УДК 615.244:615.31

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЧАСТИЧНО ГИДРИРОВАННЫХ ПИРИДИНОВ, ПРОИЗВОДНЫХ ЦИАНОТИОАЦЕТАМИДА, НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС С ОСТРЫМ ТЕТРАЦИКЛИНОВЫМ ГЕПАТИТОМ

Е.Ю. Бибик[1], Б.С. Кривоколыско[1], Е.П. Петлюк[3], А.В. Деменко[1], К.А. Фролов[1, 2], В.В. Доценко[4], С.Г. Кривоколыско[1,2]

[1]ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», кафедра фундаментальной и клинической фармакологии, кафедра фармацевтической химии и фармакогнозии;
[2]ГОУ ВПО «Луганский национальный университет им. Владимира Даля», НИЛ «Химэкс» кафедры химии и инновационных химических технологий;
[3]Клинико-диагностическая лаборатория ГУ «Луганская республиканская клиническая психоневрологическая больница» ЛНР;
[4]ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет», кафедра органической химии и технологий

В настоящее время целенаправленный поиск новых и безопасных гепатопротекторных средств весьма актуален. Экспериментальное исследование проведено на 70 крысах-самцах при внутрижелудочном введении тетрациклина гидрохлорида в дозе 1000 мг/кг на протяжении пяти суток. Скрининговые исследования шести частично гидрированных пиридинов, производных цианотиоацетамида, на модели острого тетрациклинового гепатита при применении их в дозе 2,5 мг/кг показали высокую гепатопротекторную и детоксицирующую активность у всех соединений. Они стабилизируют уровень биохимических показателей крови, удерживая их на уровне нормы в условиях гепатотоксичности, индуцированной применением высоких дозировок тертрациклина *in vivo*.

Ключевые слова: тетрациклин, частично гидрированные пиридины, гепатит, билирубин, аминотрансферазы.

DOI 10.19163/1994-9480-2019-2(70)-42-46

RESEARCH THE INFLUENCE OF PARTIALLY HYDROGENATED PYRIDINES, DERIVATIVES OF CYANOTHIOACETAMIDE, ON BLOOD INDICATORS OF RATS WITH ACUTE TETRACYCLINE HEPATITIS

E.Yu. Bibik[1], B.S. Krivokolysko[1], E.P. Petlyuk[3], A.V. Demenko[1], K.A. Frolov[1, 2], V.V. Docenko[4], S.G. Krivokolysko[1, 2]

[1]SE LPR «Luhansk State Medical University named after St. Luke», Department of Fundamental and Clinical Pharmacology, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy;
[2]SEI HPE «Lugansk National University named after Vladimir Dal», Research Laboratory of the Department of Chemistry and Innovative Chemical Technologies «Chemex»;
[3]SI «Lugansk Republican Clinical Neuropsychiatric Hospital» of LPR Clinical Diagnostic Laboratory;
[4]FSBEI HE «Kuban State University», Department of Organic Chemistry and Technology

Currently, a focused search for new and safe hepatoprotective agents is highly relevant. An experimental study was conducted on 70 male rats after intragastric infiltration of tetracycline hydrochloride at a dose of 1000 mg/kg for 5 days. Screening researches of six partially hydrogenated pyridines, derivatives of cyanothioacetamide, on a model of acute tetracycline hepatitis at a dose of 2,5 mg/kg showed a high hepatoprotective and detoxifying activity in all compounds. They stabilize the level of biochemical blood parameters, keeping them at the normal level in terms of hepatotoxicity induced by the use of high dosages of tetracycline *in vivo*.

Key words: tetracycline, partially hydrogenated pyridines, hepatitis, bilirubin, aminotransferases.

В последнее время проблема токсических поражений внутренних органов, и прежде всего печени, вследствие потребления высоких дозировок лекарственных средств различных фармакологических групп является одной из важнейших проблем клинической медицины [4, 6]. Около 10 % всех побочных реакций, связанных с применением медикаментозных средств, составляют лекарственные поражения печени. Широкая распространенность комбинированной фармакотерапии и полипрагмазия при многокомпонентной терапии коморбидных состояний, имеющие место вследствие неуклонно растущей экспансии фармацевтического рынка, не могут не откладывать свой отпечаток на структурно-функциональное состояние печени, как важнейшего органа биотрансформации лекарственных средств [7]. При этом

летальность при тяжелой форме лекарственной печеночной недостаточности на сегодняшний день составляет 75 %.

Среди гепатотоксинов медикаментозного происхождения в настоящее время выделяют цитотоксические, холестатические и канцерогенные. Так, цитотоксическими свойствами обладают антибактериальные препараты, противоопухолевые средства, НПВС, противоаритмические препараты и др. Холестатические свойства присущи анаболическим стероидам, пероральным контрацептивам, противоэпилептическим средствам, антидепрессантам [10].

Наиболее гепатотоксичными из антибактериальных средств являются антибиотики из группы тетрациклинов, пенициллинов, макролидов, рифампицин, линезолид, фторхинолоны, туберкулостатики, сульфаниламиды, противогрибковые средства флюконазол, кетаконазол, амфотерицин В, вориконазол и т. д. [1]. Данные морфологических исследований указывают на то, что антибиотики могут вызвать митохондриальные повреждения, нарушения функции транспортной РНТ, активацию ФНО-α с развитием апоптоза гепатоцитов, нарушения секреции желчи, повреждения холангиоцитов и липоцитов.

Тетрациклин относится к истинным (облигатным) гепатотоксинам типа А, в основе повреждения которыми лежит денатурация белков и активация перекисного окисления липидов. По данным А.Н. Казюлина и Е.В. Переясловой, морфологические изменения в структуре печеночной ткани вследствие применения высоких доз тетрациклина соответствуют микровезикулярному стеатогепатиту, который характеризуется жировой дистрофией печени с некрозами гепатоцитов [3]. Этот тип поражения печени возникает в результате нарушения митохондриального b-окисления жирных кислот и характеризуется наличием мелких вкраплений триглицеридов внутри гепатоцитов, не смещающих ядро. Прерывание b-окисления приводит к этерификации жирных кислот до триглицеридов и их накоплению, лишает клетки энергии и нарушает их нормальное функционирование.

Лекарственные средства из группы гепатопротекторов, использующиеся в клинической практике в настоящее время, не всегда обладают высокой эффективностью. Поэтому целенаправленный поиск новых и безопасных средств для фармакотерапии острых медикаментозных поражений печени является весьма актуальной задачей современных фармакологических исследований. Одним из перспективных направлений подобного рода исследований может быть комплексное изучение частично гидрированных пиридинов, производных цианотиоацетамида [2, 5, 8].

В серии подготовительных экспериментов 50 образцов синтезированных нами на базе НИЛ «Химэкс» ЛНУ им. Владимира Даля новых производных частично гидрированных пиридинов подверглись виртуальному биоскринингу [9]. Комплекс программ, разработанных швейцарскими учеными из института биоинформатики, позволил отобрать 6 соединений, биологическая активность которых может быть связана с влиянием на белоксинтетическую и детоксицирующую функции печени.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение показателей биохимического анализа крови крыс с острым тетрациклиновым поражением печени и фармакокоррекцией новыми частично гидрированными пиридинами, производными цианотиоацетамида.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве экспериментальной модели острого тетрациклинового поражения печени служил патологический процесс, который развивается у животных после внутрижелудочного введения тетрациклина гидрохлорида в дозе 1000 мг/кг на протяжении 5 суток. Интервалы между введением тетрациклина и препаратов сравнения, а также 6 исследуемых образцов производных пиридина в соответствующих группах составляли 4 часа с целью предотвращения взаимодействия антибиотика с потенциальными средствами фармакотерапии. В настоящем исследовании использовались образцы замещенных ди- и тетрагидропиридинов с лабораторными шифрами CV043, CV046, CV047, CV077, CV139 и CV146 (рис. 1).

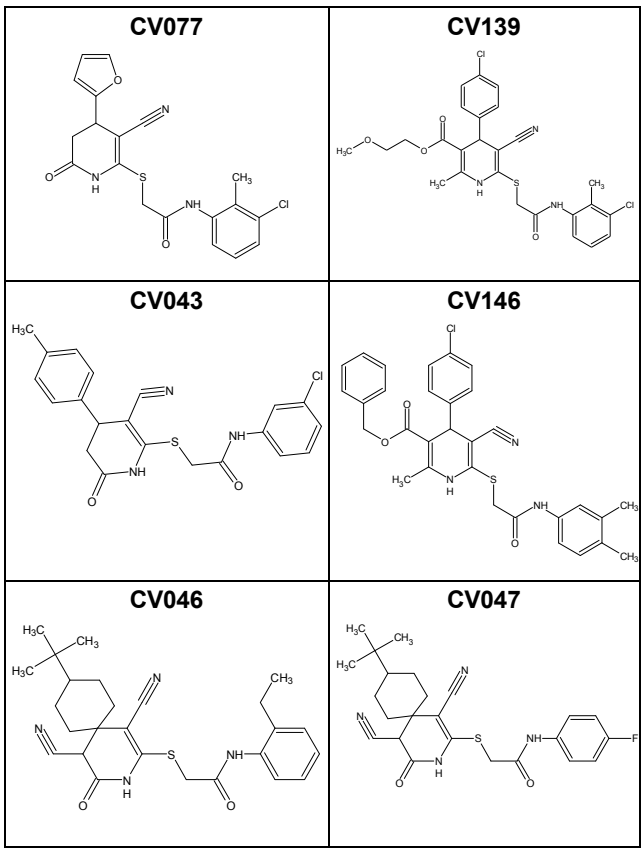

Рис. 1. Химическое строение используемых образцов вновь синтезированных замещенных ди- и тетрагидропиридинов

Перед началом эксперимента 70 лабораторных белых беспородных крыс-самцов массой 180–210 г, прошедших карантин, были распределены на десять групп: первая – интактная (крысы без патологии), вторая – контрольная (животные с тетрациклиновым гепатитом), третья группа сравнения (получали тиотриазолин в дозе 50 мг/кг через желудочный зонд ежедневно через 4 часа после введения тетрациклина), четвертая группа сравнения (карсил в дозе 100 мг/кг соответственно). Крысы опытных групп (с пятой по десятую) получали с целью фармакокоррекции внутрижелудочно ежедневно на протяжении пяти суток образцы исследуемых производных пиридина в дозе 2,5 мг/кг через 4 часа после введения тетрациклина. За животными всех групп осуществлялся визуальный мониторинг поведенческой активности, аппетита, жажды, состояния шерстяного покрова. После окончания эксперимента на шестые сутки был произведен забор крови из бедренной вены. Стандартными методиками на спектрофотометре SOLAR PM 2111 определяли уровень билирубина, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и тимоловую пробу.

Полученные данные обрабатывали с помощью статистической программы «Statistica 10.0». В связи с незначительным количеством животных, задействованных в исследовании, применялись непараметрические методы анализа, основанные на методике Уилкоксона. На основании полученных данных (медианные, квартильные, средние значения, стандартное отклонение) определялась достоверность отличий между значениями контрольной и исследуемых групп.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали экспериментальные исследования, на протяжении пяти суток поведение крыс контрольной группы было угнетенным. На четвертые сутки в группе контрольных животных погибла одна крыса. При ее вскрытии вздутый желудок был заполнен тетрациклиновой взвесью. Кроме того, обнаружено визуально видимое существенное увеличение яичек.

Подопытные животные групп сравнения на протяжении были активными. В ходе эксперимента гибели в опытных группах не наблюдалось. Крысы опытных групп, получавшие соединения с лабораторными шифрами CV046 и CV146, спокойно реагировали на манипуляции. Кроме того, отечность слизистой оболочки глотки и пищевода животных всех опытных групп была минимальной в сравнении с контролем, поскольку желудочный зонд без затруднений вводился в желудок крыс.

Данные, приведенные на рис. 2, указывают на то, что уровень общего билирубина в биохимическом анализе крови крыс контрольной группы резко достоверно ($p \leq 0{,}001$) увеличивается более чем в 6,56 раза по сравнению с показателями, зарегистрированными у подопытных животных интактной группы.

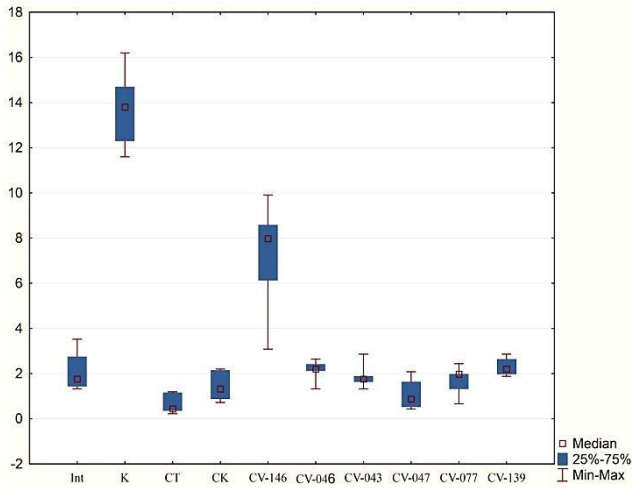

Рис. 2. Показатели общего билирубина в крови крыс различных групп (Int – интактная, K – контрольная, CT – сравнение (тиотриазолин), CK – сравнение (карсил)

Острое тетрациклиновое поражение печени, моделируемое нами у крыс контрольной группы, привело к увеличению активности аминотрансфераз печени – АЛТ в 3,07 раза и АСТ в 3,66 раза, что свидетельствует о значительной выраженности интенсивности патологического процесса и массивном повреждении гепатоцитов (рис. 3, 4).

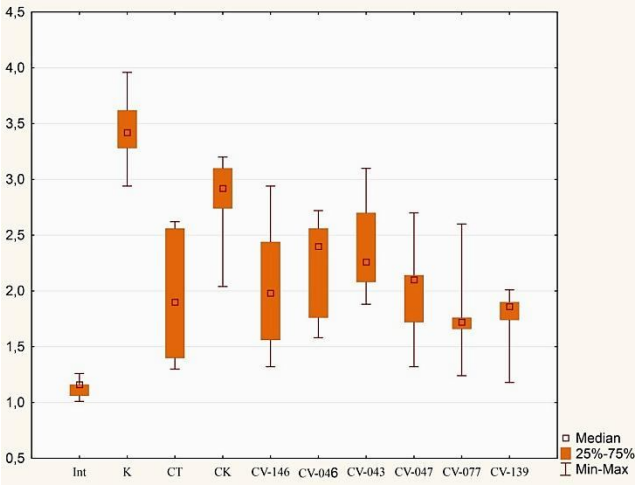

Рис. 3. Активность аланинаминотрансферазы в крови крыс различных групп (Int – интактная, K – контрольная, CT – сравнение (тиотриазолин), CK – сравнение (карсил)

У крыс первой группы сравнения, получавших тиотриазолин с фармакотерапевтической целью на протяжении пяти суток, выявлено резкое снижение уровня билирубина в сравнении со значениями у крыс контрольной и интактной группы. Значения активности изучаемых аминотрансфераз в биохимическом анализе крови животных этой группы ниже таковых в контрольной группе.

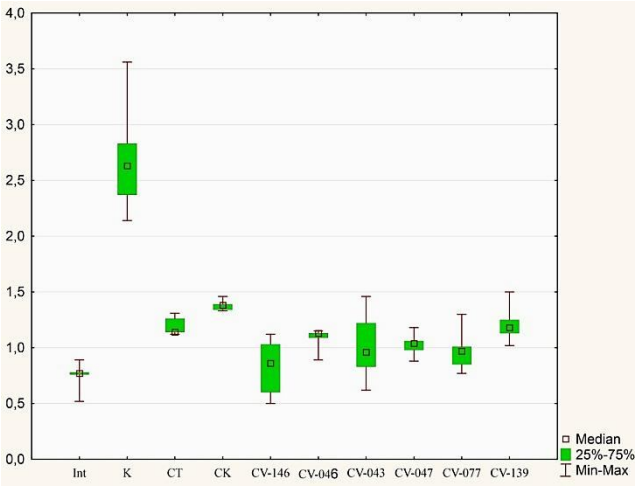

Рис. 4. Активность аспартатаминотрансферазы в крови крыс различных групп (Int – интактная, K – контрольная, CT – сравнение (тиотриазолин), CK – сравнение (карсил)

Применение карсила у крыс второй группы сравнения также выявило достоверное снижение показателя общего билирубина крови в 9,46 раза, а также уменьшение активности АЛТ на 18,6 %, АСТ на 49,1 %. Показатель тимоловой пробы у животных обеих групп сравнения ниже значений, зарегистрированных у крыс интактной группы (рис. 5).

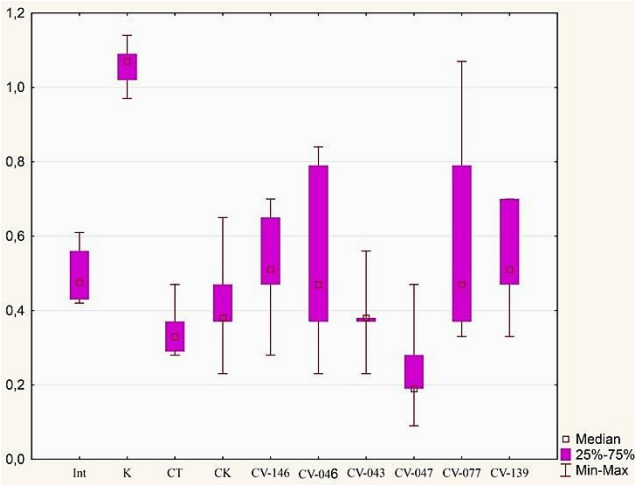

Рис. 5. Тимоловая проба в крови крыс различных групп (Int – интактная, K – контрольная, CT – сравнение (тиотриазолин), CK – сравнение (карсил)

Все применяемые нами с целью фармакокоррекции острого тетрациклинового поражения печени в опытных группах производные пиридина обнаружили способность в разной степени выраженности восстанавливать показатель общего билирубина. После пятидневной фармакокоррекции соединением CV146 острого тетрациклинового гепатита показатель общего билирубина в крови снижается в 1,92 раза в сравнении с показателями в контрольной группе.

При этом активности АЛТ и АСТ уменьшаются на 40,4 и 69,7 % соответственно, в сравнении с контролем. Тимоловая проба в крови крыс с моделируемым лекарственным поражением печени, получавших соединение CV146, приближается к показателям у интактных животных.

Новые производные частично гидрированных пиридинов с шифрами CV043, CV077 и CV047 способны предотвращать развитие резко выраженной гипербилирубинемии у крыс с острым тетрациклиновым гепатитом. У крыс этих опытных групп показатель общего билирубина в крови ниже такового у интактных животных. Значение общего билирубина в крови крыс опытных групп, получавших образцы CV046 и CV139, были близки к таковым, зарегистрированным у интактных животных.

Установленное нами достоверное снижение активности антицитолитических ферментов, исследуемых в биохимическом анализе крови, у крыс всех опытных групп свидетельствует о высокой гепатопротекторной активности этих частично гидрированных пиридинов, производных цианотиоацетамида.

Наиболее низкие показатели тимоловой пробы в биохимическом анализе крови крыс опытных групп были нами установлены после фармакокоррекции соединениями CV043 и CV047 и соответствовали таковым в группе сравнения с тиотриазолином.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные скрининговые исследования шести частично гидрированных пиридинов, производных цианотиоацетамида, на модели острого тетрациклинового гепатита при применении их в дозе 2,5 мг/кг на протяжении пяти суток показали высокую гепатопротекторную и детоксицирующую активность у всех соединений. Они стабилизируют уровень биохимических показателей крови, удерживая их на уровне нормы в условиях гепатотоксичности, индуцированной применением высоких дозировок тертрациклина *in vivo*. Учитывая результаты проведенных ранее исследований на моделях острого терахлорметанового и сочетанного парацетамольно-алкогольного гепатитов, их следует считать перспективными в плане дальнейших доклинических исследований и определения острой токсичности и среднелетальной дозы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Денисова Е.Н. Поражения печени и острая печеночная недостаточность у больных с заболеваниями системы крови // Гематология и трансфузиология. – 2013. – Т. 58, № 2. – С. 40–46.

2. Доценко В.В. Метиленактивные тиоамиды в синтезе S,N-содержащих гетероциклов: дис. … докт. мед. наук. – Краснодар, 2015. – 574 с.

3. Казюлин А.Н., Переяслова Е.В. Лекарственная гепатотоксичность в клинической практике // Медицинский совет. – 2012. – № 5. – С. 37–44.

4. Лекарственные гепатопатии / Полухова Ш.М., Мусаева Э.М., Гусейнова Г.А., Гасымова С.В., Джафарова Р.Э. // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2018. – Т. 17, № 4. – С. 29–36.

5. Магеррамов А.М., Шихалиев Н.Г., Дяченко В.Д., Дяченко И.В., Ненайденко В.Г. α-Цианотиоацетамид. – М.: Техносфера, 2018. – 224 с.

6. Мехтиев С.Н., Зиновьева Е.Н., Мехтиева О.А. Лекарственные поражения печени при многокомпонентной терапии коморбидных состояний // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2015. – № 116 (4). – С. 71–77.

7. Оковитый С.В., Суханов Д.С., Романцов М.Г. Гепатотропные средства: современное состояние проблемы // Терапевтический архив. – 2012. – № 2. – С. 62–68.

8. Dyachenko V.D., Dyachenko I.V., Nenajdenko V.G. Cyanothioacetamide: a polyfunctional reagent with broad synthetic utility // Russian Chemical Reviews. – 2018. – № 87 (1). – P. 1–27. DOI: 10.1070/RCR4760.

9. Gfeller D., Michielin O., Zoite V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules // Bioinformatics. – 2013. – Vol. 29, № 23. – P. 3073–3079.

10. Petronijevic M., Ilic K., Suzuki A. Drug induced hepatotoxicity: data from the Serbian pharmacovigilance database // Pharmacoepidemiol. drug saf. – 2011. – Vol. 20 (4). – P. 416–423.

REFERENCES

1. Denisova E.N. Porazheniya pecheni i ostraya pechenochnaya nedostatochnost' u bol'nyh s zabolevaniyami sistemy krovi [Liver damage and acute liver failure in patients with diseases of the blood system]. *Gematologiya i transfuziologiya* [Hematology and Transfusiology], 2013, Vol. 58, no. 2, pp. 40–46. (In Russ.; abstr. in Engl.).

2. Docenko V.V. Metilenaktivnye tioamidy v sinteze S,N-soderzhashchih geterociklov. Dis. dokt. med. nauk [Methylenactivate thioamides in the synthesis of S,N-containing heterocycles. Ph. D. (Medicine) Thesis]. Krasnodar, 2015. 574 p.

3. Kazyulin A.N., Pereyaslova E.V. Lekarstvennaya gepatotoksichnost' v klinicheskoj praktike [Drug hepatotoxicity in clinical practice]. Medicinskij sovet [Medical advice], 2012, no. 5, pp. 37–44. (In Russ.; abstr. in Engl.).

4. Lekarstvennye gepatopatii [Medicinal hepatopathies]. Poluhova SH.M., Musaeva E.M., Gusejnova G.A., Gasymova S.V., Dzhafarova R.E. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Bulletin of Vitebsk State Medical University], 2018, Vol. 17, no. 4, pp. 29–36. (In Russ.; abstr. in Engl.).

5. Magerramov A.M., SHihaliev N.G., Dyachenko V.D., Dyachenko I.V., Nenajdenko V.G. α-Cianotioacetamid [α-Cyanothioacetamide]. Moscow: Tekhnosfera, 2018. 224 p.

6. Mekhtiev S.N., Zinov'eva E.N., Mekhtieva O.A. Lekarstvennye porazheniya pecheni pri mnogokomponentnoj terapii komorbidnyh sostoyanij [Drug lesions of the liver in multicomponent therapy of comorbid conditions]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya* [Experimental and clinical gastroenterology], 2015, no. 116 (4), pp. 71–77. (In Russ.; abstr. in Engl.).

7. Okovityj C.B., Suhanov D.S., Romancov M.G. Gepatotropnye sredstva: sovremennoe sostoyanie problemy [Hepatotropic drugs: the current state of the problem]. *Terapevticheskij arhiv* [Therapeutic archive], 2012, no. 2, pp. 62–68. (In Russ.; abstr. in Engl.).

8. Dyachenko V.D., Dyachenko I.V., Nenajdenko V.G. Cyanothioacetamide: a polyfunctional reagent with broad synthetic utility. Russian Chemical Reviews, 2018, no. 87 (1), pp. 1–27. DOI: 10.1070/RCR4760.

9. Gfeller D., Michielin O., Zoite V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules. Bioinformatics, 2013, Vol. 29, no. 23, pp. 3073–3079.

10. Petronijevic M., Ilic K., Suzuki A. Drug induced hepatotoxicity: data from the Serbian pharmacovigilance database. Pharmacoepidemiol. drug saf., 2011, Vol. 20 (4), pp. 416–423.

Контактная информация

Бибик Елена Юрьевна – д. м. н., профессор, ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки», e-mail: helen_bibik@mail.ru