

УДК 547.398 + 547.583

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АРОИЛГИДРАЗИДОВ 1,4-ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Н.В. Колотова^{1*}, А.В. Старкова¹

Резюме. Исследованы антигельминтная, инсектицидная активности и влияние на гемостаз ароилгидразидов 1,4-дикарбоновых кислот. Антигельминтная активность изучена для 8 соединений, из них три вещества проявили антигельминтный эффект, превышающий действие эталона (пирантела). Инсектицидная активность исследована для четырех гидразидов 1,4-дикарбоновых кислот, все соединения неактивны. Пять соединений, исследуемых на гемостаз, не обладают антикоагулянтной активностью. Для них характерно гемостатическое действие, уступающее активности этамзилата.

Ключевые слова: ароилгидразиды 1,4-дикарбоновых кислот, инсектицидная, антигельминтная, антикоагулянтная активности.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF AROYLHYDRAZIDES 1,4-DICARBOXYLIC ACIDS

N.V.Kolotova^{1*}, A.V.Starkova¹

Abstract. Anthelmintic, insecticidal activities and influence on hemostasis of aroylhydrazides 1,4-dicarboxylic acids were investigated. Anthelmintic activity was investigated for 8 compounds, including three substances showed effect that exceed effect of the standard (Pyrantelium). Insecticidal activity was investigated for 4 hydrazides 1,4-dicarboxylic acids, all compounds are inactive. Compounds that were tested for hemostasis do not possess anticoagulant activity. They are characterized by a hemostatic effect which is lower than activity of Etamsylate.

Keywords: aroylhydrazide 1,4-decarboxylic acids, antihelminthic activity, insecticidal activity, anticoagulating activity, local anesthetizing activity.

1 – ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

1 – Perm State Pharmaceutical Academy, Ministry of Healthcare, 2, Poleyaya str., Perm, 614990, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: kolotova.nina49@mail.ru

Тел.: (342) 282 58 56, 8 919 48 98 914

ВВЕДЕНИЕ

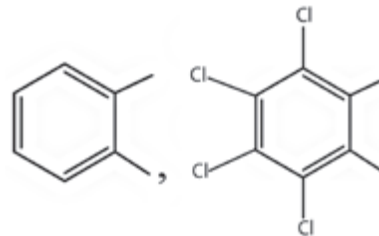
Данная работа является продолжением наших исследований по поиску соединений с антигельминтным, инсектицидным, антикоагулянтным и гемостатическим действиями среди монозамещенных гидразидов 1,4-дикарбоновых кислот [1–6]. Впервые антигельминтная активность для производных 1,4-дикарбоновых кислот была исследована для монозамещенных гидразидов диметилмалеиновой и итаконовой кислот [1]. Ранее среди монозамещенных гидразидов 1,4-дикарбоновых кислот были обнаружены соединения с инсектицидным действием [2, 3]. Для этих соединений характерно также влияние на гемостаз [4–6]. Поиск соединений с высоким уровнем этих видов активности является актуальным, поскольку происходит привыкание при продолжительном использовании препаратов и, кроме того, многие применяемые лекарственные средства имеют нежелательные побочные эффекты [7–10]. Дальнейшие исследования этих видов активности для производных 1,4-дикарбоновых кислот позволят установить зависимость активности от структуры гидразидного и кислотного фрагментов соединений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами изучения биологической активности явились ароилгидразиды 1,4-дикарбоновых кислот общей формулы:



Где X–Y: –CH₂–CH₂–, –CH=CH–, –CH=C(CH₃)–,



R: 2-NH₂C₆H₄CONHNH–, 4-NH₂C₆H₄CONHNH–, 3-CH₃OC₆H₄CONHNH–, 4-CH₃OC₆H₄CONHNH–

Исследование антигельминтной активности соединений проводили на дождевых червях, приобретенных в зоомагазине г. Перми, по методике М.П. Николаева [11]. В чашку Петри помещали 5 мл 0,5% водного раствора исследуемых соединений и погружали 5 особей червей для

ной 5–8 см и диаметром 3–5 мм. Далее фиксировали время наступления смерти каждой особи по прекращению двигательной активности в ответ на механическое раздражение. Продолжительность жизни червей в контроле – в очищенной воде – составляет сутки. В качестве эталонов применяли противогельминтные препараты «Пирантел» (ООО «Озон», Россия) и «Левамизол» (GedeonRichter, Венгрия) с действующим сроком годности, приобретенные в аптечной сети и соответствующие требованиям ФС.

Инсектицидная активность соединений изучалась на личинках комаров Chironomidae (мотыль) (приобретены в зоомагазине, г. Пермь). В чашку Петри помещали 5 мл 0,1% водного раствора исследуемых соединений и погружали 5 личинок комаров. Эффект действия соединений определялся временем наступления смерти. В качестве эталонов использовали имидаклоприд (танрек), диазинон и пиримифос (приобретены в специализированных магазинах г. Перми), широко применяемые в качестве инсектицидных средств.

Результаты исследования антигельминтной и инсектицидной активности соединений обработаны способом вариационной статистики по методу Фишера – Стьюдента [12] с помощью программы статистической обработки Stat Base.

Изучение влияния соединений на гемостаз проводили на коагулометре АПГ4-02-П. Для исследования использовали цитратную (3,8%) кровь (9:1) кроликов. Для определения активности в кювету помещали 50 мкл крови и добавляли 50 мкл 0,2% раствора исследуемого соединения, для контроля вместо вещества добавляли 50 мкл изотонического раствора хлорида натрия. В качестве препарата сравнения добавляли 50 мкл гепарина в концентрации 1 ЕД/мл крови или 50 мкл раствора этамзилата в концентрации 0,2%. Затем пробы инкубировали в течение 60 с. Добавляли 50 мкл 1% раствора хлорида кальция и приступали к измерению времени свертывания крови.

Степень влияния соединений на гемостаз определяли по изменению времени свертывания цитратной крови в контроле и опыте и статистически обрабатывали с использованием коэффициента Стьюдента [12].

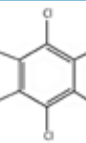
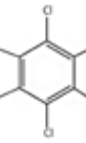
Оценка влияния соединений на гемостаз в экспериментах на крови кроликов осуществлялась в соответствии с требованиями Фармакологического комитета, изложенными в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [13]. Содержание кроликов соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ Р 51000.3-96 «Общие требования к испытательным лабораториям») и приказу МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики» (GLP), с соблюдением международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Антигельминтная активность изучена для 8 соединений, из них три вещества проявили антигельминтный эффект, превышающий действие пирантела (таблица 1). Замена малеинового фрагмента у соединения 2 на остаток цитраконовой кислоты (соединение 3) приводит к появлению антигельминтной активности, в 2 раза превышающей действие эталона. Замена 4-аминобензоильной группы в соединении 2 на 4-метоксibenзоильную (соединение 7) практически в 3 раза усиливает антигельминтное действие в сравнении с пирантелом.

Таблица 1.

Антигельминтная активность соединений

n/n	X-Y	R	Продолжительность жизни червей, мин (опыт)	Продолжительность жизни червей, мин (контроль)
1.	-CH ₂ -CH ₂ -	2-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	более 200	1 сутки
2.	-CH=CH-	4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	более 200	1 сутки
3.	-CH=C(CH ₃)-	4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	93,7±2,84	1 сутки
4.		4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	122,7±10,70	1 сутки
5.		4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	более 200	1 сутки
6.	-CH ₂ -CH ₂ -	3-CH ₃ OC ₆ H ₄ CONHNH	более 200	1 сутки
7.	-CH=CH-	4-CH ₃ OC ₆ H ₄ CONHNH	71,6±2,60	1 сутки
8.		4-CH ₃ OC ₆ H ₄ CONHNH	более 200	1 сутки
Эталон		Пирантел	215,0±0,37	1 сутки
		Левамизол	20,2±2,08	1 сутки

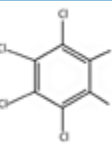
Ранее инсектицидная активность для гидразидов янтарной и тетрахлорфталево́й кислот не изучалась. Для гидразидов малеиновой и фталево́й кислот были обнаружены соединения с инсектицидной активностью [2, 3]. Результаты исследований инсектицидной активности четырех ароилгидразидов янтарной, цитраконовой и тетрахлорфталево́й кислот приведены в таблице 2. Все соединения не оказали противомариного действия.

Авторами проведен скрининг на прямую антикоагулянтную и гемостатическую активность для пяти ароилгидразидов 1,4-дикарбоновых кислот. Установлено, что исследованные соединения не обладают антикоагулянтной активностью (таблица 3). Для них характерно гемостатическое действие, уступающее активности этамзилата. Ранее было обнаружено достаточно высокое антикоагулянтное действие для 4-аминобензоилгидразида янтарной кислоты [4], для

ацилгидразидов тетрахлорфталевой кислоты обнаружена высокая антикоагулянтная и гемостатическая активность [5], гидразиды цитраконовой кислоты проявили только гемостатическое действие [6].

Таблица 2.

Инсектицидная активность соединений

n/n	X-Y	R	Продолжительность жизни личинок, мин (опыт)	Продолжительность жизни личинок, мин (контроль)
1.	-CH ₂ -CH ₂ -	2-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	более 200	1 сутки
2.	-CH=C(CH ₃)-	4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	более 200	1 сутки
3.		4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	более 200	1 сутки
4.	-CH ₂ -CH ₂ -	3-CH ₃ OC ₆ H ₄ CONHNH	более 200	1 сутки
Эталоны		Диазинон	17,0±1,87	1 сутки
		Пиримифос	24,5±1,69	1 сутки
		Имдаклоприд	43,5±3,39	1 сутки

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

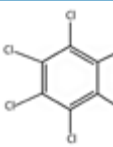
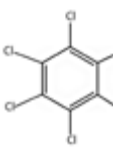
Изучено несколько видов активности для ароилгидразидов 1,4-дикарбоновых кислот: антигельминтная, инсектицидная, прямая антикоагулянтная и гемостатическая. Среди исследованных соединений обнаружены вещества с антигельминтным эффектом, превышающим действие пирантела, применяемого в терапии гельминтозов. Продолжен поиск соединений с инсектицидным действием, установлено, что все исследованные ароилгидразиды 1,4-дикарбоновых кислот проявляют гемостатическую активность. Дальнейшие исследования этих видов активности у производных 1,4-дикарбоновых кислот позволят установить зависимость активности от структуры соединений.

ЛИТЕРАТУРА

- Н.В. Колотова, А.В. Старкова, С.В. Чашина. Синтез и биологическая активность монозамещенных гидразидов итаконовой и диметилмалеиновой кислот // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. 2016. № 3(13). С. 15–23.
- Б.Я. Сыропятов, Н.В. Колотова, Е.А. Машкина и др. Инсектицидная активность производных бутендиовых кислот // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2015. № 8. С. 19–22.
- Б.Я. Сыропятов, Н.В. Колотова, А.В. Жованик и др. Инсектицидная активность производных янтарной и фталевых кислот // Вопросы медицинской, биологической и фармацевтической химии. 2014. № 11. С. 52–55.
- Б.Я. Сыропятов, Н.В. Колотова, А.В. Долженко. Влияние на гемостаз производных янтарной и малеиновой кислот // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2012. № 5. С. 31–36.
- Б.Я. Сыропятов, Н.В. Колотова. Влияние на гемостаз производных фталевых кислот // Сборник материалов XVI международной заочной научно-практической конференции «Инновации в науке». 2013. С. 139–147.
- Б.Я. Сыропятов, Н.В. Колотова. Влияние на гемостаз производных цитраконовой кислоты // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2015. № 6. С. 54–56.
- В.Е. Поляков, А.Я. Лысенко. Гельминтозы и детей и подростков. – М.: Медицина, 2003. 256 с.
- Р.Г. Лукшина, М.М. Локтева, Т.Н. Павликовская. Паразитарные болезни человека: Монография / Под общ. ред. Р. Г. Лукшиной. 2-е изд., перераб. и доп. – Харьков: ИНЖЭК, 2005. 472 с.
- А.П. Середа. Профилактика тромбоэмболических осложнений после эндопротезирования коленного и тазобедренного суставов. URL: <http://travmaorto.ru/96.html> (дата обращения 14.04.2017)
- Р.М. Тихилов, Ю.М. Стойко, М.Н. Замятин и др. Профилактика тромбоэмболических осложнений в травматологии и ортопедии: Методические рекомендации / Под ред. акад. РАМН Ю.Л. Шевченко. – М., 2006. 20 с.
- М.П. Николаев. Экспериментальные основы фармакологии и токсикологии. Практическое руководство. – М.-Л.: Медгиз, 1941. 195 с.
- В.В. Прозоровский. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований // Психофармакология и биологическая наркология. 2007. Т. 7. Вып. 3-4. С. 2090-2120.
- А.Н. Миронов. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. – М.: Гриф и К. 2012. 197 с.

Таблица 3.

Влияние соединений на время свертывания крови

n/n	X-Y	R	Время свертывания, с (контроль)	Время свертывания, с (опыт)	% изменения свертываемости	P
1.	-CH ₂ -CH ₂ -	2-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	121,1±3,43	107,6±4,62	+11,1	<0,01
2.	CH=C(CH ₃)-	4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	183,1±6,67	160,0±6,86	+12,6	<0,05
3.		4-NH ₂ C ₆ H ₄ CONHNH	174,7±4,23	159,6±4,37	+8,6	<0,05
4.	-CH ₂ -CH ₂ -	3-CH ₃ OC ₆ H ₄ CONHNH	154,0±3,46	136,5±6,49	+11,4	<0,05
5.		4-CH ₃ OC ₆ H ₄ CONHNH	153,5±4,34	134,9±5,93	+12,1	<0,05
Эталоны		Этамзилат	144,1±7,83	121,0±7,20	+16,0	<0,05
		Гепарин	145,7±9,64	618,3±55,88	-324,4	<0,001