину-6-ил) бутановой кислоты (сполуки DSK-38) na vuglevodno-energetichnii obmin u mozku shuriv za umovi gostrogo porusheniya mozkovogo krovoobigu [The influence of sodium salt H-(2-оксо-3-метил-2-*H*-[1,2,4] triazino-[2,3-*c*]-khinazolinu-6-ил) of butane acid (DSK-38 compounds) on the carbohydrate-energy metabolism in the brains of rats under condition of the acute violation of cerebral circulation]. *Farmakologiya ta likarska toksikologiya [Pharmacology and medical toxicology]*. 2013;3(34):28-34.
6. Farmakologiya sporta. Pod red. SA Oleynika, LM Guninoy. RD Seyfulla. [Pharmacology of sports. Edited by SA Oleynik, LM Gunina. RD Seyfull]. K.: Olimpiyskaya literatura [Olympic literature], 2010;638.
7. Khodakivskiy OA. Neyroprotektorna diya pokhidnykh H-оксо (амино)-хиназолину pri eksperimentalnyy ishemii golovnogo mozku [Neuroprotective effect of derivatives of N-oxo (amino)-khinazolin in experimental ischemia of brain]. Avtoref. dis. na soiskanie nauch. stepeni k. med. nauk: Spets. Farmakologiya [Abstract of dissertation for the scientific degree of a candidate of medical sciences. Specialty – pharmacology]. K., 2009;21.

