ФАРМАКОЛОГИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

ПРОТИВОЯЗВЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ФУРОКСАНОПИРИМИДИНА

М. Э. Каминка[1], М. А. Калинкина[1], Т. В. Пушкина[1], С. М. Тупикина[1], О. Б. Рябова[2], В. А. Макаров[2], В. Г. Граник[2]

Исследовано 4 новых производных фуроксанопиримидина по выявлению у них противоязвенного, антисекреторного и антибактериального (в отношении *Helicobacter pylori*) эффектов. Установлено, что соединение 3 и 4 проявляют противоязвенное действие, не подавляя желудочную кислую секрецию, что выгодно отличает их от известных препаратов — блокаторов H_2-рецепторов, квидитена, и других препаратов применяемых для лечения язвенной болезни желудка. Антибактериальной активностью в отношении *Helicobacter pylori* исследуемые соединения не обладают.

Ключевые слова: доноры оксида азота, производные фуроксанопиримидина, противоязвенная активность, гастропротекторное действие, *Helicobacter pylori*

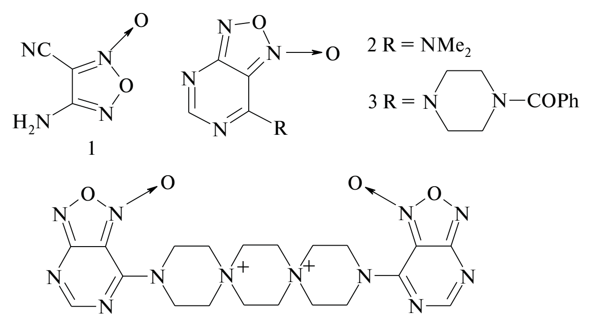
ВВЕДЕНИЕ

Среди факторов, приводящих к ослаблению защитных свойств слизистой оболочки желудка при воздействии на нее ульцерогенных агентов, одно из ведущих мест занимает интенсивность кровотока. Снижение кровотока в слизистой оболочке с последующей инстилляцией в просвет желудка соляной кислоты сопровождается грубыми гистологическими повреждениями структуры [11]. Известно, что препараты улучшающие кровообращение способствуют заживлению язвенного дефекта. Такие данные имеются в литературе в отношении кавинтона, нитроглицерина, молсидомина [5, 8, 10]. В экспериментальных исследованиях также показано, что некоторые доноры оксида азота, в частности, производные фуроксана обладают гастропротекторными свойствами, защищая слизистую оболочку желудка от агрессивных факторов: абсолютного этанола, индометацина и других нестероидных противовоспалительных препаратов, стрессорной язвы [6, 17].

Оксид азота действует как многофункциональный гастропротекторный медиатор, влияющий на ряд аспектов физиологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), включая секрецию слизи и бикарбоната, ток крови в стенках ЖКТ [7, 10]. Кроме того, известны противомикробные свойства NO, в частности, в отношении бактерий *Helicobacter pylori* [1, 12, 16], которым принадлежит важная роль в этиологии язвенной болезни желудка.

В целом способность оксида азота оказывать влияние на механизмы, способствующие защите слизистой оболочки желудка от повреждающих факторов, — одно из перспективных направлений использования NO-доноров [10, 11, 17].

В связи с вышеизложенным нами исследованы производные фуроксанопиримидина по выявлению у них противоязвенной активности. Ранее было показано, что соединения 1 – 4 [1 — (4-амино-2-гидроксифуроксан-3-карбонил); 2 — (7-диметиламино-1, 2, 5-оксодиазоло-[3, 4-d]-пиримидин-1-оксид); 3 – 7-N-бензоилпиперазино-1,2,5-оксодиазоло-[3, 4-d]-пиримидин-1-оксид); 4 — бис(1-оксид-1,2,5-окосодиазоло-[3, 4-d]-пиримидинил-7) трипиперазиния дихлорид] являются генераторами оксида азота, активируют растворимую гуанилат циклазу, проявляют спазмолитическую активность в опытах *in vitro*, в опытах *in vivo* оказывают влияние на артериальное давление и частоту сердечных сокращений [2].



В статье представлены данные о фармакологическом изучении производных фуроксанопиримидина по показателям: антисекреторной активности желудка; гастропротекторного и противоязвенного действия. Проведено также изучение влияние исследуемых соединений на активность *H. pylori*.

---

[1] ФГУП Центр по химии лекарственных средств (ЦХЛС-ВНИХФИ), Москва, 119815, ул. Зубовская, 7.
[2] ФГУП Государственный научный центр НИОПИК, Москва, 103787, ул. Б. Садовая, 4, корп. 1.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование антисекреторной активности проводили на крысах-самцах массой 160 – 180 г, в каждой группе по 7 животных. Влияние исследуемых соединений на секреторную функцию желудка определяли по методу H. Shay и соавт. [15]. Животных лишали пищи в течение 24 ч, в воде не ограничивали. Под эфирном наркозом вскрывали брюшную полость накладывали лигатуру на пилорический отдел желудка. Исследуемые соединения вводили через зонд в желудок за 1 ч до перевязки пилоруса. Через 4 ч крыс забивали ингаляцией CO_2, извлекали желудок, определяли объем секреции в расчете на 100 г массы тела животного и свободную соляную кислоту в ммоль/л.

Гастропротекторную активность изучали на белых беспородных крысах массой 160 – 180 г, в каждой группе по 10 крыс. За сутки до эксперимента животных лишали пищи и воды. Модель язвы желудка, индуцированной абсолютным этанолом, воспроизводили по методу M. Derelanko [9], абсолютный этанол вводили в объеме 1 мл в желудок через 1 ч после введения исследуемых соединений и препаратов сравнения.

Язвы желудка у крыс вызывали вольтареном по методу [13]. Вольтарен (“Ciba-Geigy”, Швейцария) вводили внутрь в дозе 50 мг/кг спустя час после введения изучаемых соединений.

Модель язвы желудка вызванной нарушением сосудистого тонуса (сочетание ингибитора NO-синтазы + абсолютный этанол) воспроизводили по методу D. Palop и соавт. [14]. На протяжении 7 дней до эксперимента животным вводили внутрь ингибитор NO-синтазы — N-нитро-L-аргинин (Fluka) в дозе 20 мг/кг в желудок, в день исследования после введения исследуемых соединений вводили внутрь по 0,5 мл абсолютного этанола.

Хроническую язву желудка у крыс вызывали введением 0,025 мл 20 % уксусной кислоты под серозную оболочку желудка на границе фундального и антрального отделов по методу [18]. Через сутки после операции исследуемые соединения и препараты сравнения вводили через зонд в желудок один раз в день в течение 21 дня. Каждые 7 дней по 6 животных из контрольной и подопытных групп забивали и определяли площадь язвенного дефекта желудка в мм^2.

Для соединений проявивших противоязвенную активность рассчитывали значение $ЭД_{50}$ (доза, при которой происходит рубцевание 50 % от общего количества язв в контроле).

Исследуемые соединения вводили внутрь через желудочный зонд в дозах 50 – 300 мг/кг. Антисекреторную и противоязвенную активность изученных соединений сравнивали с циметидином (“Pharmacia-AD-Pharmachim Holding”, Болгария), который вводили в дозах 10 – 150 мг/кг внутрь; с квидитеном (гидрохлорид ди(2-тиенил)(3-хинуклидил)карбонил), синтезированным в ГУП ЦХЛС-ВНИХФИ [3], который вводили в дозах 5 – 150 мг/кг внутрь. В исследованиях также применяли известные доноры оксида азота — молсидомин (Корватон, “Hoechst Varion Roussel”) в дозе 25 – 100 мг/кг внутрь; а также изосорбид 5-мононитрат (Монозид, “Balkanpharma-Dupnitza AD”, Болгария) в дозе 25 – 200 мг/кг внутрь.

Изучение противомикробной активности проведено в опытах *in vitro* в отношении Campylobacter Jeuni 170. Штамм получен из института стандартизации и контроля медицинских и биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича. Активность препаратов в отношении бактерий определяли методом 2-кратных серийных разведений в жидкой питательной среде Schaedler anaerobe broth (Oxoid). Микробная нагрузка составляла $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл [4]. Бактерии инкубировали при 37 °C в течение 48 ч. Анаэробные условия создавали, помещая исследуемые объекты в анаэробную станцию (Jouan), заполненную газовой смесью CO_2 – 10 %, H2 – 10 %, N_2 – 80 %. Результаты учитывали через 48 ч инкубирования.

Для соединений проявивших антимикробную активность определяли минимальную ингибирующую концентрацию (МИК). Препаратами сравнения при исследовании противомикробной активности были де-нол (висмута трикалия дицитрат ICN “Полифарм”), метронидазол (“Unique Pharmaceutical Laboratories” и молсидомин (Корватон, “Hoechst Varion Roussel”).

Результаты экспериментов обрабатывали методами вариационной статистики для биологических исследований, при сопоставлении средних величин использовали *t*-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что исследуемые производные фуроксанопиримидина предупреждают острые повреждения слизистой оболочки желудка. Как видно из табл. 1, соединение 3 при дозе 50 мг/кг (и выше) вызывает достоверное предупреждение развития язв, вызванных абсолютным этанолом, а также нарушением регуляции сосудистого тонуса и начиная с дозы 100 мг/кг — при язвах желудка, вызванных введением вольтарена. Соединение 4 обладает гастропротекторным действием в отношении язв желудка, вызванных абсолютным этанолом, вольтареном, а также при язве желудка вызванной нарушением сосудистого регулирования (ингибитор NO-синтазы + абсолютный этанол). Препараты сравнения — известные генераторы оксида азота также обладают противоязвенным действием, особенно это свойство выражено у молсидомина и в меньшей мере у изосорбида 5-мононитрата.

Существенно, что при использовании соединения 4 четко прослеживается зависимость эффекта от дозы. Значение $ЭД_{50}$ по различным типам язв для молсидомина, изосорбид 5-мононитрата и соединения 3 установить не удалось, так как не удалось добиться предотвращение язв более чем на 65 – 70 % при повышении дозы вплоть до появления токсических эффектов.

Для соединения 4 величина $ЭД_{50}$ составляет: 75 мг/кг — при язвах желудка, вызванных введением абсолютного этанола, 84 мг/кг — при язвах желудка, вызванных введением вольтарена и 90 мг/кг — при язвах желудка, вызванных сочетанным применением ингибитора NO-синтазы и абсолютного этанола (для циметидина эти величины равны 150, 28 и 50 мг/кг, а для квидитена 9, 2 и 25 мг/кг соответственно).

Таблица 1. **Влияние исследуемых соединений на язвенные поражения желудка у крыс, вызванные абсолютным этанолом, вольтареном и нарушением регуляции сосудистого тонуса**

Соединение	Доза, мг/кг внутрь	Язвы желудка, вызванны		
		абсолютным этанолом, длина участка повреждения в мм	нарушением регуляции сосудистого тонуса, длина участка повреждения в мм	вольтареном, среднее число язв
1	50	84,2 ± 1,8	60,0 ± 0,4	11,0 ± 0,03
2	50	82,0 ± 2,5	88,5 ± 5,0	15,5 ± 0,5
3	25	69,0 ± 1,9	80,0 ± 1,6	15,0 ± 1,3
	50	44,0 ± 1,0*	45,6 ± 2,8	12,4 ± 1,4
	100	25,9 ± 1,0*	32,0 ± 1,0*	8,5 ± 2,5*
	250	18,4 ± 1,0*	19,8 ± 3,7*	4,7 ± 2,2*
4	25	84,0 ± 1,4	87,0 ± 1,3	16,0 ± 0,07
	50	50,0 ± 0,7*	58,0 ± 1,0	12,8 ± 0,1
	100	28,0 ± 1,0*	23,5 ± 0,7*	5,5 ± 0,05*
	250	0	5,0 ± 0,1*	1,5 ± 0,03*
	300	0	0	0
Молсидомин	25	78,8 ± 4,0	70,8 ± 4,5	11,7 ± 3,0
	50	45,5 ± 0,5	47,0 ± 0,8*	8,9 ± 0,3
	100	32,0 ± 0,7*	27,8 ± 3,3*	7,0 ± 2,1*
Изосорбид 5-мононитрат	25	78,0 ± 2,5	71,5 ± 3,3	12,0 ± 2,0
	50	54,0 ± 2,0	60,0 ± 2,4	8,5 ± 2,0
	100	35,5 ± 0,3*	39,0 ± 0,4*	7,5 ± 0,7*
	200	31,0 ± 0,7*	36,4 ± 0,5*	6,8 ± 0,55*
Цемитидин	10	–	84,0 ± 2,0	13,9 ± 1,0
	25	78,3 ± 3,0	58,3 ± 2,0*	8,5 ± 0,7
	50	75,8 ± 4,5	44,1 ± 3,3*	4,2 ± 0,4*
	100	71,6 ± 2,4	34,0 ± 5,0*	0
	150	62,7 ± 2,0	25,1 ± 1,5*	0
Квидитен	5	61,9 ± 9,3	87,1 ± 3,7	4,16 ± 1,2*
	10	38,16 ± 5,7*	59,1 ± 3,7	2,8 ± 1,8*
	25	20,8 ± 1,8*	42,9 ± 4,5*	1,5 ± 1,0*
	50	8,3 ± 0,67*	27,1 ± 2,2*	0
	100	0	12,3 ± 0,5*	–
	150	–	0	–
Контроль	0,3 мл физ. р-ра	85,0 ± 1,0	90,5 ± 1,2	16,2 ± 0,5

Примечание. Физ. р-р — физиологический раствор (0,9 % раствор натрия хлорида). Здесь и в табл. 2: * — отличие от контроля достоверно при $p < 0,05$.

Как видно из представленных значений $ЭД_{50}$ циметидин и квидитен более активны в сравнении с соединением 4 по всем указанным видам язв, так как для достижения эффекта требуются более низкие дозы.

При изучении противоязвенного эффекта на модели хронической язвы желудка, вызванной субсерозным введением раствора уксусной кислоты показано, что соединение 4, и в меньшей мере соединение 3, а также молсидомин и изосорбид 5-мононитрат способствуют заживлению полученного язвенного дефекта. Результаты исследования представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2 соединение 4 в дозе 50 мг/кг внутрь, при введении в течение 7 – 21 дня, ускоряет заживление хронической язвы желудка, вызыванной субсерозным введением уксусной кислоты. Соединение 3, а также молсидомин и изосорбид 5-мононитрат также имеют тенденцию к ускорению заживления язвы, но их эффект выражен значительно слабее.

При сравнении активности соединения 4 с циметидином и квидитеном видно, что также как и при вышеуказанных видах язв желудка, данные препараты активны в более низких дозах, что свидетельствует о их большей эффективности.

При исследовании антисекреторной активности, изученные соединения и известные генераторы оксида азота (молсидомин и изосорбид 5-мононитрат) не оказывали влияния на данный показатель, снижая секрецию соляной кислоты в желудочном соке в среднем на 10 – 15 %. В отличие от них, квидитен и циметидин значительно подавляют базальную секрецию соляной кислоты. $ЭД_{50}$ для циметидина по этому показателю равна $70 \pm 3,9$ мг/кг, для квидитена $ЭД_{50}$ $35 \pm 2,5$ мг/кг.

В опытах *in vitro* изучена антибактериальная активность соединения 4 и препаратов молсидомина и квидитена в отношении *Helicobacter pylori*. Соединение 4 и молсидомин антимикробной активностью не обладают МИГ составила > 500 мкг/мл. Умеренную анти-

Таблица 2. **Влияние исследуемых веществ на заживление у крыс (18 животных) хронической язвы желудка, вызванной уксусной кислотой**

Соединение	Доза, мг/кг внутрь	Повреждения слизистой оболочки желудка в мм^2 на		
		7-й день	14-й день	21-й день
1	50	74,0 ± 5,0	51,4 ± 5,7	17,2 ± 1,4
2	50	77,5 ± 3,5	50,5 ± 4,4	14,5 ± 2,0
3	50	48,0 ± 4,9*	33,5 ± 7,8*	10,1 ± 2,3*
4	50	37,0 ± 4,5*	19,0 ± 4,7*	0
Молсидомин	50	54,0 ± 5,7	44,5 ± 5,0*	9,0 ± 1,0*
Изосорбид 5-мононитрат	50	44,0 ± 4,0*	25,0 ± 5,9*	5,0 ± 0,05*
Циметидин	20	30,0 ± 4,1*	5,5 ± 2,0*	0
Квидитен	15	22,0 ± 2,2*	7,1 ± 0,8*	0
Контроль	–	78,0 ± 5,0	50,0 ± 2,9	15,9 ± 3,9

микробную активность проявил квидитен, МИК которого в отношении *Helicobacter pylori* составила 31,2 мкг/мл. Несколько выше активность у де-нола (15,6 мкг/мл) и наиболее высокую активность проявил метронидазол (1 мкг/мл).

Таким образом, в результате проведенного исследования, показано, что известные генераторы оксида азота (молсидомин и изосорбид 5-мононитрат), а также оригинальные производные фуроксанопиримидина (соединение 3 и 4) обладают гастропротекторным действием в отношении язв желудка вызванных абсолютным этанолом, вольтареном и язвы желудка, вызванной введением ингибитора NO-синтазы и абсолютного этанола, а также способствуют заживлению язвенного дефекта на модели хронической уксусной язвы желудка. При этом изученные соединения не подавляют кислотную желудочную секрецию, что принципиально отличает их известных противоязвенных средств (блокаторов H_2-рецепторов, ингибиторов протонной помпы и квидитена). Противомикробной активностью в отношении *Helicobacter pylori* исследуемые соединения не обладают.

По-видимому противоязвенное действие производных фуроксанопиримидина, а также молсидомина и изосорбида 5-мононитрата связано со свойствами оксида азота улучшать кровообращение в стенках желудочно-кишечного тракта, что способствует устойчивости слизистой оболочки желудка к различным ульцерогенным факторам.

ВЫВОДЫ

1. Среди производных фуроксанопиримидина обнаружены соединения 3 и 4 обладающие противоязвенным действием в отношении острых повреждений слизистой оболочки желудка и при хронических язвах желудка.

2. По противоязвенному эффекту исследуемые соединения уступают активности циметидина и квидитена, но в отличие от них не подавляют кислую желудочную секрецию.

3. Противомикробной активностью в отношении *Helicobacter pylori* производные фуроксанопиримидина не обладают.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. А. Виноградов, *Антибиотики и химиотерапия*, № 2, 24 – 29 (1998).
2. В. Г. Граник, М. Э. Каминка, Н. Б. Григорьев и др., *Хим.-фарм.журн.*, **36**(10), 7 – 11 (2002).
3. М. Э. Каминка, С. М. Тупикина, Н. В. Алексеева и др., *Хим.-фарм.журн.*, **32**(12), 46 – 48 (1998).
4. Л. Г. Мясникова. *Антибиотики и химиотерапия*, № 3, 230 – 235 (1987).
5. Т. А. Хоменко, С. Д. Гройсман, Л. Я. Штанова, Б. Д. Черпак, *Венгерская фармакотерапия*, **2**, 66 – 71 (1993).
6. M. Z. Asmawi, E. Moilanen, K. Annala, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **378**(1), 123 – 127 (1999).
7. U. K. Bandarage and D. R. Janero, *Mini Reviews in Melicinal Chemistry*, No. 1, 57 – 70 (2001).
8. S. Calataynd, R. F. Diaz, R. Belllo, et al., *Meth. And Find. Exp. And Clin. Pharmacology*, **19A**, 71 (1997).
9. M. Derelanco and J. Long J., *Proc. Soc / Exp. Biol. Med.*, **166**(3), 394 – 397 (1981).
10. N. Grosser and H. Schroder, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **274**(1), 255 – 258 (2000).
11. O. M. Laudanno, J. A. Cesolari, and P. San Miguel, *Acta Gastroenterol Latinoam.*, **23**(2), 65 – 69 (1993).
12. S. Miura, *J. Gastroenterol*, **34**, 717 – 720 (1999).
13. W. M. O'Brien, *Pharmacology*, **25**, 9 – 11 (1982).
14. D. Palop, L. Conejo, A. Sacristan, et al., *Arzneim.-Forsch. / Drug Res.*, **47**(1), 468 – 471 (1997).
15. H. Shay, S. Komarov, S. Fels, et al., *Gastroenterology*, № 5, 43 – 61 (1945).
16. A. Shiotani, K. Yanaoka, M. Iguchi, et al., *J. Gastroenterol.*, **34**, 668 – 670 (1999).
17. G. Sorba, A. Gasco, G. Coruzzi, et al., *Arzneim.-Forsch. / Drug Res.*, **47**(7), 411 – 420 (1997).
18. K. Takagi, S. Okabe, and R. Saziki, *Jap. J. Pharmacol.*, **19**, 418 – 426 (1969).

Поступила 31.03.03.

ANTIULCEROUS ACTIVITY OF FUROXANOPYRIMIDINE DERIVATIVES

M. E. Kaminka[1], M. A. Kalinkina[1], T. V. Pushkina[1], S. M. Tupikina[1], O. B. Ryabova[2], V. A. Makarov[2], and V. G. Granik[2]

[1] State Center for Drug Chemistry – All-Russia Institute of Pharmaceutical Chemistry, ul. Zubovskaya 7, Moscow, 119815 Russia
[2] Research Institute of Organic Semiproducts and Dyes, State Scientific Center, ul. Bol'shaya Sadovaya 4, korp. 1, Moscow, 103787 Russia

A series of four new furoxanopyrimidine derivatives was synthesized and studied with respect to antiulcerous, antisecretory, and antibacterial activity. Two compounds exhibit antiulcerous effect not accompanied (in contrast to the well-known H_2 receptor blockers, quiditene, and other antiulcerous drugs) by inhibition of gastric acid secretion. No one of the studied compounds exhibited antibacterial activity in the tests with *Helicobacter pylori*.