

В. В. Храпак, С. А. Олійник, В. Є. Шевченко, Н. І. Штеменко,
О. В. Штеменко

Фармакологічний аналіз антигіпоксичної дії похідних масляної кислоти

Проведен кореляційно-регресивний і фармакологічний аналіз антигіпоксического діяння похідних масляної кислоти - уфібрат, $Re_2(isoC_3H_7COO)_4Cl_2$ і $[Re_2(ГАМК)_2Cl_4(H_2O)_2]Cl_2$. Установлено, що із досліджуваних речовин антигіпоксическу активність на моделі гіперкапіческої гіпоксическої гіпоксії проявляє тільки уфібрат. Он знижує температуру тіла мишей, збільшує тривалість періоду до появи судом і тривалість життя при перебуванні тварин в умовах гіперкапічч-гіпоксії.

ВСТУП

Більшість патологічних станів тією чи іншою мірою супроводжується кисневим голодуванням або гіпоксією. Проте пошук та фармакологічне дослідження антигіпоксантів залишається актуальною проблемою сучасної медицини. Це пов'язано, переважно, зі складністю патогенезу гіпоксичних станів, і, відповідно, різними методологічними підходами до вивчення антигіпоксантів. Антигіпоксична дія властива і похідним масляної кислоти. Серед них - γ -аміномасляна кислота (ГАМК), яка являє собою нейромедіатор, що відіграє важливу роль у забезпеченні деяких енергетичних процесів у ЦНС за умов гіпоксії. Підтримання окисних процесів у мозку за цих умов забезпечується участю γ -амінобутиратного шунта, більш вигідного в енергетичному відношенні [6]. Проте екзогенно введена ГАМК практично не виявляє антигіпоксичних властивостей, оскільки не проходить через гематоенцефалічний бар'єр. Ефективним антигіпоксантом з групи похідних масляної кислоти є натрію оксибутират. Останній дуже близький за хімічною будовою до ГАМК, яка, на відміну від неї, проходить через гематоенцефалічний бар'єр. Натрію оксибутират по-

переджає розвиток притаманних гіпоксії змін окисних процесів і збільшує їх інтенсивність за умов глибокої кисневої недостатності. Він посилює дихальну та фосфорилуючу активності, зменшує відношення вмісту лактат/піруват, підвищує швидкість переносу електронів у дихальному ланцюгу, пришвидшує синтез макроергічних фосфатів у мозку [9]. Нині біохімічний механізм дії натрію оксибутирату достатньо зрозумілий. За аеробних умов він перетворюється в бурштиновий напівальдегід, який при гострій гіпоксії знову переходить в γ -оксимасляну кислоту, зменшуючи дефіцити окисних форм НАД. Крім того, натрію оксибутират через бурштиновий напівальдегід може перетворюватися в сукцинат, який має переваги окиснення в дихальному ланцюгу при низьких pO_2 . Циклічне похідне ГАМК - пірацетам, який відноситься до ноотропів, також має антигіпоксантні властивості, хоча й менш виражені, ніж натрію оксибутират [6]. Все вищезазначене вказує на перспективність пошуку антигіпоксантів серед похідних масляної кислоти.

У зв'язку з цим нашу увагу привернули уфібрат (ундециловий ефір *n*-хлорфеноксізіомасляної кислоти) та кластерні комплекси ренію (III) з ізомасляною кислотою та

ГАМК - $\text{Re}_2(\text{isoC}_3\text{H}_7\text{COO})_4\text{Cl}_2$ та $[\text{Re}_2(\text{ГАМК})_2\text{Cl}_4(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$ відповідно. Уфібрат має гіполіпідемічні властивості [1]. Для кластерних комплексів ренію з похідними масляної кислоти характерна мембраностабілізуюча дія *in vitro* [9], яка *in vivo* на експериментальних моделях гемолітичної анемії проявляється зниженням гемолізу еритроцитів та летальності тварин [11, 12]. Всі три сполуки характеризуються низькою токсичністю [7, 8] та значною антиоксидантною активністю [1, 11, 12]. Зважаючи також на те, що за даними літератури [4], в реалізації антигіпоксичної дії фармакологічних засобів певну роль відіграє їх спроможність гальмувати вільнорадикальні процеси перекисного окиснення ліпідів, дослідження антигіпоксичних властивостей уфібрату, $\text{Re}_2(\text{isoC}_3\text{H}_7\text{COO})_4\text{Cl}_2$ та $[\text{Re}(\text{ГАМК})_2\text{Cl}_4(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$ стало логічним продовженням вивчення фармакологічних властивостей цих речовин.

МЕТОДИКА

Експерименти проведені на 30 статевозрілих білих мишах масою $17,87 \text{ г} \pm 3,00 \text{ г}$, яких утримували за умов віварію Інституту фармакології та токсикології АМН України. За допомогою електротермометра медичного ТПЭМ-1 у кожної тварини з точністю до сотої частки градуса визначали ректальну температуру перед введенням препарату (вихідна температура, T_1) та через 30 хв після введення (T_2) та розраховували різницю між ними (температурна депресія, dT). Кожну дозу (5750, 1150, 230, 46 і 9 мг/кг відповідно) досліджуваної речовини (уфібрату, $\text{Re}_2(\text{isoC}_3\text{H}_7\text{COO})_4\text{Cl}_2$ та $[\text{Re}(\text{ГАМК})_2\text{Cl}_4(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$) вводили тваринам внутрішньоочеревинно за 30 хв до розміщення у герметичний об'єм. Конструкція останнього дає можливість створювати для кожної тварини стандартні об'єми повітря у розрахунок на 1 г маси тіла, що максимально зменшує розкид експериментальних результатів. Прозорість стінок камери забезпечує можливість спостереження за поведінкою тварин. При цьому фіксували

тривалість часу до розвитку судом і летального кінця (t_{sud} та t_{let} відповідно, хв).

Отримані результати піддавали статистичному та кореляційному аналізу на ПК IBM-486 з використанням програми Statgraphics. Для пар показників, у яких виявлено статистично вірогідні коефіцієнти кореляції ($P < 0,05$), проведено кореляційно-регресивний аналіз із застосуванням чотирьох математичних моделей (лінійна, степенева, експоненційна та зворотна) із визначенням найбільш адекватної з них та конкретної її математичної формули [2, 3, 5].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що з трьох досліджуваних речовин певні антигіпоксичні властивості має тільки уфібрат. Так, для уфібрату з 49 пар порівнюваних показників у 7 знайдений статистично вірогідний кореляційний зв'язок високого ступеня кількості: 1) тривалість часу до виникнення судом (t_{sud}) - доза препарату; 2) тривалість часу до загибелі (t_{let}) - доза препарату; 3) тривалість часу до загибелі (t_{let}) - температура тіла після введення препарату (T_2); 4) тривалість часу до виникнення судом (t_{sud}) - температура тіла після введення препарату (T_2); 5) різниця температур (dT) - температура тіла після введення препарату (T_2); 6) температура тіла введення препарату (T_2) - доза препарату; 7) тривалість часу до загибелі (t_{let}) - тривалість часу до виникнення судом (t_{sud}) (таблиця). Для досліджуваних кластерних комплексів ренію з органічними лігандами з усіх пар порівнюваних показників статистично вірогідного кореляційного зв'язку не виявлено жодній, що свідчить про відсутність впливу цих речовин на перебіг гіперкапічної гіпоксичної гіпоксії. Тому надалі аналізували антигіпоксичну активність лише уфібрату.

Фізіологічну суть процесів, які знайшли вираження у значеннях коефіцієнтів кореляції, можна трактувати таким чином. Тривалість часу до виникнення судом обернено корелює з температурою тіла після введення

уфібрату. Це можна пояснити властивістю цього препарату знижувати температуру тіла завдяки зменшенню інтенсивності метаболічних процесів, внаслідок чого зменшується кисневий запит організму. Останнім пояснюється збільшення часу перебування тварин у камері до появи судом. Таким же чином можна пояснити і збільшення тривалості життя у гермокамері при зменшенні температури тіла після введення уфібрату.

Основним завданням є з'ясування дозозалежності показників антигіпоксичної дії уфібрату (тривалість часу до розвитку судом, тривалість життя за умов гіперкапнії - гіпоксії) від його дози. Між ними виявлено прямий кореляційний зв'язок високого ступеня (див. таблицю). Це дає підставу вважати, що уфібрат має певні антигіпоксичні властивості.

Значний інтерес становить кореляційний аналіз тривалості часу до появи судом та летального наслідку у разі перебування за умов гіперкапнії - гіпоксії. Між ними виявлено високий прямий кореляційний зв'язок ($r=0,9999$; $P<0,05$). Отже, поява судом є грізною ознакою катастрофи в організмі, яка у разі невживання кардинальних заходів неминуче викликає загибель через короткий термін (у мишей у межах 60 с). Ця блискавична динаміка та екстремальний стан пояснюється мізерним запасом кисню в організмі,

з одного боку, та максимальним енергоспоживанням, викликаним судомами, з іншого. Звідси впливає і практичне значення цієї закономірності: при визначенні антигіпоксичної активності потенційних медикаментозних засобів за умов гіперкапнії - гіпоксії недоцільно продовжувати експеримент до загибелі експериментальних тварин, оскільки судоми у цьому випадку є достатньо інформативним показником.

Для математичного опису процесів, які розглядаються у цій роботі, проведено кореляційно-регресивний аналіз отриманого експериментального матеріалу. На основі цього отримані математичні моделі, які дають можливість розрахувати величини, на які змінюються залежні змінні функції від незалежних змінних (аргументів, констант). Це дає можливість більшою чи меншою мірою проводити математичне моделювання досліджуваних процесів (див. таблицю).

Як видно з табл. 1, залежність часу перебування тварин за умов гіперкапнії - гіпоксії до появи судом від дози уфібрату описується ступенною моделлю типу $y = aX^b$. Розрахунки показують, що при зміні величини дози уфібрату на 1 мг тривалість часу до судом збільшується в межах 0,001 хв.

Подібні закономірності спостерігаються у разі порівняння залежності тривалості життя від дози уфібрату. Вказана залежність та-

Математичні моделі залежності між парами показників за умов гострої прогресуючої гіперкапнії-гіпоксії та профілактичному застосуванні уфібрату з виявленими вірогідними коефіцієнтами кореляції ($P<0,05$)

№	Пара показників	Коефіцієнт кореляції, r	Математична модель
1	t_{sud} - доза	0,888134	$y = e^{2,71359 * X^{0,0631872}}$
2	t_{let} -доза	0,887559	$y = e^{2,77547 * X^{0,0603588}}$
3	$t_{let} - T_2$	(-)0,709215	$y = e^{14,3058 * X^{-3,13124}}$
4	$t_{sud} - T_2$	(-)0,706562	$y = e^{14,7328 * X^{-3,26359}}$
5	$dT - T_2$	0,9221	$y = -37,9948 + 1,03923X$
6	T_2 - доза	0,837135	$1/y = 0,0274111 + 3,81752 * 10^{-7} * X$
7	$t_{let} - t_{sud}$	0,9999	$y = 1 + X$

Примітка: Символ "e" у формулах означає основу натуральних логарифмів, яка дорівнює 2,718281828.

кож описується степенною моделлю типу $y = aX^b$. Подібні числові залежності тривалості часу від зміни дози препарату на 1 мг спостерігаються і в цьому випадку.

Залежність тривалості життя тварин від температури тіла, виміряної через 30 хв після введення уфібрату, також описується степенною моделлю типу $y = aX^b$. Розрахунки показують, що при зниженні вказаної температури тіла на 1°C тривалість життя тварин збільшується на декілька хвилин.

Подібні закономірності виявлені при кореляційно-регресійному аналізі зв'язку між тривалістю часу до судом і температурою тіла, виміряної через 30 хв після введення уфібрату.

Залежність величини dT від температури, виміряної через 30 хв після введення уфібрату, задовільно описується лінійною моделлю типу $y = a + bX$ (див. таблицю). Кореляційна залежність у цьому випадку обернена. Іншими словами, що нижча температура після введення препарату, то більше значення dT .

Залежність температури тіла, виміряної через 30 хв після введення уфібрату, від дози препарату задовільно описується оберненою моделлю типу $y/1 = a + bX$, яка свідчить, що уфібрат здатен знижувати температуру тіла. Вказана властивість носить чіткий дозозалежний характер.

Залежність тривалості життя експериментальних тварин за умов гострої прогресуючої гіперкапнії-гіпоксії від тривалості часу перебування у гермооб'ємі до появи судом пряма та високої щільності зв'язку ($r=0,9999$). Математична модель лінійна типу $y = 1 + X$. Це дає підставу вважати тривалість часу до появи судом однією з важливих патогенетичних ознак для проведення фармакологічного аналізу потенційних фармакологічних засобів, зокрема з антигіпоксичною дією.

Отже, уфібрат є фізіологічно активною речовиною, яка при внутрішньоочеревинному введенні знижує температуру тіла, збільшує тривалість часу до появи судом при перебуванні за умов гіперкапнії - гіпоксії, а

також віддаляє момент появи летального кінця. Одним з основних механізмів цієї фармакологічної дії уфібрату є зниження рівня метаболічних процесів, про що свідчить зниження температури тіла тварин. Вказані процеси відповідно зменшують потребу організму в кисні, що і лежить в основі антигіпоксичної дії цієї біологічно активної речовини.

Наведені математичні моделі можуть знайти застосування при вивченні властивостей біологічно активних речовин та їх механізмів фармакологічної дії, зокрема при прогнозуванні антигіпоксичної активності та її внеску у загальнозахисну дію препаратів.

ВИСНОВКИ

1. Серед досліджуваних похідних масляної кислоти - уфібрату, $\text{Re}_2(\text{isoC}_3\text{H}_7\text{COO})_4\text{Cl}_2$ та $[\text{Re}_2(\text{ГАМК})_2\text{Cl}_4(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$ - антигіпоксичну активність на моделі гіперкапнічної гіпоксичної гіпоксії виявив тільки уфібрат.

2. Уфібрат знижує температуру тіла, збільшує тривалість часу до появи судом і тривалість життя мишей при перебуванні за умов гіперкапнії - гіпоксії.

V.V.Hrapak, S.A.Oliynyk, V.Ye.Shevchenko, N.I.Shtemenko, A.V.Shtemenko

CORRELATION-REGRESSIVE AND PHARMACOLOGICAL ANALYSIS OF BUTANE ACID DERIVATES ANTIHYPOXIC ACTION

The correlation-regressive and pharmacological analysis of butane acid derivatives - ufiبرات, $\text{Re}_2(\text{isoC}_3\text{H}_7\text{COO})_4\text{Cl}_2$ та $[\text{Re}_2(\text{GABA})_2\text{Cl}_4(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2$ - was made. It is established that among these substances antihypoxic activity on the hypercapnic hypoxic hypoxia have only ufiبرات. It decrease mice's temperature of body, increase duration of period to the appearance of sudoms and the life longitudindity at the condition of hypercapnia-hypoxia.

Institute of Pharmacology and Toxicology of AMS of Ukraine, Kiev; Medical Institute of Ukrainian Association of Folk Medicine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гаврилюк С.О., Олійник С.А., Назар П.С. Клінічне дослідження фармакологічної ефективності та безпечності уфібрату в порівнянні з ліпантілом-200М // Укр. наук.-мед. молодіж. журн. - 1999. - № 1-2. - С. 24-28.
2. Григорьев С.Г., Перфилов А.М., Левандовский В.В., Юнкеров В.Н. Пакет прикладных программ Statgraphics на персональном компьютере: Практик. пособие по обработке результатов мед.-биол. исследований. - СПб, Изд. РВМА, 1992. - 104 с.
3. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. - М.: Наука, 1984. - 424 с.
4. Иванова И.А., Бобков Ю.Г., Машковский М.Д. Теоретические и экспериментальные основы фармакотерапии гипоксии мозга. - В кн.: Фармакологическая регуляция состояний дезадаптации. - М., 1986. - С. 82-97.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. - М.: Высш. школа, 1980. - 194 с.
6. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетические механизмы формирования гипоксических состояний и подходы к их фармакологической коррекции. - В кн.: Фармакологическая коррекция гипоксических состояний: Сб. тр. Ин-та фармакологии АМН СССР. - М., 1989. - С. 11-44.
7. Олійник С.А., Штеменко Н.І., Горчакова Н.О. та ін. Токсикологія сполук ренію: погляд на проблему // Совр. проблемы токсикологии. - 2001. - № 1. - С. 11-15.
8. Туманов В.А., Олійник С.А., Оринчак М.А. та ін. Токсикологічна характеристика нового вітчизняного гіполіпідемічного препарату "Уфібрат" // Там само. - 2000. - № 3. - С. 45-48.
9. Чекман И.С. Фармакология с общей рецептурой. - К.: Рада, 1999. - 456 с.
10. Штеменко Н.И., Пирожкова-Паталах И.В., Штеменко А.В., Голиченко А.А. Изучение влияния комплексов рения с органическими лигандами на кислотно-резистентность эритроцитов человека // Укр. біохім. журн. - 2000. - 72, № 3. - С. 77-81.
11. Штеменко Н.І., Олійник С.А., Паталах І.І. Ферменти антиоксидантного захисту при гемолітичній анемії і застосуванні кластерних комплексів ренію з органічними лігандами. - В кн.: Научное наследие академика И.Н.Буланкина и его развитие в современной биохимии: Тр. науч. конференции, посвященной 100-летию со дня рождения акад. И.Н.Буланкина (16-17 января 2001 г.). / Под ред. П.А.Калиман. - Харьков, 2001. - С. 97-99.
12. Штеменко Н.І., Олійник С.А., Штеменко О.В., Пирожкова-Паталах І.В. Перекисне окислення ліпідів в головному мозку та печінці щурів при гемолітичній анемії та його корекція за допомогою кластерних комплексів ренію з органічними лігандами: Зб. наук. праць Луган. держ. аграр. ун-ту / Під ред. В.Г.Ткаченко. - Луганськ: Вид-во ЛДАУ, 2001. - № 9 (21). - С. 51-53.

*Ин-т фармакології та токсикології АМН
України;*

*Мед. ін-т Укр. асоціації народ. медицини,
Київ*

*Матеріал надійшов
до редакції 06.09.2001*