

© Коллектив авторов, 2012

Вик. В. Яснецов¹, С. Я. Скачилова¹, Л. Н. Сернов¹, Т. А. Воронина²,
В. В. Яснецов³

СИНТЕЗ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА

¹ ОАО "Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ",
Старая Купавна, Московская область, Россия;

² Учреждение Российской академии медицинских наук НИИ фармакологии им. В. В. Закусова,
Москва, Россия;

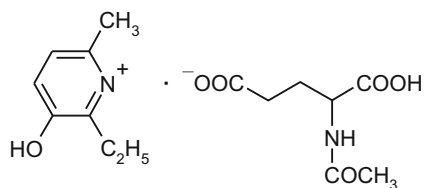
³ Учреждение Российской академии наук "Государственный научный центр РФ — Институт
медико-биологических проблем", Москва, Россия

Осуществлен синтез и исследованы фармакологические свойства нового производного 3-гидроксипиридина 2-этил-6-метил-3-оксипиридиния N-ацетил-L-глутамината (ЭМОП-АГ). На разных моделях острой гипоксии (нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией, гемической и гистотоксической) у мышей установлено, что ЭМОП-АГ (10 и 30 мг/кг) при однократном введении обладает противогипоксическими свойствами и превосходит или не уступает эталонному антигипоксанту амтизолу, мексидолу и эмоксипину. У крыс с экспериментальной ишемией головного мозга ЭМОП-АГ (10 и 30 мг/кг) оказывает выраженное нейропротекторное действие, превосходя по влиянию на неврологический дефицит амтизол (10 и 30 мг/кг/сут), мексидол (90 и 120 мг/кг/сут) и эмоксипин (120 мг/кг/сут). ЭМОП-АГ (30 мг/кг) способен полностью предупреждать у мышей развитие амнезии условного рефлекса пассивного избегания, вызванной различными воздействиями (электросудорожным шоком, скополамином, острой нормобарической гипоксической гипоксией с гиперкапнией и комплексным экстремальным воздействием).

Ключевые слова: новое производное 3-гидроксипиридина, противогипоксические, антиамнестические и нейропротекторные свойства.

В последние годы наблюдается интенсивное развитие химии и фармакологии производных 3-гидроксипиридина (3-ГП) [1 – 5]. Интерес к изучению химических и фармакологических свойств производных 3-ГП обусловлен, в частности, тем, что они являются структурными аналогами соединений группы пиридоксина (витамина В₆), имеющих важное значение в жизнедеятельности организма человека и животных.

Одним из наиболее эффективных лекарственных средств, относящихся к данной группе, является этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол, мексикор), используемый в неврологии при острой и хронической недостаточности мозгового кровообращения [3, 6, 7]. Однако мексидол не всегда эффективен при данной патологии в клинике [8].



Исходя из изложенного, целью настоящей работы явились синтез и исследование в эксперименте на животных фармакологических (противогипоксических,

нейропротекторных и антиамнестических) свойств нового производного 3-ГП 2-этил-6-метил-3-оксипиридиния N-ацетил-L-глутамината (ЭМОП-АГ).

Экспериментальная химическая часть

В трехгорлую колбу, снабженную мешалкой, термометром и холодильником, загружают 30 мл ацетонитрила, затем при перемешивании постепенно добавляют 1,0 г 2-этил-6-метил-3-оксипиридина и 1,38 г кислоты N-ацетил-L-глутаминовой. Реакционную массу нагревают до температуры кипения и выдерживают при перемешивании в течение 1 ч, после чего охлаждают до комнатной температуры, ацетонитрил декантируют, к остатку прибавляют 10 мл диэтилового эфира, тщательно перемешивают и кристаллизуют при температуре 10 – 15 °С.

Получают 2,1 г белого с кремоватым оттенком кристаллического порошка с т. пл. 95 – 97 °С, растворимого в воде, в спиртах.

ИК-спектр (ν_{\max} , см⁻¹): 3270 (NH), 2600 (N⁺), 1720 (C=O), 1600 (C=C, аром), 1560 (NHCO). C₁₅H₂₂N₂O₆.

Таблица 1

Влияние нового производного 3-гидроксипиридина ЭМОП-АГ на продолжительность жизни мышей при разных видах гипоксии

| Соединение (доза, мг/кг) | Число мышей | Продолжительность жизни, мин |
|---|-------------|------------------------------|
| Острая нормобарическая гипоксическая гипоксия с гиперкапнией | | |
| 0,9 % раствор NaCl (контроль) | 12 | 28,7 ± 1,1 |
| ЭМОП-АГ (10) | 12 | 35,8 ± 2,9* |
| ЭМОП-АГ (30) | 12 | 37,3 ± 3,0** |
| 0,9 % раствор NaCl (контроль) | 16 | 28,1 ± 1,0 |
| Мексидол (50) | 10 | 30,2 ± 1,7 |
| Мексидол (100) | 16 | 35,6 ± 3,1* |
| 0,9 % раствор NaCl (контроль) | 10 | 27,9 ± 1,5 |
| Эмоксипин (50) | 10 | 28,7 ± 1,5 |
| Эмоксипин (100) | 10 | 29,8 ± 1,6 |
| 0,9 % раствор NaCl (контроль) | 12 | 29,4 ± 1,1 |
| Амтизол (10) | 12 | 32,3 ± 1,9 |
| Амтизол (30) | 12 | 37,5 ± 3,2* |
| Острая гемическая гипоксия | | |
| 0,9 % раствор NaCl (контроль) | 14 | 21,2 ± 1,2 |
| ЭМОП-АГ (10) | 14 | 26,7 ± 1,5* |
| ЭМОП-АГ (30) | 14 | 27,4 ± 2,0* |
| 0,9 % раствор NaCl (контроль) | 12 | 20,9 ± 1,3 |
| Мексидол (50) | 12 | 21,8 ± 1,4 |
| Мексидол (100) | 12 | 22,2 ± 1,3 |
| 0,9 % раствор NaCl (контроль) | 10 | 23,0 ± 1,9 |
| Эмоксипин (50) | 10 | 23,2 ± 1,9 |
| Эмоксипин (100) | 10 | 24,1 ± 2,0 |
| 0,9 % раствор NaCl (контроль) | 14 | 21,7 ± 1,2 |
| Амтизол (10) | 14 | 22,3 ± 1,1 |
| Амтизол (30) | 14 | 27,3 ± 1,9* |
| Острая гистотоксическая гипоксия | | |
| 0,9 % раствор NaCl (контроль) | 14 | 15,9 ± 0,5 |
| ЭМОП-АГ (10) | 14 | 19,8 ± 0,6** |
| ЭМОП-АГ (30) | 14 | 21,1 ± 1,3*** |
| 0,9% раствор NaCl (контроль) | 12 | 16,2 ± 0,6 |
| Мексидол (50) | 12 | 16,6 ± 0,7 |
| Мексидол (100) | 12 | 17,0 ± 0,7 |
| 0,9% раствор NaCl (контроль) | 10 | 17,2 ± 0,8 |
| Эмоксипин (50) | 10 | 17,3 ± 0,8 |
| Эмоксипин (100) | 10 | 17,7 ± 0,9 |
| 0,9% раствор NaCl (контроль) | 14 | 15,6 ± 0,5 |
| Амтизол (10) | 14 | 17,2 ± 0,6 |
| Амтизол (30) | 14 | 21,0 ± 1,2*** |

Примечание. Различия статистически значимы по сравнению с контролем (критерий Стьюдента): * $p < 0,05$, ** $p < 0,02$, *** $p < 0,01$.

Экспериментальная биологическая часть

Противогипоксическое и антиамнестическое действие исследовали на белых нелинейных мышцах-самцах массой 20 – 25 г [9, 10]. При этом в качестве амнезирующих воздействий использовали электросудорожный шок (ЭСШ), скополамин, острую нормобарическую гипоксическую гипоксию с гиперкапнией и комплексное экстремальное воздействие (КЭВ) [11]. ЭМОП-АГ и препараты сравнения (в виде субстан-

ции) мексидол (ЗАО “Фармасофт”), эмоксипин (ВНЦ БАВ), амтизол (ВМА им. С. М. Кирова), пирацетам (“Латвбиофарм”) и 0,9 % раствор натрия хлорида (контроль) вводили внутривенно за 30 (амтизол) или 60 мин (все остальные вещества) до регистрации показателей.

Нейропротекторную активность оценивали на белых нелинейных крысах-самцах массой 220 – 290 г с экспериментальной ишемией головного мозга. Ишемию головного мозга воспроизводили путем одномоментной перевязки (под общей анестезией эфиром) обеих общих сонных артерий. У ложнопериоперированных животных (контрольная группа № 1) операция была ограничена этапом доступа к общим сонным артериям. В контрольной группе № 2 крысы получали только 0,9 % раствор NaCl. Подопытным животным вводили ЭМОП-АГ и препараты (мексидол, эмоксипин и амтизол) 1 раз в сутки в течение 7 сут; в первые сутки — через 1, 3 и 6 ч после операции. Животных после операции наблюдали в течение 2 недель с учетом выживаемости крыс. Неврологический дефицит (НД) у животных определяли (слепым методом) в баллах [12] каждый час в течение 24 ч, а затем 1 раз/сут. Тяжесть состояния определяли по сумме соответствующих баллов. У ложнопериоперированных животных (крысы контрольной группы № 1) НД отсутствовал.

Исследования были выполнены с соблюдением национальных и международных требований по содержанию и гуманному обращению с животными.

Статистическую обработку числового материала производили на ПЭВМ с использованием программы StatPlus 2009 Professional.

Результаты и их обсуждение

На модели острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией (в гермокамере) ЭМОП-АГ в дозах 10 и 30 мг/кг значительно увеличивает продолжительность жизни мышей (на 25 и 30 % соответственно), примерно также действует мексидол (100 мг/кг — на 27 %) и амтизол (30 мг/кг — на 28 %), но не эмоксипин (50 и 100 мг/кг) (табл. 1).

На модели острой гемической гипоксии ЭМОП-АГ в дозах 10 и 30 мг/кг в отличие от мексидола и эмоксипина в дозах 50 и 100 мг/кг достоверно увеличивает продолжительность жизни мышей (на 26 и 29 % соответственно). Амтизол в дозе 10 мг/кг существенно не изменяет, а в дозе 30 мг/кг значительно увеличивает этот показатель (на 26 %).

Аналогичные результаты получены и на модели острой гистотоксической гипоксии.

Итак, на разных моделях острой гипоксии ЭМОП-АГ при однократном введении обладает противогипоксическими свойствами и превосходит или не уступает амтизолу, мексидолу и эмоксипину.

Результаты исследования нейропротекторного действия веществ представлены в табл. 2. Из нее видно, что у крыс контрольной группы № 2 НД был наиболее выражен ($8,8 \pm 0,1$ балла) через 3 сут после двусторон-

Изменение неврологического дефицита (в баллах, $M \pm m$) у крыс после двусторонней перевязки общих сонных артерий под влиянием ЭМОП-АГ

| Соединение (доза, мг/кг/сут) | Срок после операции | | | | |
|---|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 12 ч | 24 ч | 3 сут | 7 сут | 14 сут |
| 0,9 % раствор NaCl /n = 51, погибло 16 из 67/ | 8,5 ± 0,1 | 8,7 ± 0,1 | 8,8 ± 0,1 | 8,7 ± 0,1 | 8,6 ± 0,1 |
| ЭМОП-АГ (10) /n = 19, погибла 1 из 20/ | 4,8 ± 0,1* ^о | 5,2 ± 0,1* ^о | 5,3 ± 0,1* ^о | 5,1 ± 0,1* ^о | 4,7 ± 0,1* ^{о#} |
| ЭМОП-АГ (30) /n = 22, погибло 0/ | 4,4 ± 0,1* ^{о#^} | 4,8 ± 0,1* ^{о^} | 4,7 ± 0,1* ^{о#^} | 4,4 ± 0,1* ^{о#^} | 4,3 ± 0,1* ^{о#^} |
| Мексидол (30) /n = 24, погибло 4 из 28/ | 5,4 ± 0,1* | 5,9 ± 0,1* | 6,3 ± 0,1* | 6,0 ± 0,1* | 5,8 ± 0,1* |
| Мексидол (60) /n = 18, погибло 2 из 20/ | 5,2 ± 0,1* | 5,8 ± 0,1* | 6,1 ± 0,1* | 5,8 ± 0,1* | 5,5 ± 0,1* |
| Мексидол (90) /n = 19, погибла 1 из 20/ | 4,9 ± 0,1* | 5,0 ± 0,1* | 5,4 ± 0,1* | 5,1 ± 0,1* | 5,0 ± 0,1* |
| Мексидол (120) /n = 20, погибло 0/ | 4,7 ± 0,1* | 4,9 ± 0,1* | 5,0 ± 0,1* | 4,7 ± 0,1* | 4,6 ± 0,1* |
| Эмоксилин (120) /n = 18, погибло 2 из 20/ | 5,1 ± 0,1* | 5,8 ± 0,1* | 6,0 ± 0,1* | 5,7 ± 0,1* | 5,4 ± 0,1* |
| Амтизол (10) /n = 18, погибло 5 из 23/ | 7,9 ± 0,1* | 8,2 ± 0,2* | 8,2 ± 0,2* | 7,7 ± 0,2* | 7,5 ± 0,2* |
| Амтизол (30) /n = 23, погибло 5 из 28/ | 6,8 ± 0,1* | 7,2 ± 0,1* | 7,3 ± 0,1* | 7,0 ± 0,1* | 6,7 ± 0,1* |

Примечание. * $p < 0,05$ — значимость различий по сравнению с контролем; ^о $p < 0,05$ — значимость различий ЭМОП-АГ по сравнению с амтизолом (в обеих дозах); # $p < 0,05$ — значимость различий ЭМОП-АГ в дозах 10 и 30 мг/кг/сут по сравнению с мексидолом в дозах 90 и 120 мг/кг/сут соответственно; ^ $p < 0,05$ — значимость различий ЭМОП-АГ в дозе 30 мг/кг/сут по сравнению с эмоксипином в дозе 120 мг/кг/сут (критерий Стьюдента).

Влияние нового производного 3-гидроксипиридина ЭМОП-АГ на амнезию у мышей, вызванную электросудорожным шоком (ЭСШ), скополамином и КЭВ

| Условия опытов и соединение (доза, мг/кг) | Общее число мышей | Число мышей, обучившихся УРПИ (%) | Число мышей с амнезией УРПИ через 24 ч после амнезирующего воздействия (%) |
|---|-------------------|-----------------------------------|--|
| ЭСШ | | | |
| 0,9 % раствор NaCl + псевдоЭСШ (контроль 1) | 36 | 33 (92) | 6 (18) |
| 0,9 % раствор NaCl + ЭСШ (контроль 2) | 33 | 30 (91) | 25 (83)### |
| ЭМОП-АГ (10) + ЭСШ | 14 | 13 (93) | 6 (46)* |
| ЭМОП-АГ (30) + ЭСШ | 24 | 22 (92) | 4 (18)*** |
| Мексидол (50) + ЭСШ | 12 | 11 (92) | 4 (36)** |
| Мексидол (100) + ЭСШ | 21 | 20 (95) | 4 (20)*** |
| Пирацетам (800) + ЭСШ | 11 | 10 (91) | 2 (20)*** |
| Амтизол (30) + ЭСШ | 12 | 11 (92) | 8 (73)## |
| Скополамин | | | |
| 0,9 % раствор NaCl + 0,9 % раствор NaCl (контроль 1) | 32 | 29 (91) | 5 (17) |
| 0,9 % раствор NaCl + скополамин (контроль 2) | 40 | 36 (90) | 26 (72)### |
| ЭМОП-АГ (10) + скополамин | 13 | 12 (92) | 4 (33)* |
| ЭМОП-АГ (30) + скополамин | 24 | 23 (96) | 4 (17)*** |
| Мексидол (50) + скополамин | 13 | 12 (92) | 4 (33)* |
| Мексидол (100) + скополамин | 21 | 19 (90) | 3 (16)*** |
| Пирацетам (800) + скополамин | 13 | 12 (92) | 2 (17)** |
| Амтизол (30) + скополамин | 11 | 10 (91) | 6 (60)# |
| Острая нормобарическая гипоксическая гипоксия с гиперкапнией | | | |
| 0,9 % раствор NaCl + ложная гипоксия (контроль 1) | 37 | 34 (92) | 6 (18) |
| 0,9 % раствор NaCl + гипоксия (контроль 2) | 43 | 39 (91) | 25 (64)### |
| ЭМОП-АГ (10) + гипоксия | 14 | 13 (93) | 4 (31)* |
| ЭМОП-АГ (30) + гипоксия | 20 | 19 (95) | 3 (16)** |
| Мексидол (50) + гипоксия | 14 | 13 (93) | 3 (23)* |
| Мексидол (100) + гипоксия | 17 | 16 (94) | 3 (19)** |
| Амтизол (10) + гипоксия | 11 | 10 (91) | 6 (60)# |
| Амтизол (30) + гипоксия | 15 | 13 (87) | 4 (31)* |
| КЭВ | | | |
| 0,9 % раствор NaCl + ложное КЭВ (контроль 1) | 58 | 53 (91) | 9 (17) |
| 0,9 % раствор NaCl + КЭВ (контроль 2) | 60 | 55 (92) | 34 (62)### |
| ЭМОП-АГ (10) + КЭВ | 23 | 21 (91) | 8 (38)* |
| ЭМОП-АГ (30) + КЭВ | 21 | 20 (95) | 3 (15)*** |
| Мексидол (50) + КЭВ | 20 | 18 (90) | 6 (33)* |
| Мексидол (100) + КЭВ | 20 | 19 (95) | 3 (16)*** |
| Пирацетам (200) + КЭВ | 19 | 18 (95) | 10 (55)## |
| Пирацетам (800) + КЭВ | 20 | 18 (90) | 3 (17)*** |
| Амтизол (30) + КЭВ | 11 | 10 (91) | 5 (50)# |

Примечание. Различия статистически значимы по сравнению с контролем 1 и контролем 2 соответственно (точный метод Фишера): # или * $p \leq 0,05$, ## или ** $p < 0,01$, ### или *** $p < 0,001$.

ней перевязки общих сонных артерий; при этом в контроле погибло 24 % (16 крыс из 67) животных.

Мексидол оказывает доза-зависимое нейропротекторное действие (табл. 2). Сходные достоверные изменения происходили под влиянием мексидола и с НД.

Эмоксипин в дозе 120 мг/кг/сут несколько (недостоверно) снижает летальность крыс (до 10 %), но значимо уменьшает НД. Аналогичные результаты получены и при изучении амтизола (в дозах 10 и 30 мг/кг/сут).

Установлено, что ЭМОП-АГ (в дозах 10 и 30 мг/кг/сут) оказывает выраженное нейропротекторное действие, превосходя по выраженности действия в отношении НД амтизол, а также мексидол и эмоксипин. При этом эффект ЭМОП-АГ в дозе 10 мг/кг/сут соответствует таковому мексидола в дозе 90 мг/кг/сут, а в дозе 30 мг/кг/сут — мексидола в дозе 120 мг/кг/сут. Уровень летальности при использовании ЭМОП-АГ в дозе 30 мг/кг/сут достоверно ($p < 0,05$) ниже (на 18 %) по сравнению с амтизолом (в аналогичной дозе) (табл. 2).

На модели амнезии, вызванной ЭСШ, ЭМОП-АГ (30 мг/кг), пирацетам (800 мг/кг) и мексидол (100 мг/кг), но не амтизол, полностью или почти полностью (мексидол, пирацетам) предупреждают развитие условного рефлекса (реакции) пассивного избегания (УРПИ) (табл. 3). Аналогичные результаты получены на модели скополаминовой амнезии (табл. 3).

На модели амнезии, вызванной острой нормобарической гипоксической гипоксией с гиперкапнией (в гермокамере), ЭМОП-АГ (30 мг/кг) полностью, а мексидол (100 мг/кг) практически полностью предупреждают развитие амнезии УРПИ (табл. 3). Амтизол (30 мг/кг) был менее эффективным — ослаблял выраженность амнезии в 2,1 раза ($p < 0,05$).

На модели амнезии, вызванной КЭВ ЭМОП-АГ (30 мг/кг), пирацетам (800 мг/кг) и мексидол (100 мг/кг), но не амтизол (30 мг/кг), полностью предупреждают развитие амнезии УРПИ (табл. 3).

Итак, ЭМОП-АГ способен полностью предупреждать у мышей развитие амнезии УРПИ, вызванной

различными воздействиями (ЭСШ, скополамином, острой нормобарической гипоксической гипоксией с гиперкапнией и КЭВ).

Таким образом, можно заключить, что соединение ЭМОП-АГ является перспективным для дальнейшей разработки в качестве нового нейротропного средства с противогипоксической, нейропротекторной и антиамнестической активностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Т. А. Воронина, *Вестник РАМН*, № 9, 27 – 34 (2000).
2. Т. А. Воронина, *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(2), 10 – 14 (2003).
3. Т. А. Воронина, *Отечественный препарат нового поколения мексидол: основные эффекты, механизм действия, применение*, Москва (2004).
4. К. М. Дюмаев, Т. А. Воронина, Л. Д. Смирнов, *Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС*, Изд. Института биомедицинской химии РАМН, Москва (1995).
5. Н. М. Митрохин, С. Я. Скачилова, Л. Н. Сернов и др., *Тез. докл. XV Российского национального конгресса "Человек и лекарство"*, Москва (2008), с. 668.
6. Е. И. Гусев, В. И. Скворцова, *Ишемия головного мозга*, Медицина, Москва (2001).
7. А. И. Федин, С. А. Румянцева, О. П. Миронова, В. Н. Евсеев, *Применение антиоксиданта мексидола у больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения. Методические рекомендации*, Москва (2002).
8. З. А. Суслина, И. Н. Смирнова, М. М. Танашян и др., *Клиническая эффективность мексидола и влияние его на реологические свойства крови и гемоперфузию головного мозга при хронических формах цереброваскулярных заболеваний*, Москва (2002).
9. *Методические рекомендации по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств*, Л. Д. Лукьянова (ред.), Москва (1990).
10. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Р. У. Хабриев (ред.), Москва, Минздрав РФ (2005).
11. Вик. В. Яснецов, Н. А. Проворнова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(3), 66 – 68 (2003).
12. С. Р. McGraw, A. G. Pashayan and O. T. Wendel, *Stroke*, **7**(5), 485 – 488 (1976).

Поступила 18.11.10

SYNTHESIS AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF NEW 3-HYDROXYPYRIDINE DERIVATIVE

Vic. V. Yasnetsov¹, S. Y. Skachilova¹, L. N. Sernov¹, T. A. Voronina², and V. V. Yasnetsov

¹ All-Russia Scientific Center for Safety Testing of Biologically Active Substances, Ministry of Public Health of the Russian Federation, Staraya Kupavna, Moscow oblast, Russia;

² Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia;

³ Institute of Biomedical Problems, Scientific Center of Russian Federation, Moscow, Russia

A new 3-hydroxypyridine derivative, 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine N-acetyl-L-glutamate (EMOP-AG) has been synthesized. It is established that EMOP-AG (10 and 30 mg/kg, single administration) exhibits antihypoxic activity on various models of acute hypoxia (baric hypoxia with hypercapnia, hemmic and histotoxic hypoxia) in mice and produces equal or stronger effect in comparison to reference drugs (amtizol, mexitol, and emoxipin). In addition, EMOP-AG (10 and 30 mg/kg per day) has a marked neuroprotective effect in rats with bilateral ligation of common carotid arteries and is more effective in the treatment of neurologic deficiency than amtizol (10 and 30 mg/kg per day), mexitol (90 and 120 mg/kg per day) and emoxipin (120 mg/kg per day). It is also established that EMOP-AG (30 mg/kg) can prevent amnesia in a step-down passive avoidance situation caused by different factors (maximal electroshock, scopolamine, acute hypoxia in hermetic chamber, and combined action of extremal factors).

Key words: 3-Hydroxypyridine derivatives, antihypoxic, neuroprotective, and anti-amnesic effects