

На правах рукописи

**КОЗИХОНОВ
АТХАМЖОН УМАРОВИЧ**

**Фармакологическое изучение
циклических
соединений серы**

(экспериментальное исследование)

14.03.06 – фармакология,
клиническая фармакология

Автореферат
диссертации на соискание ученой
степени кандидата биологических наук



Душанбе 2011

Работа выполнена в лаборатории фармакологии Института химии имени В.И.Никитина АН Республики Таджикистан.

Научный руководитель: доктор медицинских наук
Саидов Алижан Аброрович

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой фармакологии ТГМУ
имени Абуали ибни Сино
Ишанкулова Бустон Остановна

доктор биологических наук, профессор
кафедры биохимии Таджикского
национального Университета
Гиясов Тавакал Джураевич

Ведущая организация: лаборатория обмена веществ, биохимии, иммунологии и фармакологии Государственного научно-исследовательского института питания Министерства энергетики и промышленности Республики Таджикистан

Защита диссертации состоится «29» ноября 2011 в 13.00 ч на заседании диссертационного совета КМ 04700301 при Институте химии им. В.И.Никитина АН РТ по адресу: 734063, город Душанбе, ул. С.Айни, 299/2
Сайт института: www.chemistry.tj, e-mail: rif52@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Института химии им. В.И.Никитина АН Республики Таджикистан

Автореферат разослан “ 27 ” октября 2011 г.

**Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук**



Рахимов И.Ф.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Поиск новых высокоэффективных и малотоксичных лекарственных веществ составляет одну из основных задач современной фармакологии. Изыскание биологически активных средств в настоящее время ведётся как по выявлению биологически активных веществ среди продуктов химического синтеза и природных соединений, так и по целенаправленному синтезу (Аничков С.В., 1958).

В подавляющем большинстве синтезированных химических рядов соединений, закономерности между изменениями их химической структуры и особенностями фармакологического действия ещё недостаточно вскрыты, поэтому в таких группах веществ мы стремимся:

- изучить фармакологическую активность ресинтезированных веществ, с целью выявления среди них, имеющих практическое значение;
- выявить во вновь изучаемой группе веществ закономерности между структурой соединения и его физиологическим действием, с целью возможного последующего целенаправленного синтеза веществ с определенными свойствами.

Руководствуясь вышеизложенным, мы подвергли экспериментальному токсикофармакологическому изучению циклические серосодержащие соединения, ранее синтезированные в Институте химии им. В.И.Никитина Академии наук Республики Таджикистан. Особенно нас интересовало исследование биологической активности у ресинтезированных соединений, сопоставляя её, с известными медицинскими препаратами, широко используемыми в лечебной практике.

Актуальность избранной нами темы заключалась, в необходимости определения фармакологического действия у ресинтезированных веществ, выявлением среди них соединения, обладающего полезными фармакологическими свойствами и являющимся перспективным в практическом плане.

В работе мы поставили цель и задачи исследования, которые определялись запросами научной и практической медицины.

Сераорганические циклические соединения, синтезированные ранее в Институте химии АН Республики Таджикистан, нашли широкое применение в различных отраслях народного хозяйства, однако литературных данных об их воздействии на функции и органы человека и животных, крайне мало и они ограничены. С целью составления разносторонней фармакологической характеристики соединений и выявления среди них веществ, обладающих полезными фармакологическими свойствами, мы провели широкий разносторонний фармакологический скрининг синтезированных в Институте химии ряда бициклических серосодержащих соединений. В ходе проведенных исследований, нами была дана всесторонняя характеристика ряду циклических серосодержащих соединений, при этом у некоторых

соединений указанного ряда было выявлено местно-анестезирующее свойство. В дальнейших исследованиях важным представлялось провести детальное изучение наиболее активного соединения АК-3 (2-Methyl-3-piperidin-1-yl-1- thiochroman-6-yl-propan-1-one hydrochlorid) в сравнении с известными местно-анестезирующими препаратами, широко применяемыми в медицинской практике. Для более полной и объективной характеристики фармакологических свойств этого вещества получив предварительные данные о его безвредности, была изучена его активность на моделях экспериментальных анестезий. Также для соединений этого ряда определена зависимость фармакологического эффекта от изменения их химической структуры.

Цель исследования. Биофармакологическое изучение циклических серосодержащих соединений.

Основные задачи исследования. В соответствии с поставленной целью нами предусматривалось решение следующих задач:

- провести системный скрининг фармакологической активности циклических серосодержащих соединений, исследуя их характерные физиологические свойства;
- определить среди них биологически активное и наименее токсичное вещество, составив по ходу экспериментальных исследований разностороннюю фармакологическую характеристику;
- исследовать возможные закономерности взаимосвязи «структура-действие», определяя зависимость биологической активности соединения от его химического строения;
- определить безвредность и безопасность наиболее активного соединения по его влиянию на общее состояние, основные органы и системы экспериментальных животных при однократном и длительном введении, определив перспективность для практического его применения.

Научная новизна. Проведено разностороннее фармакологическое исследование ресинтезированного ряда сераорганических циклических производных. В этом ряду соединений определены вещества, обладающие выраженным избирательным действием. Местно-анестезирующая активность соединения АК-3 (2-Methyl-3-piperidin-1-yl-1- thiochroman-6-yl-propan-1-one hydrochlorid), в том числе и на экспериментальных моделях анестезий, сопоставима с аналогичным действием анестетиков (дикаина и новокаина), наиболее широко применяемых в медицинской практике.

Результаты подробного фармакологического исследования позволяют нам, рекомендовать соединение АК-3 (2-Methyl-3-piperidin-1-yl-1- thiochroman-6-yl-propan-1-one hydrochlorid) для широкого клинического изучения в качестве перспективного местного анестетика

Теоретическая и практическая значимость работы. Проведено изучение физиологической активности циклических серосодержащих соединений и дана разносторонняя характеристика физиологической активности одному из них. Результаты исследований раскрывают пути целенаправленного синтеза новых менее токсичных с заведомо известными свойствами химических веществ. В процессе исследований определена зависимость между химическим строением и физиологической активностью соединений, а также установлено влияние определённых радикалов на токсичность соединений

Положения, выносимые на защиту:

1. Проведен фармакологический скрининг циклических серосодержащих производных, одно из которых получило разностороннюю характеристику физиологической активности.

2. Результаты исследований свидетельствуют об обоснованности поиска новых лекарственных веществ среди циклических серосодержащих органических соединений, обладающих широким спектром физиологического действия.

3. В результате исследований получены данные об основных параметрах местно-анестезирующего и спазмолитического действия изучаемого циклического производного.

4. Концепция о различиях в местно-анестезирующем и спазмолитическом действиях, имеющая структурную специфичность.

Апробация работы. Материалы обсуждены на: VI Нумановских чтениях «Здоровье человека и поиски малотоксичных серосодержащих соединений» (Душанбе, 2009 г.); II Республиканской конференции с международным участием «Здоровое питание - здоровая нация» (Душанбе, 14 ноября 2009 г.); годичной научно-практической конференции молодых ученых и студентов ТГМУ имени Абуали ибни Сино, посвященной 20 летию независимости РТ «Проблемы и достижения современной медицины» (Душанбе, 2010 г.); годичной научно-практической конференции с международным участием Таджикского медицинского университета им. Абуали ибни Сино «Роль современной медицинской науки в оздоровлении общества» (Душанбе, 2011 г.).

Реализация результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, из них 3, в журналах рекомендованных ВАК РФ.

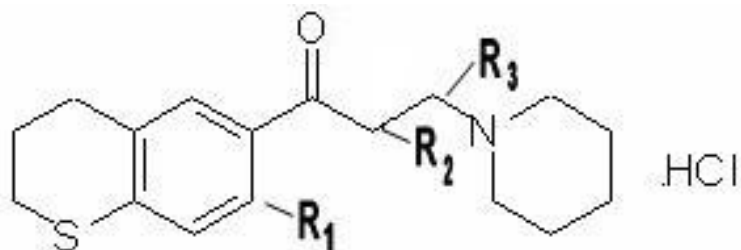
Структура и объём работы. Диссертация изложена на 116 страницах компьютерного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы, посвящённой данным собственных экспериментальных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и списка литературы, содержащего 162 источника. Работа иллюстрирована 19 таблицами и 16 рисунками.

Материалы и методы исследований

Эксперименты проведены на 90 беспородных белых мышах обоего пола, массой 18-25 г, 90 белых беспородных крысах обоего пола, массой 180-200 г, 30 кошках обоего пола, массой 3-5 кг, 15 кроликах породы венский голубой и шиншилла обоего пола, 10 морских свинок, массой 230–300 г. Все животные содержались в виварии на обычном лабораторном рационе. Опыты проводились с соблюдением «Правил проведения работ на экспериментальных животных» (Приложение к Приказу Министерства здравоохранения СССР № 755 от 12.08. 1977 г.) и согласовывались с требованиями по гуманному обращению с животными (IACUC, 1994).

Объектами фармакологических исследований явились циклические серосодержащие соединения ресинтезированные в лаборатории гетероциклических соединений под руководством члена корреспондента АН РТ, профессора Куканиева М.А. (таблица 1.).

Общая структура циклических производных представлена формулой



Где R – CH₂, R₂ – CH₃, R₃ – CH₃ – CH₂

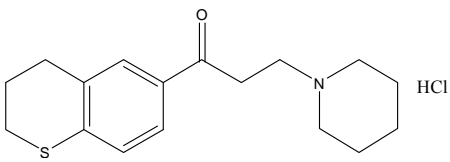
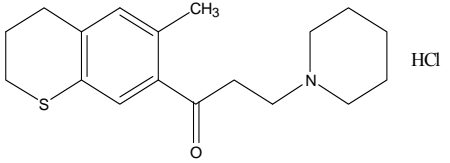
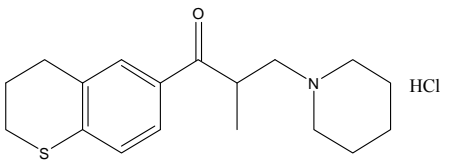
Изученные соединения представляют собой кристаллические порошки белого или жёлтоватого цвета, хорошо растворимые в воде и органических растворителях.

Проанализировав данные предварительных экспериментальных исследований циклических соединений, характер их общего действия, а также отсутствие систематически целенаправленных исследований, вскрывающие общие и частные вопросы взаимодействия серосодержащих производных с организмом человека и животных, мы сочли необходимым провести скрининг фармакологической активности испытуемых химических соединений. В ходе фармакологического скрининга нами были проведены эксперименты в следующих аспектах:

- 1) выявление общего действия и определение острой токсичности исследуемых соединений;
- 2) исследование их влияния на нервную систему;
- 3) определение влияния соединений:
 - а- на адренореактивные системы;
 - б-на холинореактивные системы;
 - в- антигистаминной активности;

- 4) изучение их действия на сердечно-сосудистую систему и внешнее дыхание;
- 5) исследование у испытуемых веществ миотропной спазмолитической активности;
 - 6) изучение влияния на функции печени и диурез;
 - 7) выявление местно-анестезирующей активности;
 - 8) изучение у соединений наличия противовоспалительных свойств;
 - 9) определение антиаритмической активности;
- 10) токсикологическая оценка наиболее активного вещества (определение влияния изучаемых веществ на состав периферической крови и патоморфологические исследования внутренних органов экспериментальных животных);
- 11) изучение антимикробной активности исследуемого соединения.

Таблица 1

Шифр	Брутто формула	Химическая структура	ЛД ₅₀ (в/бр., п/кож.)
AK-1	3-Piperidin-1-yl-1-thiochroman-6-yl-propan-1-one hydrochlorid C ₁₇ H ₂₄ NO ₂ Cl		125,0 ± 6,0 312,5 ± 7,9
AK-2	1-(6-Methyl-thiochroman-7-yl)-3-piperidin-1-yl-propan-1-one hydrochlorid C ₁₈ H ₂₆ NO ₂ Cl		150,0 ± 6,6 364,2 ± 8,7
AK-3	2-Methyl-3-piperidin-1-yl-1-thiochroman-6-yl-propan-1-one hydrochlorid C ₁₈ H ₂₆ NO ₂ Cl		110,0 ± 7,9 260,0 ± 5,7

Все цифровые данные, полученные в результате экспериментальных исследований, подвергнуты вариационно-статистической обработке в соответствии с требованиями, предъявляемыми к анализу фармакологического эксперимента с использованием критериев Стьюдента (И.А. Ойвин, 1960). Для каждого ряда результатов подсчитывали среднюю ошибку. При сравнении двух или нескольких средних рассчитывали среднюю групповую и её ошибку.

Результаты представлены в виде $M \pm m (n)$, где M – среднее арифметическое значение, m – средняя ошибка среднего арифметического, n – число наблюдений. Различия между средними значениями признавались достоверными, если $p \leq 0,05$.

Соединения исследовались внутрижелудочно, внутрибрюшинно, в виде аппликаций, внутривенно, внутримышечно, подкожно и в виде инстилляций, в виде 1-2% водного раствора.

Общее действие и острую токсичность циклических производных изучали на белых мышах (В.Г. Пашинский и соавт., 1978; Р.У. Хабриев, 2005). Острую токсичность (LD_{16} ; LD_{50} ; LD_{84}) рассчитывали по методу Кербера (М.Л. Беленький, 1963).

Эффективную дозу рассчитывали методом Б.М. Штабского (1980), основанного на зависимости эффекта от испытанных доз.

Учитывая имеющиеся литературные данные о действии циклических серосодержащих производных на организм, фармакологический скрининг мы решили начать с изучения воздействия наших соединений на нервную систему в экспериментах по определению их влияния на поведение и двигательную активность, терморегуляцию животных, снотворное действие и способность потенцировать эффекты барбитуратов, противосудорожную активность. (Н. Мухиддинов, 1980; А.В. Гулин, 1990; А.А. Саидов, 1998; Б.А. Ишанкулова, 1999; Н.А. Саидова, 2009).

Выявление влияния изучаемых соединений на поведение и двигательную активность мышей и крыс проводили на аппарате ДАЭР-20 после внутрибрюшинного введения исследуемых веществ в дозах 25-50 мг/кг. Актограммы регистрировались каждые 15 мин. в течение 30 мин. до введения и в течение 3 ч после введения изучаемых соединений.

При изучении действия веществ на терморегуляцию измеряли ректальную температуру животных при помощи термометра типа ТСМ-1 до и после внутрибрюшинного введения препаратов в дозе 25-50 мг/кг (В.В. Гацура, 1974).

Снотворное действие исследуемых препаратов оценивали по скорости развития и продолжительности сна, а также по способности потенцировать эффекты барбитуратов. Потенцирующее действие исследуемых веществ изучалось в дозах $\frac{1}{4}$ и $\frac{1}{2}$ LD_{50} самостоятельно не вызывающих видимых изменений.

Метод оценки противосудорожной активности изучаемых веществ основан на определении их влияния на судороги, вызываемые коразолом, стрихнином и никотином (Goodman L. et all, 1941, 1953; С.Х. Мусаэлян, 1944; В.В. Закусов, 1948, 1953, 1966; Berger F. et all., 1956; Koreloff et all., 1957). О противосудорожной способности исследуемых соединений, вводимых в $\frac{1}{4}$ LD_{50} внутрибрюшинно за 15 мин. до судорожного агента, судили по предупреждению судорог или удлинению времени до их наступления, по укорочению приступа и уменьшению количества летальных исходов.

Влияние соединений в дозах 1, 3, 5, 10 мг/кг при внутривенном введении на адренореактивные системы исследовали по их способности предотвращать прессорную реакцию адреналина (10 мг/кг в 1 мл дистиллированной воды), а также воздействовать на интенсивность сокращения 3-го века кошек.

Воздействие изучаемых веществ на холинореактивные системы определяли по их способности предупреждать сокращения языка наркотизированных животных на электростимул и спазм изолированного отрезка тонкой кишки кроликов и крыс на введение стандартной дозы ацетилхолина (0,3 мг/кг и 1×10^{-7} соответственно).

Антигистаминную активность циклических производных в концентрациях 1×10^{-6} ; 1×10^{-5} ; 1×10^{-4} исследовали на изолированных отрезках подвздошной кишки морских свинок воздействием стандартной дозы гистамина 1×10^{-6} .

Влияние изучаемых соединений на сердечно-сосудистую систему оценивали по показателям артериального давления и ЭКГ (В.И. Западнюк, И.П. Западнюк, 1983; В.Н. Орлов, 1983). Регистрацию артериального давления производили с помощью ртутного манометра Людвига, соединённого резиновой трубкой с канюлей, вставленной в одну из общих сонных артерий экспериментального животного. Дыхание записывали при помощи капсулы Маррея, соединённой с трахеей животного. Записи производили на закопчённой ленте кимографа. Изучение влияния препаратов на биоэлектрическую активность сердечной мышцы производили на наркотизированных кошках при внутривенном введении 1, 3, 5, 10 мг/кг с помощью электрокардиографа «Салют». ЭКГ регистрировали во втором стандартном отведении.

Изучение спазмолитического миотропного действия соединений проводили по методу Magnus-Shill на изолированных отрезках кишечника кроликов, крыс в условиях спонтанного сокращения и на фоне спазма, вызванного барием хлоридом 1×10^{-4} (М.Л. Беленький, 1972; Р. Блатнер и др., 1983). Соединения вводили в возрастающих концентрациях (1×10^{-7} ; 1×10^{-6} ; 1×10^{-5} ; 1×10^{-4} г/мл). Сокращения кишечника до и после введения соединения записывали на закопченной ленте кимографа. Показателем миолитического действия соединений служила их способность влиять на тонус спонтанных маятникообразных сокращений кишечника кролика, а также уменьшать или полностью снимать спазм кишечника, вызванный барием хлорида.

Внешнесекреторную функцию печени под влиянием изучаемых веществ, введенных внутривенно в дозе 5 мг/кг, исследовали по общепринятой методике, выведения канюлированного общего желчного протока.

Исследование влияния на диурез экспериментальных животных проводили методом выведения одного из мочеточников наружу (Л.Л. Васильев, И.А. Ветюков, 1961).

В ходе предварительных исследований было определено, что соединение АК-3 обладает наибольшим местно-анестезирующим действием при низкой токсичности.

Местно-анестезирующую активность изучаемого соединения исследовали в следующих направлениях:

- 1) поверхностная анестезия;
- 2) инфильтрационная анестезия;
- 3) проводниковая анестезия.

Поверхностно-анестезирующее действие исследуемых соединений на роговице глаза ненаркотизированных кроликов определяли по методу Regnier: инстиллировали в конъюнктивальный мешок соединение в 0,5; 1 и 2% концентрациях раствора. Об активности препаратов судили по индексу Валета – отношению концентрации контрольного раствора (дикаин) и опытного, вызывающих одинаковый поверхностно-анестезирующий эффект (Р.У. Хабриев, 2005). Кроме индекса Валета, определяли время наступления и длительность анестезии, а также наличие или отсутствие высушивающего влияния на роговицу, раздражающего влияния на конъюнктиву и действие соединений на величину зрачка.

Большинство местно-анестезирующих веществ применяют в комбинации с адреналином или другими препаратами, обладающими вазо-констрикторными свойствами, способствующими пролонгированию местного действия анестетиков (И.В. Веревкина и др., 1964; А.Н. Кудрин, А.И. Кост, 1964; Ю.И. Бернадский, 1987; С.Ф. Грицук, 1998; А.Г. Шаргородский, 2001). Циклические серосодержащие производные самостоятельным сосудосуживающим эффектом не обладают. Поэтому мы решили исследовать возможность комбинированного действия самого активного из исследованных соединений (АК-3) с адреналином. Соединение АК-3 исследовали в 1% концентрации с добавлением 0,1% раствора адреналина (2 капли адреналина на 10 мл раствора соединения). Растворы готовили *ex tempore*. Готовый раствор соединения инстиллировали в конъюнктивальный мешок с помощью глазной пипетки (2 капли). Определяли силу и длительность анестезии по методу Ренье – Валета.

Способность циклического серосодержащего соединения вызывать инфильтрационную анестезию изучали на ненаркотизированных кроликах при помощи «болевого» метода (В.В. Закусов, 1938; Р.У. Хабриев, 2005). Болевое раздражение наносили на кожу живота электрическим током при помощи электростимулятора ЭСЛ-2 с частотой 100 герц, длительностью импульсов 1,5 сек., с задержкой импульса 2 секунды. О наличии болевой реакции судили по регистрируемому на кимограмме изменениям дыхания. О времени наступления анестезии, ее глубине и длительности судили по изменению порога электрического раздражения участка кожи, инфильтрованного раствором испытуемого соединения. Глубину анестезии оценивали по пятибалльной системе, где

за один балл (+) принимали такую анестезию, которая соответствовала устранению реакции на пороговое раздражение. Повышение раздражения по сравнению с пороговой величиной раздражения на 5 V соответствовало двум баллам (++), на 10 V – трем баллам (+++) и т.д. Соединения вводились в 0,031%; 0,0625%; 0,125 % концентрациях раствора, в дозе 5 мл подкожно. Параллельно для сравнения исследовали инфльтрационно-анестезирующие свойства широко применяемого в медицинской практике новокаина.

Активность соединения при проводниковой анестезии изучали по методикам Н. Dale с соавторами (1936) и R. Domenjuz (1952) в модификации лаборатории на наркотизированных кошках. Соединения вводили в концентрации 0,0625% водного раствора.

Использование в экспериментах сокращений языка (методика Н. Dale и др.), а также образование кашлевого толчка (методика R. Domenjuz), которые фиксируются на кимограммах в качестве показателей наличия проведения импульса или отсутствия по двигательному (подъязычному) или чувствительному (верхнее-гортанному) нервам после нанесения на них пороговых раздражений, позволило нам отдельно определять время наступления и продолжительность эффекта прекращения проведения импульсов, как в отношении двигательного, так и чувствительного нервов.

Показателем проводниковой анестезии служило увеличение напряжения порогового раздражения, которое приводило к сокращению языка и образованию кашлевых толчков.

Противовоспалительные свойства веществ изучали на моделях формалинового отёка (Ф.П. Тринус и др., 1974). Воспалительный отек вызывали введением под плантарный апоневроз задней правой лапки крыс 0,1 мл 3,3% раствора формалина. Об интенсивности и динамике возникающего отека, судили по приросту объема лапки животного, определяемого плетизмометрически. 1% раствор исследуемых соединений вводили внутримышечно за 24 и 6 ч до вызывания отека. Контролем служило отсутствие увеличения объема лапки после введения 0,1 мл 0,85% раствора натрия хлорида. Контрольные и опытные плетизмометрические измерения проводили через 3, 6, 24, 72, 96 ч после введения формалина.

Учитывая то, что местные анестетики или их производные проявляют противоаритмические свойства (Н.Т. Прянишникова, 1957; А.Н. Кудрин, В.Г. Воробьев, 1970), было решено изучить наличие антиаритмической активности у самого активного из исследованных серосодержащих соединений. Аритмии вызывали внутривенным введением аконитина (0,07 мг/кг) и строфантина-К (0,07-0,12 мг/кг) у наркотизированных кошек. ЭКГ снимали во II стандартном отведении. Оценкой антиаритмической активности являлось восстановление синусового ритма.

Антимикробную активность изучаемых соединений исследовали в опытах методом серийных разведений.

Фармакологическую активность наиболее активного и наименее токсичного соединения сравнивали по соответствующему показателю действия лекарственных препаратов, широко применяемым в медицинской практике (новокаин, дикаин, фаликаин, гексенал, тиопентал натрия, этаминал натрия, сульфаниламиды, антибиотики, метиленовая синь, фурацилин).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

Выявление характера биологического действия исследуемых соединений и наличия у них физиологической активности было начато с изучения влияния серосодержащих соединений на поведенческие реакции и общее состояние животных. Визуальные наблюдения за изменением общего состояния животных, выявление различных симптомов развивающейся интоксикации позволяют определить общий характер действия испытуемых веществ и тем самым предопределить направление дальнейшего исследования. Целью последнего является выявление определенных сторон физиологического действия веществ, для чего используются специальные методы и схемы опытов. Наряду с выявлением общего характера действия исследуемых соединений, параллельно определялась их острая токсичность.

Определение острой токсичности является обязательным и первоначальным этапом физиологического скрининга для ресинтезированных веществ. С одной стороны, оно даёт представление о степени опасности применения исследуемого соединения в сравнении с другими изученными и применяемыми в практике препаратами, близкими по химической структуре и механизму действия. С другой стороны, высокая токсичность, особенно в тех случаях, когда её показатели недалеко отстоят от эффективно действующих доз, может поставить под сомнение возможность клинического их испытания и тем более применения данного вещества.

Общее действие и токсичность исследуемых соединений определяли на белых мышах (В.Г. Пашинский и соавт.,1973, Р.У. Хабриев, 2005). Вещества вводили в виде 1 – 2% водного раствора внутривенно в возрастающих дозах. Общим характерным для всех исследуемых циклических производных было угнетение двигательной активности и урежение дыхания при введении субтоксических доз (250 мг/кг). При введении летальных доз гибель мышей наступала от остановки дыхания на фоне судорог клонико-тонического характера.

В ходе проведения экспериментов было выяснено, что токсичность исследуемых соединений и изменения их структуры находятся в корреляционной зависимости. С увеличением радикала на одну метильную группу токсичность закономерно уменьшалась. Проведенные

опыты показали, что токсичность изученных соединений при внутрибрюшинном и подкожном путях введения находилась в пределах $110,0 \pm 7,9$ и $260,0 \pm 5,7$ мг/кг массы тела животных. В результате экспериментов было определено, что изучаемые циклические серосодержащие соединения являются соединениями с умеренной токсичностью. В ходе предварительного исследования также было установлено, что изучаемые соединения в различной степени обладали местно-анестезирующей активностью.

Наименее токсичным и наиболее активным соединением в процессе изучения, оказалось вещество АК-3 (2-Methyl-3-piperidin-1-yl-1-thiochroman-6-yl-propan-1-one hydrochlorid) (таблица 1).

Известно, что местные анестетики обладают нейротропностью, т.е. проявляют седативное, противосудорожное и гипотермическое действие (Е.Г. Скалина, 1950; В.И. Бабичев, 1957; 1965; А.Т. Бухтияров, 1960; К.Л. Матковский, 1961, 1964; К.С. Раевский, 1962; Н. Мухиддинов, 1982; А.В. Гулин, 1990 и др.), поэтому мы начали изучение наших соединений с воздействия на нервную систему в экспериментах по определению их влияния на поведение и двигательную активность, температуру тела животных, а также тестирования их на способность потенцировать действие барбитуратов. Опыты на белых крысах и мышях проводились при внутрибрюшинном введении изучаемых производных. Результаты исследований показали, что ни одно соединение в испытанных дозах не оказывало патологического воздействия на поведение, двигательную активность и температуру тела животных.

Биотрансформация чужеродных соединений может протекать либо по пути детоксикации, либо с образованием метаболитов, более токсичных, чем исходный продукт, что зависит от химического строения, физико-химических свойств, спектра биологического действия веществ, чувствительности к ним органов и тканей (К.М. Лакин, Ю.Ф. Крылов, 1981; В.Д. Лукьянчук, 1984). Потенцирующее действие исследуемых веществ изучалось нами в дозах $\frac{1}{4}$ и $\frac{1}{2}$ ЛД₅₀, самостоятельно не вызывающих видимых изменений.

Анализируя полученные данные о способности исследуемых веществ потенцировать снотворный эффект тиопентала натрия, можно заключить, что все соединения данной группы в различной степени обладали вышеназванной активностью. Из исследованных нами соединений наибольшим потенцирующим эффектом обладало соединение АК-1, у АК-3 этот эффект отсутствовал. С увеличением длины углеродной цепи соединений и изменением их структуры менялась быстрота наступления сна, укорачивалась его продолжительность.

В работе нами был использован метод оценки противосудорожного действия исследуемых веществ, на судороги вызываемые коразолом, стрихнином и никотином. Проведенные эксперименты показали, что ни одно из изучаемых веществ не обладало противосудорожным эффектом.

При оценке влияния испытуемых соединений на α -адренореактивные системы установлено, что изучаемые соединения не обладали адренолитическим и ганглиоблокирующим действием.

Влияние исследуемых соединений на периферические М-холинорецепторы изучали на наркотизированных кошках и на изолированных отрезках тонкой кишки кроликов и крыс. Полученные результаты наших экспериментов показали, что ни одно из исследуемых соединений не обладало М-холинолитическим действием.

Воздействие изучаемых веществ на Н-холинорецепторы поперечно-полосатой мускулатуры изучали по методике Н. Dale и др. (1936) на подъязычном нерве. В проведенных сериях экспериментов установлено, что изучаемые соединения даже в больших дозах (10 мг/кг массы тела животного) не влияли на амплитуду сокращений языка, возникающих в ответ на электростимуляцию ствола подъязычного нерва. Это свидетельствует об отсутствии у исследованных веществ курареподобного эффекта.

По данным литературы циклические соединения, содержащие серу, обладают антигистаминными свойствами (А.Н. Кудрин, В.Г. Воробьев, 1970; Э.Р. Уждавини, 1984). Исходя из этого, нами было изучено влияние исследуемых соединений на гистаминовый спазм. Проведенные исследования показали, что все соединения, даже в высоких концентрациях, не обладают антигистаминной активностью.

Изучение влияния наших веществ на артериальное давление, дыхание и биоэлектрическую активность сердца проводили в острых опытах на наркотизированных кошках. Проведенные исследования показали, что изучаемые вещества в испытанных дозах не оказывали существенного влияния на артериальное давление, дыхание и биоэлектрическую активность сердца экспериментальных животных. В аналогичных условиях нами изучалось влияние новокаина в дозах 1–5 мг/кг массы тела животного. Новокаин в дозе 1 мг/кг вызывал появление на ЭКГ двугорбого зубца R, а в дозе 5 мг/кг через 2 мин. наблюдалось уширение QRS, а у двугорбого зубца R уменьшалась его высота.

Миотропное действие у испытуемых соединений исследовали на изолированных отрезках тонкого кишечника кроликов и крыс в условиях спонтанного сокращения, а также на фоне спазмов кишечной мускулатуры, вызванных бария хлоридом в дозе 1×10^{-4} . В аналогичных условиях исследовали миотропное действие известного, широко применяемого в медицинской практике препарата папаверина. Проведенные исследования показали, что наиболее активное и наименее токсичное из изучаемых веществ, соединение АК-3 в концентрации 1×10^{-7} снимало спазм на 40%, в разведении 1×10^{-6} на 70–80% и в концентрации 1×10^{-4} полностью предупреждало эффект действия бария хлорида на изолированном отрезке тонкого кишечника животных. В этих же концентрациях вещество АК-3 уменьшало амплитуду маятникообразных сокращений отрезков тонкого кишечника кроликов.

Таким образом, способность соединения АК-3 угнетать спонтанные сокращения изолированного отрезка кишки кролика, а также снимать спазмы у изолированных отрезков тонкой кишки крыс, вызванных бария хлоридом, свидетельствует о присущей исследованному соединению миолитической активности. Миотропную спазмолитическую активность изучаемого вещества сравнивали с таковой препарата папаверина. Сравнение активности обоих соединений показало, что вещество АК-3 по силе спазмолитического действия не уступает папаверину.

Изучение влияния исследуемых соединений на экскреторную функцию печени и почек показало, что все соединения в дозе 5 мг/кг массы тела животного при их внутривенном введении не оказывали влияния на эти процессы.

Ранее было установлено, что некоторые исследуемые циклические производные обладают местно-анестезирующим свойством, сопоставимым с активностью препаратов, используемых в широкой медицинской практике. Это побудило нас более детально исследовать активность ряда циклических производных в отношении поверхностной, инфильтрационной и проводниковой анестезии. При предварительном скрининге нами было определено самое активное соединение – АК-3, поэтому все дальнейшие эксперименты проводились с данным соединением.

Проведенные испытания показали, что исследуемое соединение АК-3 в 0,5% растворе через 5,1 мин. вызывало 100% поверхностную анестезию длительностью $20,2 \pm 2,1$ мин.; в 1% растворе - через 3 мин. длительностью $29,3 \pm 1,3$ мин. и в 2% растворе – через 2,4 мин. длительностью $54,3 \pm 0,9$ мин. В ходе экспериментов было установлено, что сила анестезирующего эффекта соединения АК-3 по мере увеличения концентрации его растворов возрастала. Индекс анестезии 0,5% раствора составил – $607,3 \pm 4,4$; 1% раствора – $804,0 \pm 5,3$ и 2% раствора – $1348,1 \pm 6$. 0,5 и 1% растворы раздражающего влияния на конъюнктиву глаз кроликов не оказывали; 2% раствор вызывал слабое покраснение конъюнктивы только у белых кроликов, которое у серых не было выражено. По-видимому, белые кролики являются более чувствительными, чем серые. Вещество АК-3 в 0,5 и 1% концентрациях растворов высушивающего свойства на роговицу глаз кроликов также не оказало. Однако при использовании 2% растворов в некоторых экспериментах отмечалось высушивающее воздействие на роговицу опытных животных. На величину зрачка соединение в вышеуказанных концентрациях действия не проявляло.

Известно, что дикаин в 0,5% растворе вызывало 100% анестезию через 4 мин., длительностью $23,3 \pm 1,7$ мин., а в 2% растворе – через 2 мин. длительностью $57,0 \pm 1,3$ мин. Индекс анестезии, вызываемый 0,5% раствором дикаина, составил $657,0 \pm 35,7$, а 1% раствором – $837,0 \pm 56,9$ и 2% раствором – $1310,0 \pm 44,7$. В 0,5% концентрации раствора дикаин

вызывал слабое раздражение конъюнктивы, которое с увеличением концентрации усиливалось, особенно оно было выражено у белых кроликов. Высушивающее влияние на роговицу глаз кроликов возникало при применении 0,5% концентрации раствора дикаина, которое в более высоких концентрациях было выражено достаточно отчетливо. 1-2% растворы дикаина в экспериментах вызывали также незначительное сужение зрачков у опытных животных.

Сравнение активности анестезирующего эффекта исследуемого соединения АК-3 с дикаином и фалликаином по индексу Валета показало, что оно в 1% концентрации по силе и активности в 1,8-2,4 раза превосходит фалликаин, а в 2% концентрации близок к таковому раствору дикаина при равной силе анестезии.

Таблица 2

Показатели поверхностно-анестезирующего действия соединения АК-3, дикаина, фалликаина

Название препарата	Концентрация раствора, в %	Время наступления 100% анестезии, в мин.	Длительность анестезии, в мин.	Сила анестезии, индекс Ренье	Индекс Валета в сравнении с дикаином
АК-3	0,5	5,1± 0,3	20,2±2,1	607,3±4,4	0,92
АК-3	1,0	3,0 ±0,2	29,3±1,3	804,0±5,3	0,96
АК-3	2,0	2,4± 0,2	54,3±0,9	1348,1±6,1	1,03
Дикаин	0,5	4,0± 1,0	23,3±1,7	657,0±35,7	1,0
Дикаин	1,0	3,0± 0,2	33,0±3,3	837,0±56,9	1,0
Дикаин	2,0	2,0± 0,2	57,0±1,3	1310,0±44,7	1,0
Фалликаин лит. данные	0,5	-	-	300,1±54,6	0,34
Фалликаин лит. данные	1,0	11,0 ±1,0	-	589,7±29,9	0,51
Фалликаин лит. данные	2,0	-	-	507,7±24,4	0,32

$p \leq 0,05$

Из таблицы 2 видно, что в порядке убывания анестезирующей активности при поверхностной анестезии исследуемые вещества располагаются следующим образом: дикаин - АК-3 - фалликаин. Высокая активность соединения АК-3, вероятно, связана с его хорошим проникновением через липидные мембраны роговицы.

Нами также было установлено, что соединение АК-3 в 1% растворе с добавлением адреналина вызывал 100% анестезию через 6 мин. после введения, длительностью 51,8±3,7 мин.

Индекс анестезии 1% раствора вещества АК-3 с адреналином составил 1144,5±11,5. Соединение АК-3 в 1% концентрации раствора без

добавления адреналина вызывало 100% анестезию через 3 мин. после введения, длительностью $26,3 \pm 3,4$ мин. Индекс анестезии был равен $884,5 \pm 5,8$. Результаты проведенных экспериментов представлены в таблице 3.

Проведенные экспериментальные исследования показали, что при добавлении адреналина анестезирующий эффект соединения АК-3 в 1,9 раза удлиняется и в 1,4 раза увеличивается его сила.

Нами также была изучена инфильтрационно–анестезирующая активность вещества АК-3 в 0,031%; 0,0625%; 0,125% концентрациях раствора в сравнении с новокаином. Результаты экспериментов представлены в таблице 4.

Таблица 3

Влияние адреналина на длительность и силу поверх ностно-анестезирующего действия соединения АК-3

Шифр препарата	Концентрация раствора в %	Время наступления 100% анестезии в мин.	Длительность анестезии в мин.	Индекс Ренье
АК-3	1	3	$26,3 \pm 3,3$ ($23,0 \pm 29,6$)	$884,5 \pm 5,8$ ($879,7 \pm 895,3$)
АК-3 с добавлением адреналина	1	6	$51,8 \pm 3,7$ ($48,1 \pm 55,5$)	$1144,5 \pm 11,5$ $1133,0 \pm 1156,0$)

Таблица 4

Сравнительная характеристика соединения АК-3 и новокаина при инфильтрационной анестезии.

Шифр препарата	Концентрация (%)	Время наступления анестезии (мин.)	Длительность анестезии (мин.)	Сила анестезии (%) через 20 мин.
АК-3 (5 мл)	0,031	$3,0 \pm 0,0$	$55,0 \pm 3,0$ ($52,0-5,8$)	60
Новокаин (5 мл)	0,031	Не обладает	Не обладает	Отсутствует
АК-3 (5 мл)	0,0625	$3,0 \pm 0,0$	$93,0 \pm 5,3$ ($87,7-98,3$)	95
Новокаин (5 мл)	0,0625	Не обладает	Не обладает	Отсутствует
АК-3 (5 мл)	0,125	$3,0 \pm 0,0$	$133,0 \pm 6,0$ ($127,0-27,0 \pm 1,9$ ($21,8-32,2$))	140
Новокаин (5 мл)	0,125	$16,0 \pm 2,4$		60

Таким образом, проведенные эксперименты показали, что соединение АК-3 в 0,031% концентрации раствора вызывал анестезию через 3 мин. после введения, продолжительностью $55,0 \pm 3,0$ мин., характеризующуюся увеличением порога болевого раздражения на 60 мин. после введения исследуемого вещества. Соединение АК-3 в 0,0625% концентрации вызывал анестезию на 3-ей мин. длительностью $93,0 \pm 5,3$ мин. при силе анестезии 95%, а в концентрации раствора 0,125% после подкожного введения через 3 мин. наступает анестезия продолжительностью $133,0 \pm 6,0$ мин., при увеличении порога раздражения до 140%.

Новокаин в 0,031% и 0,0625% концентрации раствора в проведенных экспериментах анестезию не вызывал. Концентрация раствора 0,125% через 16 мин. после введения вызывала анестезию характеризующуюся увеличением порога болевого раздражения на 60% и длительностью $27,0 \pm 1,9$ мин.

Показатель глубины анестезии у исследуемого соединения АК-3 возрастал на 45-50% при увеличении концентрации вводимых растворов в 2 раза, при этом также увеличивалась продолжительность и сила вызываемой анестезии.

Изучаемое вещество АК-3 при инфльтрационной анестезии во всех исследованных концентрациях растворов превосходило новокаин по скорости наступления анестезии в 5 раз, по глубине анестезирующего действия в 2,5 раза и по длительности анестезирующего эффекта в 4,5 раза.

Способность исследуемого соединения АК-3 и новокаина вызывать проводниковую анестезию изучали по методам H.Dale с соавт. (1936) и R.Domenjoz (1952) в модификации лаборатории на наркотизированных кошках. Действие соединений в экспериментах исследовали в концентрации 0,0625% водного раствора.

Использование в экспериментах сокращений языка (методика H.Dale и др.), а также образования кашлевого толчка (методика R.Domenjoz), позволило нам отдельно определить время наступления и продолжительность эффекта прекращения проведения импульсов, как в отношении двигательного, так и чувствительного нервов.

Проведенные исследования, показали, что вещество АК-3 вызывало анестезию через 9,8 мин., продолжительностью $76,2 \pm 6,5$ мин. Новокаин в этой же концентрации раствора вызывал анестезию через $10,8 \pm 0,2$ мин., длительностью $13,2 \pm 0,8$ мин. Результаты проведенных экспериментов представлены в таблице 5.

Таблица 5

Сравнительная характеристика соединения АК-3 с новокаином при проводниковой анестезии на двигательном нерве.

Шифр препарата	Концентрация раствора (%)	Время наступления анестезии	Длительность анестезии (мин.)	ЛД ₅₀ мг/кг	
				Внутрибрюшинное введение	Подкожное введение
АК-3 5 мл	0,0625	9,8±0,3	76,2±6,5 (69,7-82,7)	350,0±3,6	850,0±9,4
Новокаин 5 мл	0,0625	10,8±0,2	13,2±0,8 (12,4-14,0)	196,7±7,1	503,4±8,7

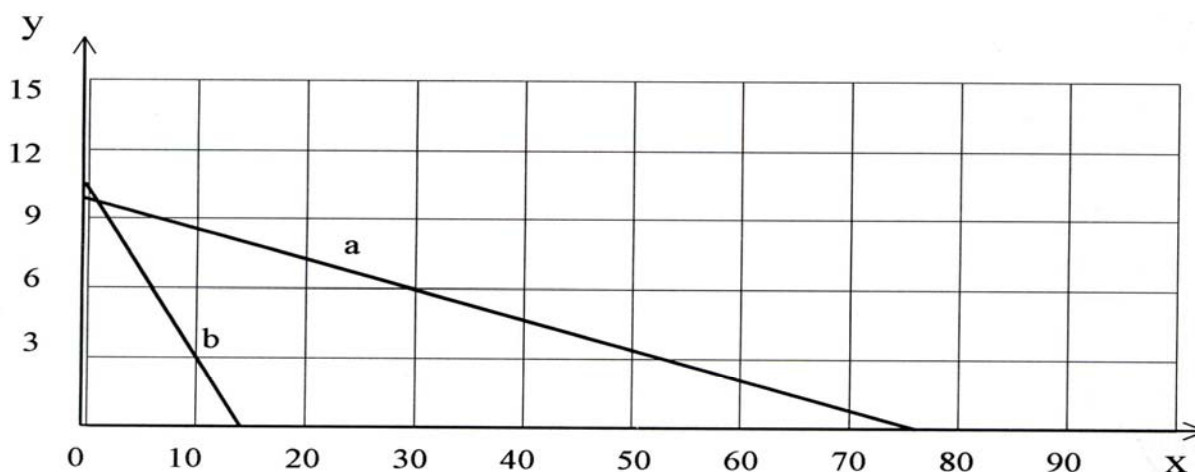
Как видно из полученных результатов, соединение АК-3 обладает более высокой проводниковой анестезирующей активностью на двигательном нерве, чем новокаин, превосходя его почти в 6 раз.

В ходе проведенных исследований нам представлялось интересным изучить влияние самого активного испытуемого нами соединения АК-3 на чувствительный нерв в сравнении с новокаином в 0,0625% концентрации. Результаты проведенных экспериментов представлены в таблице 6.

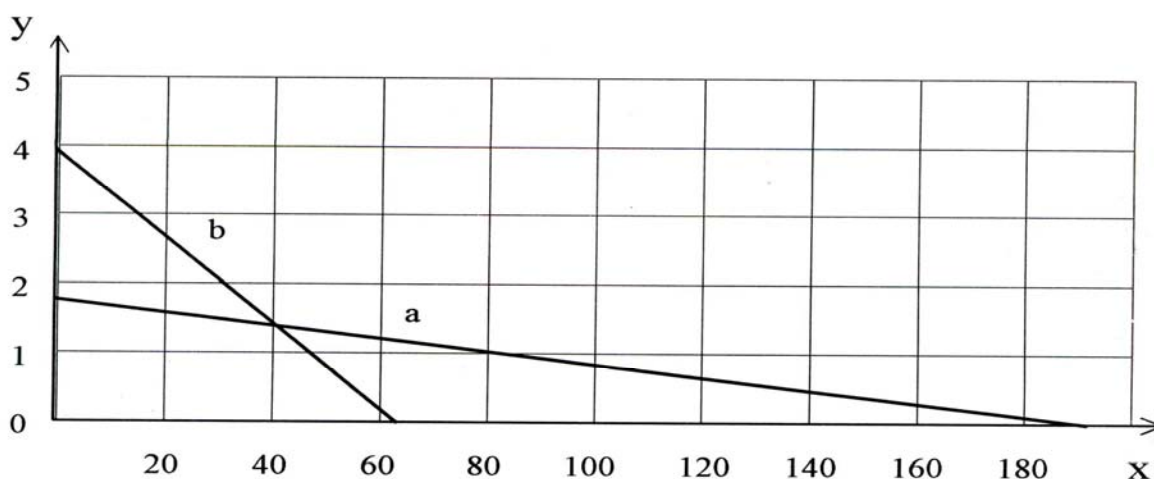
Таблица 6

Сравнительная оценка соединения АК-3 и новокаина при проводниковой анестезии на чувствительном нерве.

Шифр препарата	Концентрация раствора (%)	Время наступления анестезии (мин.)	Длительность анестезии (мин.)
АК-3 5 мл	0,0625	1,8±0,12	193,0±14,3 (178,7±207,3)
Новокаин 5 мл	0,0625	4,0±0,15	62,0±7,2 (54,8±69,2)



Определение анестезирующего эффекта на двигательном нерве.



Определение анестезирующего эффекта на чувствительном нерве.

Где: x – длительность анестезии (в мин);
 y – время наступления анестезии (в мин);
 а – АК-3;
 б – новокаин.

Рисунок 1. Определение анестезирующего эффекта новокаина и соединения АК-3.

Проведенные нами опыты показали, что соединение АК-3 вызывало анестезию через $1,8 \pm 0,12$ мин. длительностью $193,0 \pm 14,3$ мин., новокаин же в такой же дозе, вызывал проводниковую анестезию на 4-ой мин. и продолжительностью $62 \pm 7,2$ мин.

Таким образом, проведенные нами серии экспериментов показали, что вещество АК-3 в изученной концентрации и дозе, обладал высокой проводниковой анестезирующей активностью на чувствительном нерве, превосходя в 3 раза используемый в медицинской практике новокаин.

Учитывая, что новокаин обладает антиаритмической и противовоспалительной активностью, мы решили выяснить, обладает ли такими видами активности АК-3. Результаты исследований показали, что соединение АК-3 не обладает противовоспалительным действием, так как не предотвращает развитие отека, вызванного введением формалина. Антиаритмического эффекта также не было обнаружено, АК-3 не восстанавливало синусовый ритм, нарушенный воздействием аконитина и строфантина-К.

В хронических опытах исследуемое вещество АК-3 в дозах 25 и 50 мг/кг массы тела животного при подкожном и внутрибрюшинном путях введения существенного влияния на внутренние органы и периферическую кровь экспериментальных животных не оказывало. Морфологическая картина внутренних органов и картина крови экспериментальных животных практически не отличалась от таковых у интактных и контрольных.

Для медицинской практики наиболее важным является вопрос о практической пригодности изучаемых химических веществ. Наиболее полно на этот вопрос отвечает показатель широты фармакологического действия, определяемый в виде отношения экспериментально и статистически полученных величин ЛД₅₀ (летальная доза) к величине ЭД₅₀ (эффективная доза). Для характеристики широты фармакологического действия соединения АК-3 и новокаина мы экспериментально определили для них эффективные концентрации (ЭД₅₀) при проводниковой анестезии, летальные средние дозы (ЛД₅₀) и их индексы безопасности. Индекс безопасности определяли отношением ЛД₅₀ к ЭД₅₀. Все цифровые данные, полученные в ходе экспериментов, характеризующие широту фармакологического эффекта исследованного вещества АК-3 и новокаина, представлены в таблице 7.

Таблица 7

Широта фармакологического действия соединения АК-3 по отношению к новокаину при проводниковой анестезии.

Шифр препарата	ЛД ₅₀ (мг/кг)		ЭК ₅₀ (%)	К=ЛД ₅₀ /ЭК ₅₀	
	В/брюшин. введение	П/кожное введение		В/брюшин. введение	П/кожное введение
АК-3	350,0	850,0	0,21	4047	1666
Новокаин	196,0	509,0	0,33	1542	596

Сравнительное изучение широты фармакологического действия бициклического соединения АК-3 и новокаина показало, что исследованное вещество превосходит широко применяемое лекарственное средство в 2,5 раза.

В ходе исследования антимикробной активности серосодержащих производных было определено, что все они проявляют относительно слабую бактериостатическую и бактерицидную активность в отношении стафилококков, стрептококков, дипло- и тетракокков, синегнойной палочки, кишечной палочки, дизентерийных микробов Зонне и Флекснера, протей, сарцин.

Таким образом, проведенные разносторонние исследования показали, что сераорганические циклические производные являются малотоксичными соединениями, обладая при этом высокой физиологической активностью, и могут представлять интерес для практической медицины. В первую очередь это относится к веществу АК-3, которое не уступает по силе и длительности поверхностной анестезии дикаину, будучи значительно менее токсичным, а при инфильтрационной и проводниковой анестезиях превосходит новокаин.

Проведенные исследования указывают на перспективность дальнейшего углубленного изучения сераорганических циклических производных, а также необходимость представления имеющихся данных о наиболее перспективном соединении АК-3 в Фармакологический комитет МЗ РТ для получения разрешения на его испытания в условиях клиники.

ВЫВОДЫ:

1. В результате исследований экспериментально обосновано направление поиска новых фармакологически активных веществ среди сероорганических циклических производных, определена закономерность связи между структурой и физиологической активностью в ресинтезированном ряду химических соединений.
2. В ходе экспериментального разностороннего исследования ресинтезированных серосодержащих соединений дана полная физиологическая характеристика одному из циклических производных.
3. У исследованных ресинтезированных серосодержащих соединений установлено выраженная местно-анестезирующая и спазмолитическая активность.
4. Углубленные исследования соединения АК-3 показали, что оно обладает выраженной местно-анестезирующей активностью, сопоставимой с широко используемыми клиническими препаратами. Соединение АК-3 малотоксично, безвредно при длительном применении. Все материалы по экспериментальному изучению циклического серосодержащего производного (АК-3) обобщены и могут быть представлены в Фармакологический комитет МЗ ТР.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные данные расширяют знания о спектре биологической активности и механизме действия исследованных циклических серосодержащих производных, что позволяет лучше оценить их терапевтические возможности и нежелательные эффекты.
2. Определенная зависимость биологической активности от химического строения изученных веществ является необходимым условием для осуществления целенаправленного синтеза новых соединений, обладающих заданной фармакологической активностью.
3. Диссертационная работа послужит научно-методическим, справочным материалом для фармакологов и химиков-синтетиков, так как раскрывает пути для целенаправленного синтеза новых, менее токсичных, с заведомо известными свойствами циклических серосодержащих веществ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

1. Козихонов А.У., Рахимов И.Ф., Саидов А.А., Саидова Н.А., Хайдаров К.Х, «Фармакологический скрининг серосодержащих соединений».- «Здравоохранение Таджикистана», 2009 №3, с.207-209. Материалы второй Республиканской конференции «Здоровое питание - здоровая нация», с международным участием, Душанбе, 14 октября 2009 г. Приложение №1.
2. Козихонов А.У., Саидов А.А., Хайдаров К.Х., Рахимов И.Ф., Холов Д.К. «Фармакология некоторых серосодержащих соединений». -«Здравоохранение Таджикистана», 2009 №3, с. 221 -223. Материалы второй Республиканской конференции «Здоровое питание - здоровая нация», с международным участием, Душанбе, 14 октября 2009 г. Приложение №1.
3. Козихонов А.У., Рахимов И.Ф., Саидов А.А., Саидова Н.А. «Здоровье человека и поиск малотоксичных серосодержащих соединений». Материалы VI Нумановских чтений, 2009, Душанбе, с. 78-79.
4. Козихонов А.У. «Изучение биологически активных бициклических соединений». Материалы годичной научно-практической конференции молодых ученых и студентов ТГМУ имени Абуали ибни Сино, посвященный 20 летию независимости РТ, «Проблемы и достижения современной медицины», Душанбе, 2010, с. 101-103.
5. Козихонов А.У. «Фармакологическое изучение серосодержащих соединений». Материалы годичной научно-практической конференции с международным участием Таджикского медицинского университета имени Абуали ибни Сино, «Роль современной медицинской науки в оздоровлении общества», Душанбе, 2011, с.68-70.
6. Козихонов А.У., Хайдаров К.Х., Саидов А.А. Фармакологические свойства бициклических серосодержащих соединений. -Известия АН Республики Таджикистан. Отделение физ.-мат., хим., геол. и техн. наук, 2011, №2 (143), с.107-110.

Типография ТГМУ им. Абуали ибни Сино

*Подписано к печати 26.10.2011г. Формат 60/84^{1/16}
Бумага офсетная 80^г/м². Объём 1,5 п.л.
Тираж 100 экз. Заказ № 521.*