



УКРАЇНА

(19) UA (11) 20388 (13) C2

(51) 6 C07D413/12, 249/12, A61K31/41

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) МОРФОЛІНІЙ 3-(4-ПІРИДИЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛІЛ-5-ТІОАЦЕТАТ, ЩО ВИЯВЛЯЄ АНТИГІПОКСИЧНУ, ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНУ ТА КАРДІОПРОТЕКТОРНУ АКТИВНІСТЬ

1

(21) 97052457

(22) 28.05.1997

(24) 15.04.2002

(46) 15.04.2002, Бюл. № 4, 2002 р

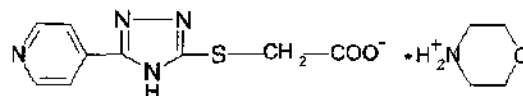
(72) Візір Анатолій Дмитрович, Візір Вадим Анатолійович, Дроговоз Світлана Мефодіївна, Зайченко Ганна Володимирівна, Лозюк Любов Василівна, Головкін Вячеслав Олександрович, Філімонов Володимир Іванович, Кечін Ігор Леонідович, Книш Євгеній Григорович, Панасенко Олександр Іванович, Мартиновський Олексій Олексійович, Краснов Євгеній Іванович

(73) Книш Євгеній Григорович, Панасенко Олександр Іванович

2

(56) UA, 1988, C1, 1986. SU, 1410482, A1, 1986 RU, 94045832, A1, 1994 RU, 2083206, C1, 1994.

(57) Морфоліний 3-(4-піридил)-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат формули



проявляющий антигипоксическую, церебропротекторную и кардиопротекторную активность.

Изобретение относится к медицине, а именно к фармакологии, в частности к новым биологически активным химическим соединениям, на основе которых могут быть созданы лекарственные препараты антигипоксического, церебропротекторного и кардиопротекторного действия.

Наиболее близким структурным аналогом заявляемого соединения является морфоліний 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат, проявляющий гепатозащитную, ранозаживляющую и противовирусную активность (см. п. Украины № 1988, приоритет от 22.12.86, опубл. 20.12.94, М.Кл.4 C07D 413/12, A61K 31/41, A61K 31/535).

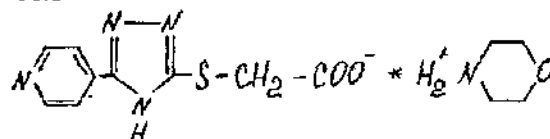
Торговое название морфоліния 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетата-тиотриазолін.

Известное соединение обладает слабо выраженными антигипоксической, церебропротекторной и кардиопротекторной активностями.

В основу изобретения поставлена задача создания нового биологически активного химического соединения, химическая структура которого обеспечивает антиоксидантные свойства и за счет этого заявляемое соединение проявляет антигипоксическую, церебропротекторную и кардиопротекторную активность при низкой токсичности.

Поставленная задача решается тем, что получен морфоліний 3-(4-піридил)-1,2,4-триазоліл-5-

тіоацетат, проявляющий антигипоксическую, церебропротекторную и кардиопротекторную активность.



Заявляемое соединение обладает антиоксидантными свойствами, т.е. препятствует окислению и образованию свободных радикалов в организме, которые возникают при гипоксии, нарушениях мозгового кровообращения и инфаркте миокарда. Заявляемое соединение обладает мембраностабилизирующим действием, что препятствует разрушению клеточных и субклеточных структур.

Предотвращение образования свободных радикалов в организме и мембраностабилизирующее действие заявляемого соединения и обуславливают его антигипоксическую, церебропротекторную и кардиопротекторную активность.

Заявляемое соединение получают следующим образом.

Смешивают 0,02 моля 1-изоникотиноил-изотиосемикарбазид- S -уксусной кислоты с

(13) C2

(11) 20388

(19) UA

0,02 моли морфолина в 20 мл этанола и кипятят в течение 6 час. Растворитель упаривают, получая заявляемое соединение.

Выход: 97%. Желтоватое кристаллическое вещество, легко растворимо в воде, трудно растворимо в спиртах, нерастворимо в эфире и гексане.

$T_{пл} - 203 - 205^{\circ}C$

Найдено, %: S 9,7

Вычислено, %: S 9,9

ИК-спектр, cm^{-1} : волновое число у COO - 1600 (асс.), 1360 (сим.)

Врутто-формула: $C_{13}H_{17}N_5O_3S$

Заявляемое соединение обладает антигипоксической, церебропротекторной и кардиопротекторной активностью

ЛД₅₀ заявляемого соединения при внутрибрюшинном введении белым мышам составляет 5000 мг/кг, при внутрибрюшинном введении белым крысам - 3500 мг/кг, при внутривенном введении кошкам - 850 мг/кг.

Исследование биологической активности заявляемого соединения показало, что в экспериментах на животных данное соединение проявляет антигипоксическую, церебропротекторную и кардиопротекторную активность.

Изучение антигипоксического действия заявляемого соединения проводили на белых мышам-самцах массой 15 - 20 г. Антигипоксическое действие изучали по времени выживания животных в условиях гипобарической и токсической гипоксемической гипоксии. Группам животных вводили заявляемое соединение, тиотриазолин (прототип), а также гутимин и пирацетам - известные антигипоксические препараты. Указанные соединения вводили с помощью желудочного зонда в желудок за 1 час до проведения эксперимента в средних терапевтических дозах, пересчитанных с учетом коэффициента церебрации.

В качестве базы сравнения была выбрана контрольная группа животных, которой не вводили антигипоксические препараты.

Результаты исследований антигипоксической активности заявляемого соединения приведены в таблице 1.

Анализ данных, приведенных в таблице 1, показал, что заявляемое соединение повышает устойчивость животных к гипобарической гипоксии более чем в 2,5 раза, тогда как тиотриазолин (прототип) в ~ 1,5 раза. Заявляемое соединение превосходит по антигипоксической активности и известные антиоксиданты - пирацетам и гутимин

Таблица 1

№ Группы животных	Вводимое соединение	Доза, мг/кг	Гипобарические жизни		Цитотоксические жизни	
			минуты	%	минуты	%
1	2	3	4	5	6	7
1	Интактные	-	2,69 ± 0,18	100	26,7 ± 1,39	100
2	Заявляемое соединение	50	6,93 ± 0,31	258	50,4 ± 2,7	189
3	Тиотриазолин	50	3,84 ± 0,21	143	33,2 ± 1,7	124
4	Пирацетам	250	6,50 ± 0,51	242	45,3 ± 2,9	170
5	Гутимин	5	6,43 ± 0,41	239	35,4 ± 1,8	133

Церебропротекторную активность заявляемого соединения исследовали на экспериментальных моделях циркуляторной гипоксии у крыс. Для этого была выбрана модель перевязки внутренних сонных артерий, имитирующая ишемическое повреждение мозга и модель тромботического инсульта, заключающаяся во введении в общую сонную артерию 1,1 ед тромбина в объеме физиологического раствора 0,1 мл на 1 крысу массой 200 - 220 г с последующей ее перевязкой, что имитирует картину тяжелого тромботического инсульта, подтвержденную на биохимическом и гистохимическом уровне.

Опыты проводили на белых крысах линии Вистар обоего пола, массой 160 - 180 г, прошедших карантин и содержащихся на стандартном рационе.

Исследования включали изучение ребецефалограммы методом вживления электродов, определение напряжения кислорода (PO_2) методом игольчатой полярографии. Изучалась микроструктура тканей головного мозга, биохимические показатели углеводно-энергетического обмена в тканях головного мозга, печени, крови, продукты перекисного окисления липидов. Курсовое введение заявляемого соединения в течение 4-х суток после операции в желудок животного в дозе

50 мг/кг приводит к нормализации электрофизиологических показателей и структурных изменений. Увеличивался реографический индекс, форма РЭГ-кривой приближалась к норме у животных с перевязкой и улучшалась по изучаемым показателям у животных с тромботическим повреждением мозга. У всех опытных животных уменьшались различия РЭГ-кривых между полушариями опытных животных. Полная нормализация микроциркуляции наступила у животных с ишемическим повреждением и улучшилась у животных с тромботическим повреждением. Это способствовало улучшению кислородного режима тканей, что проявлялось достоверным повышением PO_2 в обеих группах. К улучшению микроциркуляции крови приводило заключительное уменьшение зоны периваскулярного и перичеллюлярного отека. Коэффициент ткани мозга/высушенная ткань уменьшился, что подтверждает уменьшение отека-набухания мозга.

При ШИК-реакции наблюдались единичные фрагменты разволокнения эндотелия капилляров.

Результаты изучения биохимических показателей углеводно-энергетического обмена в тканях головного мозга крыс при односторонней перевязке и тромботическом повреждении, а также при протективном введении заявляемого соединения

и препарата сравнения (тиотриазолина) представлены в таблице 2.

Из данных, приведенных в таблице 2, видно, что введение заявляемого соединения белым крысам в остром периоде очагового нарушения

мозгового кровообращения (ОНМК), вызванного односторонней перевязкой общей сонной артерии (графа 5 табл.2), приводит к увеличению в тканях головного мозга содержания глюкозы и гликогена,

Таблица 2

Группа животных	Интakтные	Перевязка	Тромбоз	Заявляемое соединение + перевязка	Заявляемое соединение + тромбоз	Тиотриазолин + перевязка	Тиотриазолин + тромбоз
Показатели							
1	2	3	4	5	6	7	8
Гликоген	2,5-33±0,025	0,670±0,078	0+441±0,612	2,040±0,080	1,80±0,043	1,080±0,054	1,62±0,078
	(100)	(26,5)	(17,4)	(80,5)	(73,3)	(70,5)	(66,1)
Глюкоза	3,600±0,029	2,38±0,13	2,07±0,03	2,98±0,122	2,64±0,093	2,54±0,18	2,380±0,125
	(100)	(66,1)	(57,5)	(82,7)	(73,3)	(70,5)	(66,1)
Лактат	2,705±0,374	5,70±0,493	6,84±0,571	3,20±0,31	4,87±0,241	5,73±0,317	6,72±0,254
	(100)	(210,7)	(252,9)	(118,3)	(180)	(211)	(248)
Пируват	0,17±0,018	0,072±0,008	0,054±0,012	0,107±0,01	0,089±0,09	0,890±0,03	0,72±0,01 о*
	(100)	(42,3)	(31,7)	(62,9)	(52,3)	(523)	(423)
Малат	0,34±0,045	0,28±0,026	0,17±0,03	0,31±0,04	0,239±0,091	0,277±0,026	0,234±0,38
	(100)	(82,3)	(50)	(91,1)	(69)	(81)	(68)
Изоцитрат	0,71±0,105	0,42±0,099	0,42±0,086	0,54±0,104	0,477±0,179	0,486±0,16	0,472±0,18
	(100)	(59,1)	(59,1)	(87,2)	(68,4)	(66,2)	(66,4)
АТФ	2,000±0,08	1,28±0,09	1,24±0,094	1,83±0,091	1,52±0,094	1,62±0,08	1,38±0,052
	(100)	(64)	(62)	(91,5)	(76)	(81)	(69)
АМФ	0,120±0,006	0,28±0,08	0,29±0,022	0,173±0,04	0,181±0,09	0,17±0,01	0,175±0,021
	(100)	(218,8)	(226,6)	(135,1)	(141,4)	(132)	(135)
КФ	3,60±0,23	1,60±0,12	1,48±0,146	2,80±0,131	2,550±0,31	1,73±0,54	1,61±0,12
	(100)	(44,4)	(41,1)	(77,7)	(70,8)	(48)	(44,7)

снижению в тканях мозга лактата, увеличению содержания пирувата, увеличивался общий пул электрического заряда. Достоверно увеличилось содержание креатинина. При введении заявляемого соединения на фоне тромботического ОНМК (графа 6 табл.2) также отмечалось изменение почти всех (за исключением изоцитрата, АМФ) показателей энергетического обмена. Так, по сравнению с 3-й группой животных (графа 4 табл.2) увеличилось содержание гликогена, имело тенденцию к повышению содержание глюкозы, уменьшилось содержание лактата, несколько повысилось содержание пирувата, увеличилось содержание креатинфосфата. Эти данные свидетельствуют о том, что введение заявляемого соединения оказывает протективное действие при ОНМК за счет улучшения энергетических процессов в головном мозге. Защитное метаболическое действие заявляемого соединения выше по сравнению с тиотриазолином (прототипом) по всем изучаемым показателям (см. графы 7, 8 табл.2).

Исследование влияния заявляемого соединения на содержание продуктов перекисного окисления липидов проведено на модели ишемического ОНМК (односторонняя перевязка). Препараты сравнения - пирацетам и тиотриазолик (прототип). Результаты исследований представлены в таблице 3.

Из данных приведенных в таблице 3, видно, что введение заявляемого соединения перед перевязкой внутренней сонной артерии вызывает нормализацию активности липидов по всем показателям. По ряду показателей (α-ТФ, супероксид-дисмутаза, каталаза) действие заявляемого соединения сравнимо с действием пирацетама, по остальным показателям - превосходит его. По сравнению с тиотриазолином (прототипом) заявляемое соединение проявляет более высокие антиоксидантные свойства.

Проведено также изучение влияния заявляемого соединения на

Таблица 3

Показатели	Группа животных									
	Контроль		Перевязка		Заявленное соединение + перевязка		Пирацетам + перевязка		Тиотриазолин + перевязка	
	нкат/л	%	нкат/л	%	нкат/л	%	нкат/л	%	нкат/л	%
ДК	0,17±0,01	100	0,56±0,04	329	0,24±0,2	141	0,4±0,1	235	0,45±0,1	265
α-ТФ	5,4±0,2	100	3,9±0,4	92,2	4,86±0,31	90	4,6±0,8	85	4,0±0,18	74
СОД	189,7±11,4	100	72,5±9,2	38,2	168,3±8,9	89	200,6±4,5	106	150±7,3	79
Ката-лаза	11,4±0,2	100	5,8±0,4	50,8	8,7±6,4	76,3	12,0±0,18	105	7,7±0,2	67,5

ГПР	95,2±7,0	100	68,5±7,0	72,3	91,7±5,8	96	82±6,7	86	80±6,4	84
MDA	0,2±0,03	100	0,57±0,04	285	0,33±0,05	165	0,38±0,02	190	0,44±0,03	220

изоферменты креатинфосфатазы (КФК) при экспериментальной ОНМК.

Результаты исследований представлены в таблице 4.

Как видно из представленных в таблице 4 данных, заявляемое соединение уменьшает уровень гиперферментемии за счет всех фракций. Это свидетельствует о стабилизации мембранных образований клеток мозга под влиянием заявляемого соединения. Сравнение заявляемого соединения с тиотриазолином показывает, что заявляемое соединение обладает более высоким мембраностабилизирующим действием.

Таким образом, проведенные исследования (табл. 2, 3, 4) подтверждают, что заявляемое соединение обладает выраженным церебротекторным действием, по силе превосходящим действие тиотриазолина (прототип).

Исследование кардиопротекторной активности заявляемого соединения проводили следующим образом.

У белых крыс-самцов линии Вистар массой 180 - 220г моделировали по общепринятой методике экспериментальный инфаркт миокарда (ЭИМ), а именно: изадрин-питуитриневую модель инфаркта миокарда, заключающуюся в последовательном внутрибрюшинном введении изадрина в дозе 100мг/кг подкожно и через 1 час - питуитрина в дозе 0,5ЕД на 1кг.

За 1 час до эксперимента одной группе животных превентивно вводили заявляемое соединение в дозе 50мг/кг, другой - препарат сравнения - тиотриазолин (прототип) в дозе 50мг/кг, третья группа - интактные животные.

На модели циркуляторной гипоксии в результате острого инфаркта миокарда исследовали влияние заявляемого соединения на активность кардиоспецифичного изофермента креатинфосфокиназы МВ-фракции (МВ-КФК), общей креатинфосфокиназы (КФК), на содержание мало-

шим образам.

Таблица 4

Группа животных	Активность КФК							
	ММ		МВ		ВВ		ЛДГ	
	нкат/л	%	нкат/л	%	нкат/л	%	нкат/л	%
Контроль	1,38 ± 0,04	100	0,77 ± 0,03	100	0,5 ± 0,02	100	2,01 ± 0,43	100
Перевязка	1,94 ± 0,04	140,6	0,99 ± 0,02	128,6	1,01 ± 0,03	202	4,06 ± 0,32	202
Заявляемое соединение + перевязка	1,68 ± 0,03	121,7	0,81 ± 0,03	105,2	0,67 ± 0,03	134	2,44 ± 0,37	121,4
Тиотриазолин + перевязка	1,8 ± 0,02	130	0,90 ± 0,02	117	0,72 ± 0,02	144	3,05 ± 0,42	152

нового диальдегида (МД), характеризующего перекисное окисление липидов, а также на активность ферментов, характерных для резорбтивно-некротического синдрома при остром инфаркте миокарда:

5-нуклеотидазы;

лактатдегидрогеназы (ЛДГ);

аспартаттрансаминазы (АсАТ).

Активность указанных ферментов в сыворотке крови исследовали в динамике через определенные промежутки времени от момента введения питуитрина по сравнению с интактными животными.

Результаты проведенных исследований кардиопротекторной активности заявляемого соединения приведены в таблицах 5 - 10:

таблица 5 - влияние заявляемого соединения на активность изофермента МВ-КФК в сыворотке крови при ЭИМ;

таблица 6 - влияние заявляемого соединения

на активность общей КФК в сыворотке крови при ЭИМ;

таблица 7 - влияние заявляемого соединения на содержание малонового диальдегида в сыворотке крови при ЭИМ,

таблица 8 - влияние заявляемого соединения на активность 5-нуклеотидазы в сыворотке крови при ЭИМ,

таблица 9 - влияние заявляемого соединения на активность ЛДГ в сыворотке крови при ЭИМ,

таблица 10 - влияние заявляемого соединения на активность АсАТ, в сыворотке крови при ЭИМ.

Из таблицы 6 видно, что активность общей креатинфосфокиназы (КФК) достоверно увеличилась к 24 часам, превышая исходный уровень более чем в 4 раза. У животных, превентивно получивших заявляемое соединение, также отмечался прирост активности, общей КФК, однако к 24 часам ее активность не превысила исходную и в 2 раза.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 20388 (13) C2

(51) 6 C07D413/12, 249/12, A61K31/41

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) МОРФОЛІНІЙ 3-(4-ПІРИДИЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛІЛ-5-ТІОАЦЕТАТ, ЩО ВІЯВЛЯЄ АНТИПОКСИЧНУ, ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНУ ТА КАРДІОПРОТЕКТОРНУ АКТИВНІСТЬ

(21) 97052457

(22) 28 05 1997

(24) 15 04 2002

(46) 15 04 2002, Бюл. № 4, 2002 р.

(72) Візір Анатолій Дмитрович, Візір Вадим Анатолійович, Дрогозов Світлана Мефодіївна, Зайченко Ганна Володимирівна, Лозюк Любов Василівна, Головкин Вячеслав Олександрович, Філімонов Володимир Іванович, Кечін Ігор Леонідович, Книш Євгеній Григорович, Панасенко Олександр Іванович, Мартиновський Олексій Олександрович, Краснов Євгеній Іванович

(73) Книш Євгеній Григорович, Панасенко Олександр Іванович

Изобретение относится к медицине, а именно к фармакологии, в частности к новым биологически активным химическим соединениям, на основе которых могут быть созданы лекарственные препараты антигипоксического, церебропротекторного и кардиопротекторного действия.

Наиболее близким структурным аналогом заявляемого соединения является морфолиний 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тиоацетат, проявляющий гепатопротекторную, ранозаживляющую и противовирусную активность (см. п. Украины № 1988, приоритет от 22.12.86, опубл. 20.12.94, М. Кл. 4 C07D 413/12, A61K 31/41, A61K 31/535).

Торговое название морфолиния 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тиоацетата-тиотриазолін.

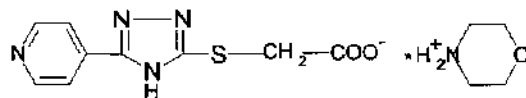
Известное соединение обладает слабо выраженными антигипоксической, церебропротекторной и кардиопротекторной активностями.

В основу изобретения поставлена задача создания нового биологически активного химического соединения, химическая структура которого обеспечивает антиоксидантные свойства и за счет этого заявляемое соединение проявляет антигипоксическую, церебропротекторную и кардиопротекторную активность при низкой токсичности.

Поставленная задача решается тем, что получен морфолиний 3-(4-пиридил)-1,2,4-триазоліл-5-

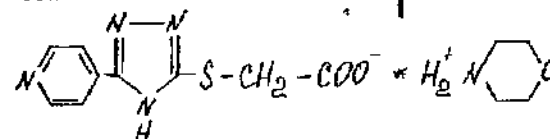
(56) UA, 1988, C1, 1986 SU, 1410482, A1, 1986 RU, 94045832, A1, 1994 RU, 2083206, C1, 1994

(57) Морфолиний 3-(4-пиридил)-1,2,4-триазоліл-5-тиоацетат формулы



проявляющий антигипоксическую, церебропротекторную и кардиопротекторную активность

тиоацетат, проявляющий антигипоксическую, церебропротекторную и кардиопротекторную активность



Заявляемое соединение обладает антиоксидантными свойствами, т.е. препятствует окислению и образованию свободных радикалов в организме, которые возникают при гипоксии, нарушениях мозгового кровообращения и инфаркте миокарда. Заявляемое соединение обладает мембраностабилизирующим действием, что препятствует разрушению клеточных и субклеточных структур.

Предотвращение образования свободных радикалов в организме и мембраностабилизирующее действие заявляемого соединения и обуславливают его антигипоксическую, церебропротекторную и кардиопротекторную активность.

Заявляемое соединение получают следующим образом.

Смешивают 0,02 моля 1-изоникотиноил-изотиосемикарбазид- S -уксусной кислоты с

(13) C2

(11) 20388

(19) UA

0,02моли морфолина в 20мл этанола и кипятят в течение 6час. Растворитель упаривают, получая заявляемое соединение.

Выход: 97%. Желтоватое кристаллическое вещество, легко растворимо в воде, трудно растворимо в спиртах, нерастворимо в эфире и гексане.

$T_{пл} - 203 - 205^{\circ}C$

Найдено, %: s 9,7

Вычислено, %: s 9,9

ИК-спектр, cm^{-1} . волновое число у COO - 1600 (асс.), 1360(сим.)

Врутто-формула: $C_{13}H_{17}N_5O_3S$

Заявляемое соединение обладает антигипоксической, церебропротекторной и кардиопротекторной активностью

LD₅₀ заявляемого соединения при внутрибрюшинном введении белым мышам составляет 5000мг/кг, при внутрибрюшинном введении белым крысам - 3500мг/кг, при внутривенном введении кошкам - 850мг/кг.

Исследование биологической активности заявляемого соединения показало, что в экспериментах на животных данное соединение проявляет антигипоксическую, церебропротекторную и кардиопротекторную активность.

Изучение антигипоксического действия заявляемого соединения проводили на белых мышам-самцах массой 15 - 20г. Антигипоксическое действие изучали по времени выживания животных в условиях гипобарической и токсической гипоксической гипоксии. Группам животных вводили заявляемое соединение, тиотриазолин (прототип), а также гутимин и пирацетам - известные антигипоксические препараты. Указанные соединения вводили с помощью желудочного зонда в желудок за 1 час до проведения эксперимента в средние терапевтических дозах, пересчитанных с учетом коэффициента церебрации

В качестве базы сравнения была выбрана контрольная группа животных, которой не вводили антигипоксические препараты.

Результаты исследований антигипоксической активности заявляемого соединения приведены в таблице 1

Анализ данных, приведенных в таблице 1, показал, что заявляемое соединение повышает устойчивость животных к гипобарической гипоксии более чем в 2,5 раза, тогда как тиотриазолин (прототип) в ~ 1,5 раза. Заявляемое соединение превосходит по антигипоксической активности и известные антиоксиданты - пирацетам и гутимин.

Таблица 1

№ Группы животных	Вводимое соединение	Доза, мг/кг	Гипобарические жизни		Цитотоксические жизни	
			минуты	%	минуты	%
1	2	3	4	5	6	7
1	Интактные	-	2,69 ± 0,18	100	26,7 ± 1,39	100
2	Заявляемое соединение	50	6,93 ± 0,31	258	50,4 ± 2,7	189
3	Тиотриазолин	50	3,84 ± 0,21	143	33,2 ± 1,7	124
4	Пирацетам	250	6,50 ± 0,51	242	45,3 ± 2,9	170
5	Гутимин	5	6,43 ± 0,41	239	35,4 ± 1,8	133

Церебропротекторную активность заявляемого соединения исследовали на экспериментальных моделях циркуляторной гипоксии у крыс. Для этого была выбрана модель перевязки внутренних сонных артерий, имитирующая ишемическое повреждение мозга и модель тромботического инсульта, заключающаяся во введении в общую сонную артерию 1,1ед тромбина в объеме физиологического раствора 0,1мл на 1 крысу массой 200 - 220г с последующей ее перевязкой, что имитирует картину тяжелого тромботического инсульта, подтвержденную на биохимическом и гистохимическом уровне

Опыты проводили на белых крысах линии Вистар обоего пола, массой 160 - 180г, прошедших карантин и содержащихся на стандартном рационе

Исследования включали изучение ребацефалограммы методом вживления электродов, определение напряжения кислорода (PO₂) методом игольчатой полярографии. Изучалась микроциркуляция тканей головного мозга, биохимические показатели углеводно-энергетического обмена в тканях головного мозга, печени, крови, продукты перекисного окисления липидов. Курсовое введение заявляемого соединения в течение 4-х суток после операции в желудок животного в дозе

50мг/кг приводит к нормализации электрофизиологических показателей и структурных изменений. Увеличивался реографический индекс, форма РЭГ-кривой приближалась к норме у животных с перевязкой и улучшалась по изучаемым показателям у животных с тромботическим повреждением мозга. У всех опытных животных уменьшались различия РЭГ-кривых между полушариями опытных животных. Полная нормализация микроциркуляции наступила у животных с ишемическим повреждением и улучшилась у животных с тромботическим повреждением. Это способствовало улучшению кислородного режима тканей, что проявлялось достоверным повышением PO₂ в обеих группах. К улучшению микроциркуляции крови приводило заключительное уменьшение зоны периваскулярного и перичеллюлярного отека. Коэффициент ткань мозга/высушенная ткань уменьшился, что подтверждает уменьшение отека набухания мозга

При ШИК-реакции наблюдались единичные фрагменты разволокнения эндотелия капилляров.

Результаты изучения биохимических показателей углеводно-энергетического обмена в тканях головного мозга крыс при односторонней перевязке и тромботическом повреждении, а также при протективном введении заявляемого соединения

и препарата сравнения (тиотриазолина) представлены в таблице 2

Из данных, приведенных в таблице 2, видно, что введение заявляемого соединения белым крысам в остром периоде очагового нарушения

мозгового кровообращения (ОНМК), вызванного односторонней перевязкой общей сонной артерии (графа 5 табл 2), приводит к увеличению в тканях головного мозга содержания глюкозы и гликогена,

Таблица 2

Группа животных	Интактные	Перевязка	Тромбоз	Заявляемое соединение + перевязка	Заявляемое соединение + тромбоз	Тиотриазолин + перевязка	Тиотриазолин + тромбоз
Показатели							
1	2	3	4	5	6	7	8
Гликоген	2,5-33±0,025	0,670±0,078	0+441±0,612	2,040±0,080	1,80±0,043	1,080±0,054	1,62±0,078
	(100)	(26,5)	(17,4)	(80,5)	(73,3)	(70,5)	(66,1)
Глюкоза	3,600±0,029	2,38±0,13	2,07±0,03	2,98±0,122	2,64±0,093	2,54±0,18	2 380±0,125
	(100)	(66,1)	(57,5)	(82,7)	(73,3)	(70,5)	(66,1)
Лактат	2,705±0,374	5,70±0,493	6,84±0,571	3,20±0,31	4,67±0,241	5,73±0,317	6,72±0,254
	(100)	(210,7)	(252,9)	(118,3)	(180)	(211)	(248)
Пируват	0,17±0,018	0,072±0,008	0,054±0,012	0,107±0,01	0,089±0,09	0,890±0,03	0,72±0,01 о*
	(100)	(42,3)	(31,7)	(62,9)	(52,3)	(523)	(423)
Малат	0,34±0,045	0,28±0,026	0,17±0,03	0,31±0,04	0,239±0,091	0,277±0,026	0,234±0,38
	(100)	(82,3)	(50)	(91,1)	(69)	(81)	(68)
Изоцитрат	0 71±0,105	0,42±0,099	0,42±0,086	0,54±0,104	0,477±0,179	0,486±0,16	0,472±0,18
	(100)	(59,1)	(59,1)	(67,2)	(68+4)	(66,2)	(66,4)
АТФ	2,000±0,08	1,28±0,09	1,24±0,094	1,83±0,091	1,52±0,094	1,62±0,08	1,38±0,052
	(100)	(64)	(62)	(91,5)	(76)	(81)	(69)
АМФ	0,120±0,006	0,28±0,08	0,29±0,022	0,173±0,04	0,181±0,09	0,17±0,01	0,175±0,021
	(100)	(218,8)	(226,6)	(135,1)	(141,4)	(132)	(135)
КФ	3,60±0,23	1,60±0,12	1,48±0,146	2,80±0,131	2,550±0,31	1,73±0,54	1,61±0,12
	(100)	(44,4)	(41,1)	(77,7)	(70,8)	(48)	(44,7)

снижению в тканях мозга лактата, увеличению содержания пирувата, увеличивался общий пул электрического заряда. Достоверно увеличилось содержание креатинина. При введении заявляемого соединения на фоне тромботического ОНМК (графа 6 табл.2) также отмечалось изменение почти всех (за исключением изоцитрата, АМФ) показателей энергетического обмена. Так, по сравнению с 3-й группой животных (графа 4 табл.2) увеличилось содержание гликогена, имело тенденцию к повышению содержание глюкозы, уменьшилось содержание лактата, несколько повысилось содержание пирувата, увеличилось содержание креатинфосфата. Эти данные свидетельствуют о том, что введение заявляемого соединения оказывает протективное действие при ОНМК за счет улучшения энергетических процессов в головном мозге. Защитное метаболическое действие заявляемого соединения выше по сравнению с тиотриазолином (прототипом) по всем изучаемым показателям (см. графы 7, 8 табл.2).

Исследование влияния заявляемого соединения на содержание продуктов перекисного окисления липидов проведено на модели ишемического ОНМК (односторонняя перевязка). Препараты сравнения -пирацетам и тиотриазолик (прототип). Результаты исследований представлены в таблице 3.

Из данных приведенных в таблице 3, видно, что введение заявляемого соединения перед перевязкой внутренней сонной артерии вызывает нормализацию активности липидов по всем показателям. По ряду показателей (α-ТФ, супероксид-дисмутаза, каталаза) действие заявляемого соединения сравнимо с действием пирацетама, по остальным показателям - превосходит его. По сравнению с тиотриазолином (прототипом) заявляемое соединение проявляет более высокие антиоксидантные свойства.

Проведено также изучение влияния заявляемого соединения на

Таблица 3

Показатели	Группа животных									
	Контроль		Перевязка		Заявленное соединение + перевязка		Пирацетам + перевязка		Тиотриазолин + перевязка	
	нкат/л	%	нкат/л	%	нкат/л	%	нкат/л	%	нкат/л	%
DK	0,17±0,01	100	0,56±0,04	329	0,24±0,2	141	0,4±0,1	235	0,45±0,1	265
α-ТФ	5,4±0,2	100	3,9±0,4	92,2	4,86±0,31	90	4,6±0,8	85	4,0±0,18	74
COD	189,7±11,4	100	72,5±9,2	38,2	168,3±8,9	89	200,6±4,5	106	150±7,3	79
Ката-лаза	11,4±0,2	100	5,8±0,4	50,8	8,7±6,4	76,3	12,0±0,18	105	7,7±0,2	67,5

ГПР	95,2±7,0	100	68,5±7,0	72,3	91,7±5,8	96	82±6,7	86	80±6,4	84
MDA	0,2±0,03	100	0,57±0,04	285	0,33±0,05	165	0,38±0,02	190	0,44±0,03	220

изоферменты креатинфосфатазы (КФК) при экспериментальной ОНМК.

Результаты исследований представлены в таблице 4.

Как видно из представленных в таблице 4 данных, заявляемое соединение уменьшает уровень гиперферментемии за счет всех фракций. Это свидетельствует о стабилизации мембранных образований клеток мозга под влиянием заявляемого соединения. Сравнение заявляемого соединения с тиотриазолином показывает, что заявляемое соединение обладает более высоким мембраностабилизирующим действием.

Таким образом, проведенные исследования (табл. 2, 3, 4) подтверждают, что заявляемое соединение обладает выраженным церебротекторным действием, по силе превосходящим действие тиотриазолина (прототип).

Исследование кардиопротекторной активности заявляемого соединения проводили следующим

образом.

У белых крыс-самцов линии Вистар массой 180 - 220г моделировали по общепринятой методике экспериментальный инфаркт миокарда (ЭИМ), а именно: изадрин-питуитриневую модель инфаркта миокарда, заключающуюся в последовательном внутрибрюшинном введении изадрина в дозе 100мг/кг подкожно и через 1 час - питуитрина в дозе 0,5ЕД на 1кг.

За 1 час до эксперимента одной группе животных превентивно вводили заявляемое соединение в дозе 50мг/кг, другой - препарат сравнения - тиотриазолин (прототип) в дозе 50мг/кг, третья группа - интактные животные.

На модели циркуляторной гипоксии в результате острого инфаркта миокарда исследовали влияние заявляемого соединения на активность кардиоспецифичного изофермента креатинфосфокиназы МВ-фракции (МВ-КФК), общей креатинфосфокиназы (КФК), на содержание малпо

Таблица 4

Группа животных	Активность КФК							
	ММ		МВ		ВВ		ЛДГ	
	нкат/л	%	нкат/л	%	нкат/л	%	нкат/л	%
Контроль	1,38 ± 0,04	100	0,77 ± 0,03	100	0,5 ± 0,02	100	2,01 ± 0,43	100
Перевязка	1,94 ± 0,04	140,6	0,99 ± 0,02	128,6	1,01 ± 0,03	202	4,06 ± 0,32	202
Заявляемое соединение + перевязка	1,68 ± 0,03	121,7	0,81 ± 0,03	105,2	0,67 ± 0,03	134	2,44 ± 0,37	121,4
Тиотриазолин + перевязка	1,8 ± 0,02	130	0,90 ± 0,02	117	0,72 ± 0,02	144	3,05 ± 0,42	152

нового диальдегида (МД), характеризующего перекисное окисление липидов, а также на активность ферментов, характерных для резорбтивно-некротического синдрома при остром инфаркте миокарда:

5-нуклеотидазы;

лактатдегидрогеназы (ЛДГ),

аспартаттрансаминазы (АсАТ).

Активность указанных ферментов в сыворотке крови исследовали в динамике через определенные промежутки времени от момента введения питуитрина по сравнению с интактными животными.

Результаты проведенных исследований кардиопротекторной активности заявляемого соединения приведены в таблицах 5 - 10:

таблица 5 - влияние заявляемого соединения на активность изофермента МВ-КФК в сыворотке крови при ЭИМ,

таблица 6 - влияние заявляемого соединения

на активность общей КФК в сыворотке крови при ЭИМ;

таблица 7 - влияние заявляемого соединения на содержание малонового диальдегида в сыворотке крови при ЭИМ;

таблица 8 - влияние заявляемого соединения на активность 5-нуклеотидазы в сыворотке крови при ЭИМ;

таблица 9 - влияние заявляемого соединения на активность ЛДГ в сыворотке крови при ЭИМ,

таблица 10 - влияние заявляемого соединения на активность АсАТ, в сыворотке крови при ЭИМ.

Из таблицы 6 видно, что активность общей креатинфосфокиназы (КФК) достоверно увеличилась к 24 часам, превышая исходный уровень более чем в 4 раза. У животных, превентивно получивших заявляемое соединение, также отмечался прирост активности, общей КФК, однако к 24 часам ее активность не превысила исходную и в 2 раза.

Таблица 5

Группа животных	Активность изофермента МВ-КФК в сыворотке крови при ЭИМ в динамике, нкат/л (%)					
	0 час	6 час	8 час	10 час	24 час	48 час
Заявляемое соединение	-	7,8±0,2 (139%)	10,5±0,3 (187%)	13,0±0,5 (232%)	14,0±0,2 (250%)	6,6±0,1 (118%)
Тиотриазолин	-	12,1±0,4 (216%)	15,0±0,5 (268%)	19,0±0,5 (339%)	25,0±0,7 (446%)	7,8±0,3 (139%)
Интakтные	5,6±0,3 (100%)	16,3±0,5 (273%)	22,0±0,7 (393%)	28,0±1,0 (500%)	32,0±0,9 (871%)	9,4±0,3 (168%)

Таблица 6

Группа животных	Активность общей КФК в сыворотке крови при ЭИМ в динамике, нкат/л (%)				
	0 час	6 час	12 час	24 час	48 час
Заявляемое соединение	-	136 ± 3 (142%)	152 ± 6 (158%)	178 ± 3,2 (185%)	112 ± 4 (117%)
Тиотриазолин	-	170 ± 6 (177%)	206 ± 11 (215%)	225 ± 4,1 (234%)	130 ± 3,2 (135%)
Интakтные	96 ± 6,1 (100%)	189 ± 5 (197%)	282 ± 12 (294%)	485 ± 11 (505%)	143 ± 3,8 (149%)

Таблица 7

Группа животных	Содержание малонового диальдегида в сыворотке крови при ЭИМ в динамике							
	0 сут		2 сут		5 сут		7 сут	
	мк/моль	%	мк/моль	%	мк/моль	% -	мк/моль	%
	мл		мл		мл		мл	
Заявляемое соединение	-	-	9,5 ± 1,1	792	6,1 ± 0,9	508	3,2 ± 0,4	267
Тиотриазолин	-	-	10,2 ± 2,1	850	7,5 ± 0,7	625	4,6 ± 0,3	400
Интakтные	1,2 ± 0,1	100	19 ± 1,6	1583	12 ± 0,9	1000	8,1 ± 0,5	425

Таблица 8

Группа животных	Активность 5-нуклеотидазы в сыворотке крови при ЭИМ в динамике							
	0 сут		2 сут		5 сут		7 сут	
	мк/моль	%	мк/моль	%	мк/моль	% -	мк/моль	%
	мл		мл		мл		мл	
Заявляемое соединение	-	-	178 ± 3,6	171	133,4 ± 2,5	128	115 ± 4,5	111
Тиотриазолин	-	-	220 ± 2,1	212	150 ± 2,2	144	120 ± 4,6	115
Интakтные	104 ± 1,3	100	229,5 ± 3,4	221	186,7 ± 3,5	180	121,3 ± 3,2	117

Таблица 9

Группа животных	Активность ЛДГ в сыворотке крови при ЭИМ в динамике							
	0 сут		2 сут		5 сут		7 сут	
	мк/моль	%	мк/моль	%	мк/моль	% -	мк/моль	%
	мл		мл		мл		мл	
Заявляемое соединение	-	-	92 ± 3,2	438	50,1 ± 2,2	239	32,4 ± 1,1	154
Тиотриазолин	-	-	130 ± 2,8	619	83 ± 1,7	395	40 ± 1,4	190
Интakтные	21 ± 1,9	100	132 ± 2,2	629	106 ± 1,5	505	46 ± 1,8	219

Таблица 10

Группа животных	Активность АсАТ в сыворотке крови при ЭИМ в динамике							
	0 сут		2 сут		5 сут		7 сут	
	мк/моль	%	мк/моль	%	мк/моль	% -	мк/моль	%
	мл		мл		мл		мл	
Заявляемое соединение	-	-	3,1 ± 0,2	221	2,1 ± 0,1	150	1,6 ± 0,1	114
Тиотриазолин	-	-	5,2 ± 0,4	371	2,5 ± 0,1	179	1,6 ± 0,1	114

Интактные	1,4 ± 0,1	100	6,8 ± 0,2	486	2,8 ± 0,1	200	1,7 ± 0,2	121
-----------	-----------	-----	-----------	-----	-----------	-----	-----------	-----

Активность кардиоспецифичного изофермента креатинфосфокиназы МВ-фракции (таблица 5) также значительно увеличивалась к 24 часу (более чем в 5 раз по сравнению с исходной). У животных, получивших заявляемое соединение, к 24 часам активность МВ-КФК увеличивалась лишь в 2 раза, что свидетельствует об уменьшении резорбтивно-некротического синдрома.

Анализ данных таблицы 7 показал, что на 2-е сутки развития острого инфаркта миокарда активность малонового диальдегида (МД) - маркера перекисного окисления липидов - увеличивалась у контрольных животных в 18 раз, затем к 7 суткам резко уменьшалась, сохраняясь на довольно высоком уровне по сравнению с исходными (до инфаркта) цифрами. Под влиянием заявляемого соединения активность МД повысилась в 8 раз, что значительно ниже, чем в контроле.

Активность 5-нуклеотидазы значительно возросла на 2 сутки у интактных животных (более чем в 2 раза) и практически нормализовалась к 7 суткам. В группе животных, получивших перед экспериментом заявляемое соединение, активность 5-нуклеотидазы повысилась в меньшей степени, чем в контрольной группе, и также нормализовалась к 7 суткам (таблица 8).

При анализе динамики других ферментов, характерных для резорбтивно-некротического синдрома при остром инфаркте миокарда, можно заключить, что активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) у интактных животных на 2 сутки увеличивается более чем в 6 раз, тогда как в группе животных, получивших заявляемое соединение, активность ЛДГ была ниже, особенно на 5 и 7 сутки

(таблица 9)

Активность аспартаттрансаминазы (АсАТ) также значительно возросла на 2 сутки у интактных животных (в 5 раз по сравнению с исходными цифрами) и практически нормализовалась к 7 суткам. В группе животных, получивших перед экспериментом заявляемое соединение, активность АсАТ повысилась, однако была в 2 раза ниже, чем в контроле. Нормализация активности АсАТ наступила к 7 суткам (таблица 10).

Полученные данные (таблицы 5 - 10) подтверждают, что заявляемое соединение обладает выраженной кардиопротекторной активностью при ЭИМ, более высокой по сравнению с тиотриазолином (прототипом).

Положительное влияние заявляемого соединения заключается в значительном уменьшении уровня гиперферментемии, отражающей степень резорбтивно-некротического синдрома. Заявляемое соединение способствует ограничению зоны некроза миокарда, оказывает мощный мембраностабилизирующий эффект, сохраняя целостность как клеточных, так и внутриклеточных мембран миоцитов. Кроме того, заявляемое соединение значительно уменьшает процесс перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует уменьшение содержания малонового диальдегида.

Таким образом, заявляемое соединение проявляет антигипоксическую, церебропротекторную и кардиопротекторную активность, превосходящую по силе как структурный ближайший аналог - тиотриазолин, так и известные эталонные препараты аналогичного действия.

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'я Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 - 20 - 90

ТОВ "Міжнародний науковий комітет"

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 - 32 - 71