

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГЛИЦИНА И ЕГО ФОСФОРИЛИРОВАННОГО ПРОИЗВОДНОГО

Л. М. Макарова<sup>1</sup>

Проведено сравнительное исследование противогипоксической активности глицина и его фосфорилированного производного АКФ 90-7 в дозах 1, 20, 50 и 100 мг/кг. Установлено, что АКФ 90-7 увеличивает выживаемость лабораторных животных при различных видах гипоксии. Противогипоксический эффект глицина сопоставим с эффектом АКФ 90-7 при гистотоксической гипоксии, отсутствует при гемической гипоксии и существенно менее выражен, чем у АКФ 90-7 при гиперкапнической и гипобарической гипоксии.

**Ключевые слова:** гипоксия, глицин, АКФ 90-7

### ВВЕДЕНИЕ

Гипоксия является одной из ключевых проблем теоретической и практической медицины [5, 6]. Широкое распространение заболеваний, сопровождающихся кислородным голоданием, заставляет искать новые, патогенетически обоснованные методы терапии [5].

Одним из направлений современной фармакологии является поиск новых лекарственных средств на основе эндогенных аминокислот [7]. Их фосфорилированные производные сочетают хорошую растворимость в воде с повышенной липофильностью, что облегчает проникновение этих соединений через гистогематические барьеры [8].

Настоящая работа посвящена оценке противогипоксической активности глицина и его фосфорилированного производного — АКФ 90-7 (3-диметоксифосфорил-2-гидрокси-1-пропиловый эфир N-ацетиламиноуксусной кислоты), синтезированного А. А. Озеровым.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 216 мышах линии СВА массой 18 – 20 г. Острую гемическую гипоксию вызывали, вводя внутривенно метгемоглобинообразователь — нитрит натрия в дозе 200 мг/кг [4, 8]. Модель тканевой (гистотоксической) гипоксии создавали за счет внутривенного введения натрия нитропрусида в дозе 20 мг/кг [5]. Гиперкапническую гипоксию моделировали, помещая животных в камеру гермообъемом 250 см<sup>3</sup> [5, 9]. Острую гипобарическую гипоксию воспроизводили поднятием белых мышей в условиях герметичной барокамеры на высоту 11 000 м над уровнем моря со скоростью подъема 150 – 200 м/с [9].

Критерием антигипоксической активности АКФ 90-7 и глицина являлась продолжительность жизни мышей в опыте в сравнении с контролем. При моделировании гемической, тканевой и гиперкапнической гипоксии отсчет времени жизни животных начинали непосредственно сразу после моделирования гипоксии. При гипобарической гипоксии устойчивость к гипоксии оценивали по времени пребывания животных на заданной высоте (11 000 м над уровнем моря) — до последнего агонального вдоха [9].

Исследование проводили на 3 группах лабораторных животных: контрольной (животные с гипоксией, которым вводили физиологический раствор) и 2-х опытных (животные, которым вводили АКФ 90-7 и глицин). Объем вводимых жидкостей в контрольной и опытных группах был эквивалентным. Для исследования противогипоксической активности глицин и АКФ 90-7 вводили внутривенно в дозах 1, 10, 20, 50 и 100 мг/кг за 30 мин до моделирования гипоксии. Для сравнительной оценки противогипоксической активности АКФ 90-7 и глицина использовали болограммы — кривые, отражающие характер зависимости эффекта от дозы [9]. С этой целью проводили вычисление изменения времени жизни (в %) в опытных группах животных относительно контрольной группы животных.

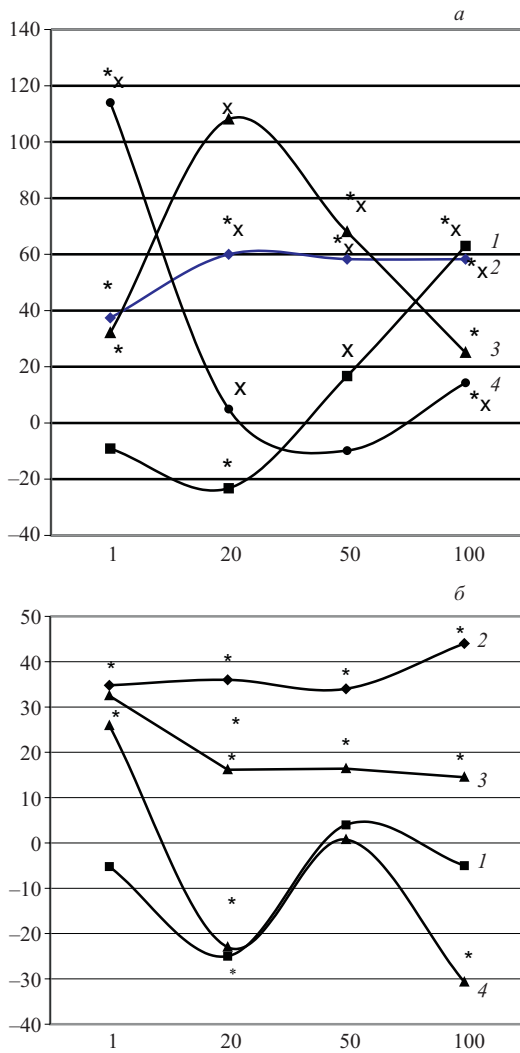
Статистическую обработку результатов проводили внутри серий по *t*-критерию Стьюдента между сериями — по критерию инверсий Вилкоксона – Манна – Уитни [2].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ болограмм, отражающих противогипоксическую активность АКФ 90-7 при гипербарической гипоксии, свидетельствует, что наиболее выраженное действие данного соединения отмечено в дозе 1 мг/кг — увеличение изучаемого показателя составило 114,3 % (рисунок, *a*). Введение АКФ 90-7 в дозах 10 и 50 мг/кг не привело к повышению устойчивости животных к дефициту кислорода, а в дозе 100 мг/кг увеличивало выживаемость животных лишь на 14,1 % (рисунок, *a*). При введении глицина противогипоксическая активность наблюдалась лишь в дозе 1 мг/кг, но она существенным образом была менее выражена, чем у фосфорилированного производного (рисунок, *b*). Применение глицина в дозе 50 мг/кг не оказывало статистически значимого влияния на выживаемость животных, а в дозах 20 и 100 мг/кг даже приводило к сокращению жизни на 23,4 и 30,7 % соответственно (рисунок, *b*).

При гипобарической гипоксии изменяется субстратная специфичность MAO типа А, фермент приобретает способность дезаминировать необычные для себя субстраты: ди- и полиамины, гистамин, АМФ, аминсахара, ГАМК. Изменение каталитических свойств MAO также способствует интенсификации перекисидации мембран вследствие образования в ходе реакций, катализируемых MAO, продуктов с прокси-

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии (зав. — проф. М. Н. Ивашев) Пятигорской государственной фармацевтической академии, Пятигорск, 357532, пр. Калинина, 11.



Изменение времени жизни животных при моделировании гипоксии в опытах с АКФ 90-7 (а) и с глицином (б).

Изменения статистически значимы ( $p < 0,05$ ) относительно: \* — контрольных опытов, x — опытов с глицином. 1 — гемическая гипоксия; 2 — гистотоксическая гипоксия; 3 — гиперкапническая гипоксия; 4 — гипербарическая гипоксия. По оси ординат — выживаемость животных (в %) относительно контрольной группы животных; по оси абсцисс — изучаемые дозы, мг/кг.

дантными свойствами. Таким образом, комплекс метаболических нарушений, происходящих в результате изменения субстратной специфичности MAO, может рассматриваться в качестве одной из стресс-реализующих систем организма [3]. Возможно, АКФ 90-7, повышая резистентность животных к гипербарии, ограничивает нарушения каталитических свойств MAO.

При анализе воздействия АКФ 90-7 на устойчивость мышей к гиперкапнической гипоксии отмечено, что болограмма представляет куполообразную кривую, а максимальный эффект наблюдается в дозе 10 мг/кг — увеличение выживаемости животных относительно контрольной группы составило в среднем 108,4 % (рисунок, а). Введение АКФ 90-7 в дозах 1, 50 и 100 мг/кг увеличивало выживаемость животных со-

ответственно на 32,2, 68,4 и 25,0 % (рисунок, а). Глицин в дозе 1 мг/кг вызывает противогипоксическое действие, аналогичное АКФ 90-7 в данной дозе (рисунок, б). Но глицин в дозах 20 и 50 мг/кг оказывал существенно более низкий противогипоксический эффект, чем эффект, который был выявлен в этих же дозах у его фосфорилированного производного (рисунок, а).

Значительное увеличение времени жизни при введении АКФ 90-7 на модели гиперкапнической гипоксии позволяет рассматривать это соединения как средство, эффективное при состояниях, характеризующихся гиперкапнией. Многочисленными исследованиями установлено, что гиперкапния повышает выброс катехоламинов, а катехоламинемия приводит к спазму артериол, росту периферического сопротивления и выраженным нарушениям реологических свойств крови [5, 7]. Все это является причиной нарушения функций жизненноважных органов и систем организма, в том числе головного мозга [5]. Нарушения мозгового кровообращения обусловлены паралитическим расширением сосудов мозга под влиянием гиперкапнии, что приводит к избыточной продукции ликвора и повышению внутриклеточного давления [4, 6].

Существенные различия в противогипоксической активности у АКФ 90-7 и глицина выявлены и при моделировании гемической гипоксии. Введение АКФ 90-7 в дозе 20 мг/кг уменьшает время жизни животных на 23,2%, в дозе 1 мг/кг не влияет, а в дозах 50 и 100 мг/кг повышает данный показатель на 17,1 и 58,3 % соответственно (рисунок, а). При профилактическом введении глицина ни одна исследуемая доза в условиях введения метгемоглобинообразователя к статистически значимому увеличению времени жизни не приводила, а введение данной аминокислоты в дозе 20 мг/кг (рисунок, б) так же, как и АКФ 90-7 в аналогичной дозе, вызывало уменьшение (на 25%) исследуемого показателя.

Известно, что гемическая гипоксия — это результат несостоятельности крови как газотранспортирующей среды. Такой механизм гипоксии наблюдается при острой и хронической анемии, отравлении окисью углерода, внутрисосудистом гемолизе, при острой дыхательной недостаточности. При метгемоглобинемии в силу развития дефицита энергии и восстановленного НАД · Н<sub>2</sub> происходит перераспределение удельной активности основных путей метаболизма глюкозы [5]. Поэтому выявленное увеличение времени жизни на модели гемической гипоксии при введении АКФ 90-7 свидетельствуют о способности соединения препятствовать метаболическим изменениям в организме (прежде всего со стороны углеводного и кислородного обменов).

При анализе болограмм, отражающих изменение времени жизни животных в условиях гистотоксической гипоксии, отмечено, что АКФ 90-7 (рисунок, а) и

глицин (рисунок, б) в дозе 1 мг/кг оказывают аналогичный противогипоксический эффект, повышая выживаемость животных на 37,4 и 34,3 % соответственно. Но в дозах 20, 50 и 100 мг/кг увеличение времени жизни животных, которым вводили АКФ 90-7 (рисунок, а) было более выражено (15,9 – 23,9 %), чем в опытах с глицином (рисунок, б). Таким образом, на модели гистотоксической гипоксии противогипоксический эффект глицина близок к эффекту АКФ 90-7.

Известно, что при тканевой гипоксии происходит нарушение утилизации кислорода вследствие снижения количества или инактивации дыхательных ферментов (в частности, цитохромоксидазы) и разобщения окислительного фосфорилирования. Возникновение тканевой гипоксии может быть обусловлено и активацией свободнорадикального окисления [5]. В связи с этим увеличение времени жизни при введении АКФ 90-7 и глицина свидетельствует об их способности ограничивать метаболические изменения, вызванные разобщением окислительного фосфорилирования.

Таким образом, установлено, что АКФ 90-7 и глицин повышают устойчивость животных к состояниям, характеризующимся дефицитом кислорода, а эффективность АКФ 90-7 в большинстве случаев превосходит глицин. Увеличение времени жизни животных при введении АКФ 90-7 при гемической, гистотоксической, гипобарической и гиперкапнической гипоксии свидетельствует, что данное производное глицина ограничивает развитие так называемого “гипоксического порочного круга”, для которого характерны катехоламинемия, нарушение микроциркуляции и метаболизма [4, 6].

Зависимость функций центральной нервной системы от снабжения ее кислородом хорошо известна. Две важнейшие причины определяют особую чувствительность ЦНС к кислородному дефициту: высокая функциональная нагрузка головного мозга и рано наступающие при кислородном голодании нарушения биоэнергетики мозга [1, 6]. Учитывая то обстоятельство, что глицин является нейропротектором [4], а головной

мозг является органом, очень чувствительным к дефициту кислорода [1, 6], производное глицина АКФ 90-7 можно рассматривать как перспективное средство для коррекции ишемических повреждений в мозге.

Таким образом, проведенное исследование свидетельствует, что противогипоксический эффект глицина отсутствует при гемической гипоксии, существенно уступает эффекту АКФ 90-7 при гиперкапнической и гипобарической гипоксии и близок к фосфорилированному производному при гистотоксической гипоксии.

## ВЫВОДЫ

1. Глицин оказывает противогипоксическое действие на моделях гистотоксической, гиперкапнической и гипобарической гипоксии.
2. Введение в молекулу глицина фосфорилированного остатка приводит к повышению противогипоксической активности данной аминокислоты.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Биохимия мозга*, И. П. Ашмарин (ред.), Санкт-Петербург (1999).
2. С. Гланц, *Медико-биологическая статистика*, Москва (1998).
3. И. А. Горошинская, И. В. Нескубина, *Вопр. мед. химии*, № 5, 34 – 39 (1999).
4. Е. И. Гусев, В. И. Скворцова, *Ишемия мозга*, Медицина, Москва (2001).
5. К. М. Дюмаев, Т. А. Воронина, Л. Д. Смирнов, *Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС*, Москва (1995).
6. Ю. А. Зозуля, В. А. Барабой, Д. А. Сутковой, *Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга*, Москва (2001).
7. Р. С. Мирзоян, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 4, 3 – 7 (1995).
8. В. И. Петров, И. А. Григорьев, В. А. Аджиенко и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, № 5, 6 – 8 (1996).
9. Л. Н. Сернов, В. В. Гацура, *Элементы экспериментальной фармакологии*, Москва (2000).

Поступила 18.03.05

## EVALUATION OF THE ANTIHYPOXIC ACTIVITY OF GLYCINE AND ITS PHOSPHORYLATED DERIVATIVE

L. M. Makarova

Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy, Pyatigorsk, pr. Kalinina 11, 357532 Russia

The antihypoxant activity of glycine and its phosphorilated derivative AKF 90-7 in doses 1, 20, 50 and 100 mg/kg was studied. AKF 90-7 increases the survival of laboratory animals under the conditions of various hypoxia types. The antihypoxic effect of glycine was the same with the effect of AKF 90-7 in hystoxic hypoxia, but absent on the model of hemic hypoxia and substantially lower than that of AKF 90-7 on the models of hypercapnic and hypobaric hypoxia