

УДК 612.821

¹И.Ж. Байболсынова, ²И.С. Колбай, ³А.Т. Канаев*, ¹А.Т.Оразова¹РГП «Центральная лаборатория биоконтроля, сертификации и предклинических испытаний» КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы²АО «Международный университет информационных технологий» Казахстан, г. Алматы³Казахский национальный педагогический университет им. Абая, Казахстан, г. Алматы

*e-mail: ashim1959@mail.ru

Изучение спазмолитического действия и токсичности субстанции на=323 – производного пиперидина

В экспериментах на крысах и мышах изучены спазмолитическая активность, острая и хроническая токсичность комплекса включения оксалата 1-(2-этоксиэтил)-4-(гексин-1-ил)-4-пропионил-оксипиперидина – субстанции НА-323. Установлена выраженная спазмолитическая активность этой субстанции, выразившаяся в подавлении вызванного ацетилхолином тонического ответа отрезка тонкой кишки. В проведенных опытах выявлено, что субстанция НА-323 не обладает острой и хронической токсичностью в дозах 1,0, 10,0 и 50,0 мг/кг.

Ключевые слова: мыши, крысы, эксперимент, спазмолитическая активность, острая и хроническая токсичность.

И.Ж. Байболсынова, И.С. Колбай, А.Т. Канаев, А.Т. Оразова

НА+323 субстансиясы – пиперидин туындысының спазмолитикалық белсенділігін және ұйылығаштың зерттеуі

Тышқандар мен егеуқұйрықтарға жасалған тәжірибелерде 1-(2-этоксиэтил)-4-(гексин-1-ил)-4-пропионил-оксипиперидин оксалатының қосынды қоспасының өткір және созылмалы уланғыштығының спазмолитикалық белсенділігі зерттеулер барысындағы мәліметтер келтірілген. НА-323 субстансиясының спазмолитикалық белсенділігін кесілген аш ішекке ацетилхолинді енгізу арқылы жауабын анықтады. Жүргізілген тәжірибе барысында НА-323 субстансия өткір уланғыштық қасиеті 1,0,10,0 и 50 мг/кг салмақ көлемінде байқалмайтындығы анықталды.

Түйін сөздер: тышқан, егеуқұйрық, тәжірибе, спазмолитикалық белсенділік, өткір және созылмалы уланғыштық.

Baibolsynova, I.S. Kolbay, A.T. Kanaev, A.T. Orazova

The study of spasmolytic activity, acute and chronic toxicity of piperidine derivative – NA-323 substance

In experiments on rats and mice the spasmolytic activity, acute and chronic toxicity of including complex of oxalate 1-(2-etoxyetil)-4-(hexine-1-il)-4-propionil-oxipiperidine derivate – NA-323 substance were investigated. It was established the pronounced spasmolytic activity of this substance, which is expressed in suppression of acetylcholine-induced tonic contraction of a gut segment. In experiments it was shown an absence of acute and chronic toxicity of NA-323 substance in the doses of 1,0,10,0 and 50 mg/kg

Key words: mice, rats, experiment, spasmolytic activity, acute and chronic toxicity.

Современные достижения биомедицинской науки создали предпосылки для разработки принципиально новых подходов к диагностике и профилактике социально значимых заболеваний человека и разработки оригинальных, высокоэффективных лекарственных препаратов, со сниженной токсичностью. Применение данной стратегии существенно повысит качество жизни

пациентов, принесет значительный экономический эффект, снижая контингент тяжелых больных, требующих, как известно, более затратных методов и средств лечения. Одной из распространенных проблем современной жизни человека является болевой синдром различной этиологии, но наиболее часто связанный со спазмом, вызванным неконтролируемым сокращением

гладкой мускулатуры. Устранение таких нарушений достигается применением специфических спазмолитических препаратов [1].

Среди органических соединений, используемых для синтеза новых обладающих спазмолитической активностью, препаратов, большой интерес представляют производные пиперидина. Они являются продуктами восстановления пиридина и обладают низкой токсичностью, поскольку пиридин входит в состав многих природных комплексов (витаминов РР, пиридоксина, никотина и др.). Пиперидиновое кольцо является настолько универсальным, что позволяет синтезировать вещества с повышенной специфической активностью.

В лаборатории химии синтетических и природных соединений АО «Институт химических наук им. А.Б.Бектурова» был получен ряд гомологов отечественного анестетика и антиаритмика казкаина [2]. Было показано, что 4-алкинилпиперидолы обладают широким спектром фармакологического действия: среди них были найдены вещества, обладающие анальгетической и спазмолитической активностью. Несмотря на то, что 1-(2-этоксиэтил)-4-алкинилпиперидолы-4 являются гомологами местного анестетика и антиаритмика казкаина, им присуще высокая анальгетическая активность [3-5].

Каталитическое гидрирование тройной связи до простой привело наряду с увеличением обезболивающей активности к определенному росту токсического эффекта, однако следует отметить, что при этом острая токсичность 4-алкилпиперидолов-4 была ниже токсичности препарата сравнения трамала [6-9].

Кроме того, замена алкинильного заместителя при C_4 пиперидинового кольца на алкильный не только способствовало сохранению спазмолитического действия, но появлению у 1-(2-этоксиэтил)-4-алкилпиперидолов-4 антибактериальной, в том числе и противотуберкулезной активности [7].

Особого внимания заслуживает НА-323 – комплекс включения оксалата 1-(2-этоксиэтил)-4-гексил-4-пропиониллоксипиперидина, обладающий спазмолитической и иммуностимулирующей активностью [8,9], при этом острая токсичность его составляла 210 мг/кг. Кроме того, выявлено, что в ряду сложных эфиров 4-алкил-

пиперидолов-4 препарат НА-323 обладает наивысшей спазмолитической активностью.

Цель исследования: Изучение спазмолитической активности, острой и хронической токсичности субстанции пиперидина НА-323.

Материал и методы исследования

Для исследований были взяты следующие лабораторные животные: белые беспородные крысы ($n=18$) обоего пола массой 180-220 г., а также лабораторные мыши ($n=114$) массой 18-27 г. Контрольные и подопытные животные были одного возраста и получены одновременно из одного питомника. Клинически здоровые животные содержались на общевиварном рационе.

Спазмолитическую активность субстанции НА-323 исследовали с использованием отрезка тонкой кишки крыс длиной $2,8 \pm 0,1$ см, очищенного от содержимого и соединительной ткани. Исследование проводили в термостатируемой кювете, заполненной раствором Тироде в объеме 50 мл при $t^\circ = 37^\circ C$, с фоторегистрацией сократительного ответа. Один конец фрагмента кишки фиксировали неподвижно на крючке. Первоначально регистрировали сократительный ответ кишки при добавлении в кювету известного спастического вещества – раствора ацетилхолина в концентрации 10^{-8} – $10^{-4} M$ и записывали степень сокращения кишки. После отмывания кишки от спастического вещества и замены раствора Тироде на свежий раствор, в кювету добавляли субстанцию НА-323 и на его фоне вводили эталонное спастическое вещество.

Для изучения **острой токсичности** субстанции НА-323 были отобраны 3-х месячные мыши, которым однократно внутрибрюшинно вводили исследуемую субстанцию НА-323 в объеме 0,2 мл из расчета 1,0, 10,0 и 50,0 мг/кг массы тела.

Визуальное наблюдение за подопытными животными осуществляли через 10 минут, через 24 часа и через 48 часов после введения препарата. По окончании эксперимента всех мышей наркотизировали эфиром и вскрывали с целью патологоанатомического исследования.

При изучении **хронической токсичности** подопытных мышей распределяли по двум пластмассовым клеткам. Каждую мышшь маркировали с помощью стойкого красителя (спиртовой раствор пикриновой кислоты). Субстанцию НА-323 вводили один раз в неделю внутрибрюшинно в объеме 0,2 мл из расчета 10 мг/кг массы тела в течение 23 дней. В течение эксперимента

подопытных мышей периодически взвешивали. Животные, павшие (по иным причинам) в течение эксперимента подвергались вскрытию с целью постановки патологоанатомического диагноза.

По прошествии 23 дней, всех оставшихся животных усыпляли с помощью эфира, вскрывали с целью общего патологоанатомического исследования и брали пробы крови для анализа.

В проведенных исследованиях для сравнения мы также брали пробы крови у контрольных животных.

Результаты исследований

В проведенных опытах показано, что в контрольных условиях добавление в среду инкубации раствора ацетилхолина в дозе 10^{-4} М вызывает дозозависимый стойкий тонический ответ отрезка кишки на $62,4 \pm 3,7\%$. После отмывания кишки и замены раствора Тироде на новый, добавления в среду инкубации субстанции НА-323 в концентрации, эквивалентной дозам 1,0 и 10,0 мг/кг, вызывало также дозозависимое незначительное снижение тонического напряжения отрезка кишки (на $1,7 \pm 0,1\%$ и $2,8 \pm 0,1\%$, соответственно), что выражалось в некотором удлинении отрезка кишки. Введение раствора ацетилхолина в концентрации 10^{-4} М на фоне действия концентрации НА-323, эквивалентной дозе 1,0 мг/кг, вызывало достоверно меньший тонический ответ отрезка кишки – на $9,1 \pm 0,6\%$, а на фоне действия концентрации НА-323, эквивалентной дозе 10,0 мг/кг – на $0,7 \pm 0,1\%$, т.е. НА-323 в дозе 10 мг/кг практически полностью подавлял действие ацетилхолина (рисунок 1).

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о выраженной спазмолитической активности субстанции НА-323.

При изучении острой токсичности субстанции НА-323 в течение первых десяти минут после внутрибрюшинного введения субстанции НА-323 разных концентраций (1,0, 10,0 и 50,0 мг/кг массы тела) у всех подопытных животных не обнаруживались изменения в поведении. Мыши всех трёх групп характеризовались бодрым общим состоянием и активно реагировали на внешние раздражители.

Через 24 часа после введения двух первых концентраций субстанции НА-323, видимые изменения в поведении мышей также отсутствовали. Все животные характеризовались бодрым общим состоянием, активно реагиро-

вали на внешние раздражители, имели гладкую блестящую шерсть, в обычных количествах потребляли корм и воду. Можно было отметить определенную вялость у мышей, получавших максимальную из использованных доз.

Через 48 часов после введения препарата у подопытных животных всех трех групп также видимых изменений в поведении и внешнем виде обнаружено не было.

Эти данные позволяют констатировать отсутствие острой токсичности субстанции НА-323.

Данные, полученные при изучении хронической токсичности, обобщены в таблице 1.

При этом в течение всего периода проведения эксперимента подопытные животные характеризовались бодрым общим состоянием, имели гладкую блестящую шерсть, активно реагировали на внешние раздражители, в обычных объёмах потребляли корм и воду.

В течение проведения эксперимента мышей периодически взвешивали, при этом выявлялось постоянное увеличение средней массы тела животных (таблица 1). По окончании срока введения препарата мышей усыпляли с помощью эфира и вскрывали с целью патоморфологического исследования. При вскрытии была установлена следующая картина:

- брюшная полость без постороннего содержимого;
- положение органов брюшной полости анатомически правильное, органы без видимых изменений;
- желудок умеренно наполнен кормовыми массами;
- печень тёмно-коричневая, дрябловатой консистенции;
- селезёнка тёмно-красно-синяя, дрябловатой консистенции;
- почки тёмно-коричневые, плотной консистенции;
- грудная полость без постороннего содержимого;
- сердце округло-овальной формы, эпикард гладкий блестящий;
- сердечная мышца тёмно-красного цвета, дрябловатой консистенции;
- лёгкие светлые, тестоватой консистенции.

Полученные результаты патоморфологического исследования свидетельствуют об отсутствии хронической токсичности субстанции пиперидина НА-323.

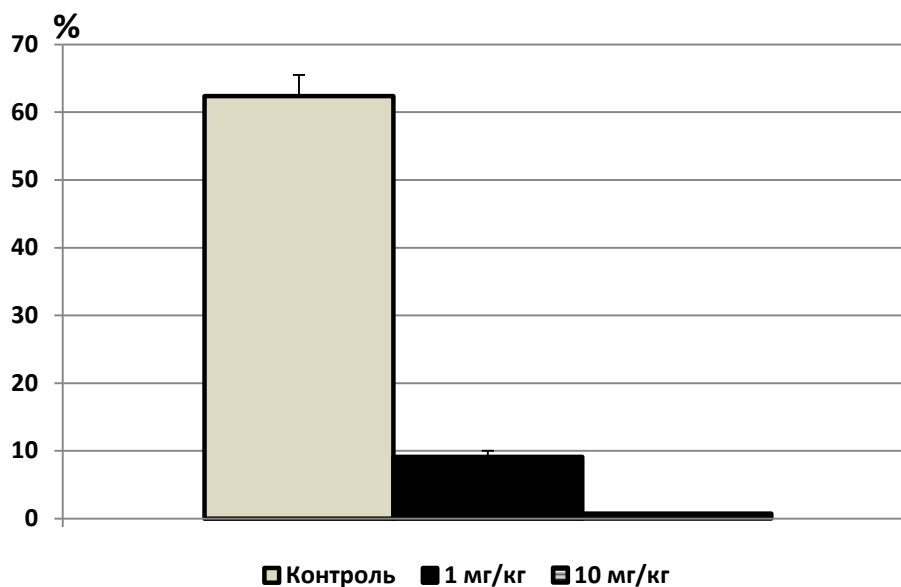


Рисунок 1 - Влияние субстанции НА-323 в концентрациях, эквивалентных дозам 1,0 и 10,0 мг/кг, на вызванные ацетилхолином (10^{-4} М) сокращения тонкой кишки крыс

Таблица 1 - Показатели массы тела подопытных мышей в различные периоды эксперимента

№ животного	Маркировка	Масса, г		
		11.07.12.	23.07.12.	01.08.12.
1	голова	24	26	28
2	спина	21	23	23
3	хвост	28	33	34
4	чистая	30	32	32
5	голова, спина, хвост	18	25	26
6	правый бок	18	24	28
7	левый бок	26	27	28
8	правое плечо	22	25	26
9	левое плечо	22	23	24
10	голова, хвост	29	32	погибла от укусов
11	голова	34	34	34
12	спина	21	22	22
13	хвост	25	26	погибла от укусов
14	чистая	27	29	30
15	голова, спина, хвост	21	24	26
16	правый бок	21	27	32
17	левый бок	18	28	30
18	правое плечо	20	21	20
19	голова, хвост	28	29	погибла от укусов
M±m		23,8±1,8	26,8±1,7	27,4±1,9

Литература

- 1 Белоусов Ю.Б. Клиническая фармакология и фармакотерапия. – Минск: Медицинское информационное агентство, 2010. – 884 с.
- 2 Патент РК № 3137: Гидрохлорид 1-(2-этоксиэтил)-4-этинил-4-бензоилокспиперидина, обладающий местноанестезирующей активностью /Пралиев К.Д., Исин Ж.И., Ю В.К.и др. – Оpubл. 15.03.96, Бюл. № 1.
- 3 Исакова Т.К. Фармакологическая активность производных 1-(2-этоксиэтил)-4-алкинилпиперидина // Вестник НИИ-СТРОМПРОЕКТА. –Алматы, 2008. – № 3-4 (16). – С. 85-92.
- 4 Предпатент РК № 17639. Бензойный эфир 1-(2-этоксиэтил)-4-(пентин-1-ил)пиперидин-4-ола и промежуточный продукт его синтеза / Пралиев К.Д., Ю В.К., Исакова Т.К. и др. – Оpubл. 15.08.06, Бюл. № 8.
- 5 Предпатент РК № 19826. Сложный эфир 1-(2-этоксиэтил)-4-алкинилпиперидин-4-ола, промежуточный продукт его синтеза, комплекс оксалата уксусного эфира 1-(2-этоксиэтил)-4-алкинилпиперидин-4-ола с β