

УДК 615.224+616.117

ШЛЯХИ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ФІЗИЧНОЇ ТА РОЗУМОВОЇ ПРАЦЕЗДАТНОСТІ

Ходьков П.С., Кулик В.Б., Мазура С.О.

Київський національний університет технологій та дизайну, кафедра промислової фармації, м. Київ, Україна, e-mail: kulyk@biph.kiev.ua

В роботі теоретично обґрунтовано та експериментально доведено наявність актопротекторної та протигіпоксичної активностей у похідних 1,2,4-триазино-хіназоліну на моделях фізичної витривалості та гіпоксії у щурів, виявлено сполуку, конкурентоспроможну з відомим актопротектором бемітилом. За результатами досліджень у нормальних та ускладнених умовах доведено її перевагу над еталонним актопротектором. Вперше показано, що механізм актопротекторної активності сполуки похідної хіназоліну базується на спроможності сполуки стимулювати неспецифічний протеїнсинтез, попередженню патологічних змін в прооксидантно-антиоксидантній системі, покращенню енергозабезпечення м'язів а також раціональному використанні енергетичних запасів клітин.

Ключові слова: актопротекторна дія, бемітил, похідні хіназоліну, фізична витривалість тварин.

WAYS OF PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF PHYSICAL AND MIND WORKING

Khodkov P.S., Kulyk V.B., Mazura S.O.

Kyiv National University of Technologies and Design, Department of Industrial Pharmacy, Kyiv, Ukraine, e-mail: kulyk@biph.kiev.ua

The existence of actoprotective and antihypoxic activities in 1,2,4-triazino-quinazoline derivatives on the models of physical endurance and hypoxia in rats is theoretically substantiated and experimentally proved, and a compound that is competitive with the known actoprotector is found. According to the results of studies in normal and complicated conditions, it proved its superiority over the standard actoprotector. It has been shown for the first time that the mechanism of actoprotective activity of a quinazoline derivative compound is based on the compound's ability to stimulate nonspecific protein synthesis, prevent pathological changes in the prooxidant antioxidant system, improve muscle energy supply, and energy use.

Keywords: actoprotective action, boemityl, khinazoline derivatives, physical endurance of animals.

Мета дослідження: виявити наявність та охарактеризувати величину актопротекторного ефекту похідних 1,2,4-триазино-хіназоліну в нормальних та ускладнених умовах експерименту, оцінити перспективність сполуки для створення нового лікарського засобу, конкурентноспроможного з бемітилом.

Матеріали і методи дослідження.

В своїй основі базувались на комплексному підході з використанням фармакологічних, патофізіологічних, біохімічних та статистичних методів.

Результати дослідження.

На етапі проведення скринінгових досліджень встановлено, що похідним 1,2,4-триазино-хіназоліну притаманні актопротекторні властивості. На це вказувала здатність даних речовин, як і препарату порівняння бемітилу, підвищувати тривалість плавального тесту у нормо-, гіпо- та гіпертермічних умовах. При цьому найбільше за величиною підвищення фізичної витривалості щурів мало місце на тлі дії сполуки МТ-279 (5 мг/кг, в/оч). Під її впливом тривалість плавального тесту у нормо- ($t=24-26^{\circ}\text{C}$), гіпо- ($t=10-12^{\circ}\text{C}$) та гіпертермічних умовах ($t=38-39^{\circ}\text{C}$) зросла відповідно на 330,3%, 85,3%, та 444,1%. При цьому під дією бемітилу, взятому в оптимальній актопротекторній дозі 25 мг/кг в/оч [1] приріст фізичної витривалості в аналогічних умовах становив відповідно 41,6%, 23,5%, та 54,2%.

Решта досліджуваних сполук в заданих умовах експерименту поступались за ефективністю МТ-279 та бемітилу. Це дало підставу вважати МТ-279 сполукою лідером за величиною актопротекторного ефекту. В подальшому встановлено, що актопротекторна дія сполуки МТ-279, як і бемітилу, є дозозалежною. На підставі отриманих даних плавального тесту щурів в умовах нормотермії (вода $t=24-26^{\circ}\text{C}$), графічним методом за Литчфілдом-Уілкоксоном

(Лапач С.Н., 2002) розраховано ED_{50} сполуки МТ-279 та бемітилу, які становили відповідно 2,5 мг/кг, в/оч та 33,0 мг/кг, в/оч.

Співставляючи ці показники видно, що за величиною ED_{50} сполука МТ-279 в 13 разів переважає в активності еталонний актопротектор бемітил. Саме ці дози МТ-279 та бемітилу були використані в подальших експериментах.

Оскільки актопротектори головним чином використовуються в екстремальних умовах [2, 3], на наступному етапі досліджень представляло інтерес дослідити величину актопротекторного ефекту сполуки МТ-279 в порівнянні з бемітилом у ускладнених умовах експерименту.

В якості моделей дослідження обрано гемічну та циркуляторну гіпоксію, а також 15-денну гіпокінезію. Встановлено, що превентивне одноразове введення МТ-279 (2,5 мг/кг, в/оч), як і бемітилу (33,0 мг/кг, в/оч) щурам з гемічною гіпоксією, сприяло підвищенню фізичної витривалості тварин (рис. 1).

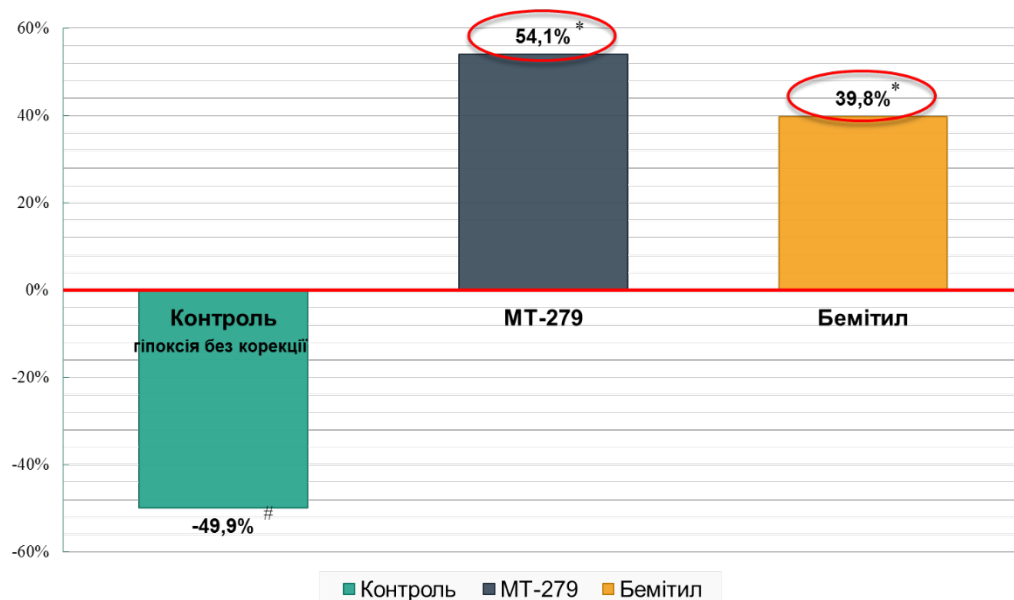


Рисунок 1. Вплив МТ-279 (2,5 мг/кг) та бемітилу (33,0 мг/кг) на тривалість плавального тесту у щурів з моделлю гемічної гіпоксії.

Примітки: 1) * – $p \leq 0,05$ відносно тварин контрольної групи;

2) # – $p \leq 0,05$ відносно інтактних тварин;

3) цифри на графіках позначають динаміку показників відносно інтактної (#) або контрольної (*) групи дослідження.

На це вказувало вірогідне зростання тривалості плавання щурів в заданих умовах експерименту відповідно на 54,1% та 39,8%, відносно контролю. Тобто сполука МТ-279, за ефективністю співставлялась з еталонним актопротектором.

Аналогічна картина зберігалась і на 15 день експерименту: під впливом сполуки МТ-279 та бемітилу тривалість плавального тесту тварин вірогідно збільшилась на 64,2% та 24,2% відповідно, відносно контрольної групи щурів. При цьому за ефективністю в обидва терміни дослідження МТ-279, не тільки не поступалась, а й вірогідно переважала бемітил ($p < 0,05$).

Актопротекторний вплив сполуки МТ-279, як і бемітилу на «гіпокінетичних» щурів чітко проявлявся зростанням фізичної витривалості у третбані. При цьому за ефективністю МТ-279 співставлялась з еталонним препаратом, як на 7, так і на 15-ту добу експерименту. В той же час, за здатністю відновлювати динамічну витривалість «гіпокінетичних» щурів сполука МТ-279 вірогідно переважала еталонний актопротектор за плавальним тестом, співставляючись з ним, за результатами бігу тварин у третбані.

Отже отримані дані вказують на спроможність МТ-279, як і бемітилу, відновлювати фізичну виносливність щурів в умовах 15-деної гіпокінезії. Оскільки тривала гіпокінезія являється стресовим фактором для тварин [4] на підставі отриманих даних можна вважати, що сполуці МТ-279 притаманна стреспротективна дія. Таке припущення узгоджується з даними літератури про наявність у похідних хіназоліну антистресової дії [5].

Захисна дія МТ-279, як і бемітилу, на стресованих ГК тварин знайшла підтвердження при дослідженні їх впливу на показники рухової активності та на показники емоційно-поведінкових реакцій «гіпокінетичних» тварин у «відкритому полі». Проведене дослідження показало, що тривала ГК у контрольної групи уже на 7-й день експерименту супроводжувалась зниженням рухової та дослідницької активності тварин.

На це вказувало зниження кількості вертикальних та горизонтальних рухів

щурів (відповідно на 34% та 48,5%) та зменшення кількості зазирань в нірки на 56% відносно інтактних тварин. Разом з тим у контрольних щурів в зазначений період експерименту мало місце наростання стресових реакцій, свідченням чого були збільшення кількості актів дефекації та грумінгу відповідно на 200% та 350%.

В подальшому, на 15 день дослідження, у контрольних щурів ГК ще в більшій мірі, ніж на 7-й день експерименту, пригнічувала всі поведінкові характеристики тварин. На це вказувало подальше зменшення горизонтальної, вертикальної та дослідницької активностей. Кількість дефекацій та грумінгу в цей період експерименту істотно не змінилась відносно попереднього терміну досліджень.

Отримані дані щодо впливу тривалої ГК у щурів на рухові та дослідницькі реакції цілком узгоджуються із літературними даними про стрес-опосередковану поведінку тварин у даних умовах експерименту [6, 7]. Збільшення грумінгу та підвищення частоти актів дефекацій у щурів, згідно з даними літератури [8] свідчить про зростання емоційної напруги у тварин або їх підвищену «емоційність».

В той же час ведення тваринам упродовж всього експерименту сполуки МТ-279, так само як і бемітилу, супроводжувалось, перш за все, збільшенням рухової активності щурів в умовах тривалої ГК. Це було помітно вже на 7 добу експерименту, коли кількість горизонтальних рухів збільшилась, відповідно, на 48,5% та 45,5%, а вертикальна – відповідно, на 79,4% та 71% відносно контролю. Водночас в зазначені терміни експерименту під дією сполуки МТ-279, як і бемітилу, мало місце підвищення пошукової активності тварин відповідно на 79,5% та 76,0% відносно контрольної групи тварин. При цьому за ефективністю сполука МТ-279 практично співставлялась з еталонним актопротектором. Разом з цим під впливом МТ-279, подібно до бемітилу, спостерігалось зниження кількості актів дефекації (відповідно на 70% та 12,1%) та грумінгу (відповідно на 64% та 25%) відносно контрольної групи, що згідно з даними літератури [7] може

бути ознакою зменшення проявів стресової реакції. При цьому за ефективністю, на 7-му добу дослідження, сполука МТ-279 вірогідно переважала бемітил. На 15 добу експерименту під впливом МТ-279, як і бемітилу, мало місце подальше зростання рухової та дослідницької активності тварин в умовах тривалої ГК порівняно з щурами контрольної групи. При цьому за спроможністю посилювати рухову активність сполука МТ-279 співставлялась з бемітилом, поступаючись еталонному актопротектору в здатності підвищувати дослідницькі реакції в заданих умовах експерименту: кількість зазирань в нірки в даний термін дослідження зростає відносно контрольної групи тварин на 109,0% та 189,4% відповідно.

Актопротекторний вплив сполуки МТ-279, як і бемітилу, на показники фізичної виносливості стресованих гіпокінезією щурів, співставляється із позитивною змінами морфологічної картини печінки, скелетних м'язів, наднирників, серця та нирок тварин. Результати морфологічного аналізу змін органів у «гіпокінетичних» щурів засвідчили, що сполука МТ-279, так само, як і бемітил, проявляє чітку протекторну дію на морфологічні структури досліджуваних органів, сприяючи активації ендотеліо-протекторної та білоксинтезуючої (гіпертрофовані клітини) функцій, що призводило до послаблення деструктивних та дегенеративних змін органів, та сприяло оптимізації адаптаційних процесів, що розвиваються у щурів на тлі 15-денної гіпокінезії. При цьому ефективність бемітилу в заданих умовах експерименту цілком узгоджується з даними інших дослідників [7].

В подальших дослідженнях встановлено, що механізми актопротекторного ефекту сполуки МТ-279, як і бемітилу, в певній мірі, обумовлені їх нормалізуючим впливом на перебіг біохімічних процесів в печінці, крові та скелетній мускулатурі. Також показано, що в умовах тривалих фізичних навантажень щурів бігом у третбані під дією МТ-279 так само, як і бемітилу, в протилежність тваринам контрольної групи, спостерігалось підвищення вмісту АТФ (відповідно на 45% і 37,5%, $p > 0,05$), при деякому зниженні концентрації

АДФ і АМФ, що сприяло зростанню величини енергетичного заряду, відносно контролю. Водночас встановлено, що МТ-279, подібно бемітилу, проявляло виражений гальмівний вплив на інтенсивність процесів ПОЛ, на що вказувало вірогідне зниження в скелетних м'язах вмісту МДА відповідно на 60,5% і 55%, відносно контролю.

Рівень відновленого глутатіону при цьому мав тенденцію до зростання відповідно на 26,8% і 20,5% відносно контролю ($p > 0,05$). Зазначені зміни показників прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, викликані МТ-279 і бемітилом, на тлі фізичних навантажень можна розцінити, як їх здатність блокувати активовані процеси ліпопероксидації, як одного з факторів, що лімітують фізичну витривалість організму [6]. Також в ході дослідження встановлено, що курсове введення в організм щурів МТ-279, як і бемітилу, стимулює синтез РНК і ДНК. Під впливом зазначених речовин рівень РНК в печінці тренуваних тварин достовірно збільшився відповідно на 30,3% і 35,1%, а ДНК відповідно на 28,0% та 20,5% відносно контролю. Разом з цим на тлі дії МТ-279, як і бемітилу, у тренуваних щурів мало місце вірогідне зниження в крові концентрації молочної кислоти (відповідно на 65,7% і 54,2% щодо контролю) при одночасному зменшенні рівня пірувату. Це супроводжувалося зниженням величини показника співвідношення лактат/піруват, що, згідно з даними літератури [6] можна розцінити як властивість обох досліджуваних речовин активувати аеробні процеси і своєчасно утилізувати лактат.

Поряд із зазначеними змінами у щурів контрольної групи на тлі інтенсивних дозованих тренувань мало місце зростання рівня ліпідемії: кількість ліпідів в крові достовірно збільшувалась, відносно інтактних тварин, на 71,9%, що за умови збереження вуглеводного резерву може свідчити про ранню активізацію додаткового джерела енергії шляхом β -окислення вільних жирних кислот [5].

Вміст загальних ліпідів в сироватці крові тварин на фоні МТ-279, як і бемітилу, достовірно знизився щодо контролю на 24,6% і 25,6% відповідно (у

контрольних тварин мало місце зростання цього показника на 71,9%). Такі зміни, можуть бути свідченням здатності досліджуваних речовин використовувати ще одне джерело енергії для забезпечення м'язової діяльності - активний ліполіз. Відомо, що в процесі фізичних тренувань відбувається деяка перебудова в енергозабезпеченні м'язів: на тлі зростання окислення вільних жирних кислот зменшується окислення вуглеводів. Тому виявлені нами зміни в енергетичному забезпеченні під впливом МТ-279, як і бемітилу, згідно з даними літератури [7] можуть бути розцінені, як властивість економізувати вуглеводні резерви, що відображає загальні принципи адаптації організму в умовах підвищених фізичних навантажень. Слід зазначити, що статистично вірогідної різниці між біохімічними показниками в групах тварин, які отримували сполуку МТ-279 та бемітил, не встановлено ($p > 0,05$).

Таким чином, отримані дані дозволяють припустити, що можливий механізм актопротекторної дії сполуки МТ-279, аналогічний еталонному актопротектору і полягає в посиленні протеїн-синтезу (зростання рівня РНК) та синтезу білків-ферментів, які забезпечують позитивні метаболічні зрушення при інтенсивних фізичних навантаженнях. Перш за все, це стосується ослаблення дисбалансу аденілових нуклеотидів в скелетних м'язах, стабілізації в них процесів ПОЛ і посилення антиоксидантного захисту, економного витрачання енергетичних ресурсів за рахунок збільшення рівня глікогену в печінці і працюючих скелетних м'язах, активізації ліполізу і кращої утилізації лактату. Водночас результати досліджень свідчать, що позитивна перебудова метаболічних процесів в організмі щурів на тлі дії МТ-279, як і бемітилу, відбувалася за рахунок посилення аеробних процесів, активації ліполізу, антиоксидантного захисту та протеїнсинтезу.

Властивість швидко відновлювати фізичну працездатність під впливом сполуки МТ-279, як і бемітилу, знайшла підтвердження і при дослідженні витривалості щурів після субмаксимального навантаження. Так, під впливом сполуки МТ-279 уже на 2 год приріст показника працездатності склав 132,3%, в

подальшому (4, 8, 24 та 48 год) дана тенденція залишилася, а показники фізичної витривалості зросли відповідно на 144,2%; 134,1%; 124,6% та 121,2%, відносно початкового рівня. При цьому слід зазначити, що за ефективністю сполука МТ-279 співставлялась з еталонним актопротектором на усіх інтервалах дослідження, за винятком 8 год спостереження, коли вона вірогідно переважала бемітил. Таким чином встановлено, що досліджувана сполука МТ-279, як і бемітил, сприяє більш швидкому відновленню показників фізичної працездатності тварин, у заданих умовах експерименту.

Отже, за результатами проведених досліджень можна зробити заключення, що похідним 1,2,4-триазино-хіназоліну, як і бемітилу, притаманна виражена актопротекторна дія, яка в найбільшій мірі проявилась під впливом натрієвої солі 3-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) пропанової кислоти (сполука МТ-279). При цьому, за спроможністю підвищувати фізичну витривалість організму вказана сполука співставлялась, а в більшості досліджень переважала еталонний актопротектор як в звичайних, так і в ускладнених умовах експерименту.

Отримані результати дають підставу вважати натрієву сіль 3-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) пропанової кислоти (сполука МТ-279) перспективною речовиною для подальшого поглибленого вивчення її фармакологічних властивостей та безпечності, на предмет її придатності для створення нового вітчизняного актопротектора, конкурентоспроможного з бемітилом.

Висновки.

1. В роботі обґрунтовано теоретично та доведено експериментально доцільність використання похідних 1,2,4-триазино-хіназоліну для підвищення фізичної витривалості організму у звичайних та ускладнених умовах, а також прискорення процесів відновлення працездатності.

2. Превентивне одноразове введення щурам в умовах гемічної гіпоксії

MT-279(2,5 мг/кг, в/оч), як і бемітилу (33,0 мг/кг, в/оч), сприяє вірогідному зростанню фізичної витривалості тварин (плавальний тест) відповідно на 54,1% та 39,8%, відносно контролю.

3. Курсове 15-денне введення щурам з модельованою циркуляторною гіпоксією мозку MT-279, як і бемітилу, сприяє вірогідному зростанню статичної (відповідно на 127,0% та 73,9%) та динамічної (плавальний тест – 73,4% та 63,9% відповідно) витривалості тварин.

4. Курсове 15-денне введення стресованим гіпокінезією щурам сполуки MT-279, (2,5 мг/кг в/оч) так само, як і бемітилу (33,0 мг/кг в/оч), стимулювало підвищення фізичної працездатності (плавальний тест, біг у третбані, утримування на стрижні, що обертається), а також поліпшувало рухову, орієнтувальну-дослідницьку та знижувало рівень емоціональної напруги відносно контролю.

5. Одноразове введення щурам MT-279, після первинного субмаксимального навантаження сприяє значному зростанню тривалості плавання тварин при повторному навантаженні (на 2 год приріст показника працездатності склав 132,3%, в подальшому (на 4, 8, 24 та 48 год) дана тенденція зберігалась, а показники фізичної витривалості зросли відповідно на 144,2%, 134,1%, 124,6% та 121,2%, відносно початкового рівня, у відповідні періоди експерименту).

6. Механізм актопротекторної дії сполуки MT-279 пов'язаний з наявністю у неї протигіпоксичного (протиішемічного) ефекту, спроможністю стимулювати неспецифічний протеїнсинтез (РНК) в печінці, посилювати енергозабезпечення працюючих м'язів (вміст АТФ вірогідно збільшився на 45,0%), попереджати негативні зміни у прооксидантно-антиоксидантному гомеостазі (рівень МДА у м'язах вірогідно зменшився на 60,5%, вміст відновленого глутатіону зріс на 26,8% відносно контролю).

Список літератури.

1. Salvador A. Lack of effects of anabolic-androgenic steroids on locomotor activity in intact male mice / A. Salvador, L. Moya-Albiol, S. Martínez-Sanchis, V.M. Simón // *Percept Mot Skills*. - 1999 - № 88 (1). – P. 319-328.
2. Schneider S.M. Wise-2005: exercise and nutrition countermeasures for upright VO_2pk during bed rest / Schneider S.M., Lee S.M.C., MacIas B.R. et al. // *Medicine and Science in Sports and Exercise*. – 2009. – Vol.41, issue12. – P. 2165–2176.
3. Stoehr A. Rehabilitation and Return to Sports. In *Anterior Cruciate Ligament Reconstruction* / Stoehr A., Mayr, H., Wondrasch B., & Fink, C. // Springer Berlin Heidelberg. – 2014. - С. 477-487.
4. Tsai I.L. Metabolomic Dynamic Analysis of Hypoxia in MDA-MB-231 and the Comparison with Inferred Metabolites from Transcriptomics Data. / Tsai I.L., Kuo T.C., Ho T.J. [et all] // *Cancers (Basel)*. – 2013. – Т.35. - № 2. – С.491-510.
5. Unthank J.L. Molecular basis for impaired collateral artery growth in the spontaneously hypertensive rat: insight from microarray analysis. / Unthank J.L., McClintick J.N., Labarrere C.A. *Physiological reports*. - 2013. - Т.1, №2. - С.1-21.
6. Victoria N.C. Analgesia for early-life pain prevents deficits in adult anxiety and stress in rats. / Victoria N.C., Karom M.C., Murphy A.Z. // *Developmental Neuroscience*. – 2014. - №12.- С.45-57.
7. Voskresensky O.N. Anti-stress effects regulator mechanisms of plant adaptogens / O.N. Voskresensky, A.P. Levitsky, O.I. et al. // *Актуальні питання тканинної терапії та перспективи застосування природних біологічно активних речовин у сучасній медицині: наук.-практ. конф., 17-18 вересня 2003 р.:тези доп.* - Одеса, 2003. - С. 14.
8. Yance D. R. *Adaptogens in medical herbalism: elite herbs and natural compounds for mastering stress, aging, and chronic disease.* /Yance D. R. // Inner Traditions, Bear & Co.- 2013. 672p.