

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ РЯДА АЦИЛГИДРАЗИДОВ 1, 4-ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Н. В. Колотова, А. В. Старкова

ФГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия»

Поступила в редакцию 22.03.2017 г.

Аннотация. Исследованы инсектицидная активность и влияние на гемостаз ацилгидразидов 1, 4-дикарбонных кислот. Изучение влияния соединений на гемостаз проводили на коагулометре «АПГ4-02-П» для пяти соединений. Исследования проводили на цитратной (3,8%) крови (9:1) кроликов. В качестве препарата сравнения использовали 50 мкл гепарина в концентрации 1 ЕД/мл крови или 50 мкл раствора этамзилата в концентрации 0,2%. Для контроля вместо вещества добавляли 50 мкл изотонического раствора хлорида натрия. Пробы инкубировали в течение 60 сек. Степень влияния соединений на гемостаз определяли по изменению времени свертывания цитратной крови в контроле и опыте. Оценка биологической активности в экспериментах на кроликах осуществлялась в соответствии с требованиями Фармакологического комитета. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ. Гемостатическое действие обнаружено для двух соединений – натриевой соли ацетилгидразида и метоксиацетилгидразида фталевой кислоты. Установлено, что натриевая соль ацетилгидразида фталевой кислоты по своему гемостатическому эффекту не уступает действию препарата этамзилат. Калиевая соль этого гидразида неактивна. Феноксиацетилгидразид цитраконовой кислоты и фенилгидроксиацетилгидразид тетрахлорфталевой кислоты влияния на гемостаз не оказали. Инсектицидная активность исследована на личинках комаров Chironomidae (мотыль) для 6 ацилгидразидов 1, 4-дикарбонных кислот. В чашку Петри помещали 5 мл 0,1% водного раствора исследуемых соединений и погружали 5 личинок комаров. Эффект действия соединений определялся временем наступления смерти. В качестве эталонов использовали имидаклоприд (танрек), диазинон и пиримифос. Для пяти соединений инсектицидная активность не обнаружена. Инсектицидное действие фенилацетилгидразида цитраконовой кислоты аналогично эффекту препарата диазинон. Ацилгидразиды янтарной, фталевой кислот и соли ацилгидразидов фталевой кислоты на продолжительность жизни личинок комаров влияния не оказали. Результаты исследования инсектицидной активности соединений и влияния на гемостаз обработаны способом вариационной статистики по методу Фишера-Стьюдента. Проведен анализ «структура – биологическое действие» для исследованных монозамещенных ацилгидразидов 1, 4-дикарбонных кислот.

Ключевые слова: ацилгидразиды 1,4-дикарбонных кислот, инсектицидная, антикоагулянтная, гемостатическая активности.

В разных областях медицины применяют лекарственные средства, понижающие или повышающие свертываемость крови.

Общим показанием к применению антикоагулянтов является склонность к тромбообразованию. Их широко используют в хирургической и терапевтической практике для профилактики и лечения заболеваний, обусловленных тромбозом. Однако у имеющих в настоящее время прямых антикоагулянтов имеются недостатки. Наиболее часто встречающимися из них являются реакции

в местах инъекций (уплотнение, раздражение, боль, гематома, некрозы кожи), развитие тромбоцитопении, риск возникновения геморрагических осложнений, усиление тромбообразования после отмены препарата, высокая стоимость [1, 2].

Профилактика и остановка кровотечений имеют важнейшее значение в различных областях клинической медицины, прежде всего, в гематологии, хирургии, травматологии, онкологии, акушерстве. Естественный гемостаз происходит при незначительных ранениях. Для того, чтобы остановить более серьезные кровотечения, необходимо при-

менение гемостатических средств. С этой целью применяют препараты, имеющие различные механизмы воздействия. Однако, имеющиеся в настоящее время гемостатики обладают рядом недостатков, ограничивающих их применение [3, 4, 5].

Все это обуславливает актуальность поиска и изучения новых соединений, влияющих на гемостаз.

Как известно, кровососущие комары представляют опасность для здоровья человека в связи с тем, что являются переносчиками опасных заболеваний, в первую очередь малярии кроме того их укусы часто становятся причиной аллергических реакций. Существующие эффективные инсектицидные средства при широком применении могут вызвать нарушение координации, тремор, и диарею. Являясь остро и хронически ядовитыми для человека и животных, эти препараты становятся безопасными по отношению к вредителям, выработавшим устойчивость к ним. Необходима смена одних инсектицидных препаратов другими, что обуславливает поиск новых, более безопасных и эффективных средств [6].

Ранее среди ацилгидразидов янтарной и малеиновой кислот были обнаружены соединения оказывающие влияние на гемостаз [7-12]. В более поздних работах описаны антикоагулянтное и гемостатическое действия для монозамещенных ацилгидразидов диметилмалеиновой, цитраконовой, итаконовой и фталевых кислот [13, 14, 15].

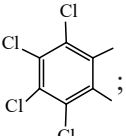
Впервые у ряда монозамещенных гидразидов 1,4-дикарбоновых кислот мы обнаружили инсектицидную (противокомариную) активность [13, 16, 17].

В настоящей работе мы продолжаем наши исследования с целью поиска среди ацилгидразидов 1,4-дикарбоновых кислот соединений с этими видами активности и установления в дальнейшем зависимости «структура - биологическое действие».

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве объектов исследования использовали ацилгидразиды и соли ацилгидразидов янтарной, цитраконовой, фталевой и тетрафторфталевой кислот, полученные по известным методикам [18 - 21], общей формулы:



где X-Y: $-CH_2-CH_2-$, $-CH=C(CH_3)-$, $-C(CH_3)_2-$, $-C(CH_3)=CH-$, $-C(CH_3)_2-$, $-C(CH_3)=CH-$, $-C(CH_3)_2-$, $-C(CH_3)=CH-$; 

R_1 : $CH_3CONHNH$, $CH_3OCH_2CONHNH$, $C_6H_5CH_2CONHNH$, $C_6H_5CH(OH)CONHNH$;
 R_2 : H, Na, K

Противокомариная активность соединений изучалась на личинках комаров Chironomidae (мотыль). В чашку Петри помещали 5 мл 0,1% водного раствора исследуемых соединений и погружали 5 личинок комаров. Эффект действия соединений определялся временем наступления смерти. В качестве эталонов использовали имидаклоприд (танрек), диазинон и пиримифос, широко применяемые в качестве инсектицидных средств.

Результаты исследования инсектицидной активности соединений обработаны способом вариационной статистики по методу Фишера-Стьюдента [22].

Изучение влияния соединений на гемостаз проводили на коагулометре «АПГ4-02-П». Для исследования использовали цитратную (3,8%) кровь (9:1) кроликов. Для определения активности в кювету помещали 50 мкл крови и добавляли 50 мкл 0,2% раствора исследуемого соединения, для контроля вместо вещества добавляли 50 мкл изотонического раствора хлорида натрия. В качестве препарата сравнения добавляли 50 мкл гепарина в концентрации 1 ЕД/мл крови или 50 мкл раствора этамзилата в концентрации 0,2%. Затем пробы инкубировали в течение 60 сек. Добавляли 50 мкл 1% раствора хлорида кальция и приступали к измерению времени свертывания крови.

Степень влияния соединений на гемостаз определяли по изменению времени свертывания цитратной крови в контроле и опыте и статистически обрабатывали с использованием коэффициента Стьюдента [22].

Оценка биологической активности в экспериментах на животных осуществлялась в соответствии с требованиями Фармакологического комитета, изложенных в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [23]. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ Р 51000.3-96 Общие требования к испытательным лабораториям) и Приказу МЗ РФ №267 от 19.06.2003г. «Об утверждении правил лабораторной практики» (GLP), с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997 г.).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате исследований инсектицидной активности у 4 ацилгидразидов янтарной, цитраконовой, фталевой кислот и 2 солей гидразидов фталевой кислоты (табл.1) было обнаружено

одно соединение (3), эффект которого сопоставим с действием диазинона. Ранее было установлено, что ацетилгидразид фталевой кислоты обладает противокомариным действием [17], замена в этом соединении иона водорода на ионы натрия и калия (соед. 4 и 5) приводит к потере активности. Инсектицидное действие ацетилгидразидов янтарной кислоты ранее не изучалось. Ацетилгидразид (соед. 1) и метоксиацетилгидразид (соед. 2) янтарной кислоты не оказали влияния на продолжительность жизни личинок.

Известно, что для ряда ацилгидразидов цитраконовой кислоты характерно только гемоста-

тическое действие [15]. Среди ацилгидразидов фталевой кислоты обнаружены соединения с антикоагулянтной и гемостатической активностью; действие феноксиацетилгидразида тетрахлорфталевой кислоты равно гемостатическому эффекту этамзилата [11].

Результаты исследования влияния соединений на время свертывания крови приведены в таблице 2. Феноксиацетил гидразид цитраконовой кислоты (соед. 1) не оказывает влияния на время свертывания крови, как и ацетил- и трифторацетилгидразиды этой кислоты [15]. Действие ацетилгидразида фталевой кислоты аналогично

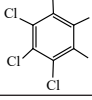
Таблица 1

Инсектицидная активность соединений

n\п	X-Y	R ₁	R ₂	Продолжительность жизни личинок, мин., (опыт)	Продолжительность жизни личинок, (контроль)
1.	-CH ₂ -CH ₂ -	CH ₃ CONHNH	H	более 200	1 сутки
2.	-CH ₂ -CH ₂ -	CH ₃ OCH ₂ CONHNH	H	более 200	1 сутки
3.	-CH=C(CH ₃)-	C ₆ H ₅ CH ₂ CONHNH	H	15.0±2.51	1 сутки
4.		CH ₃ CONHNH	Na	более 200	1 сутки
5.		CH ₃ CONHNH	K	более 200	1 сутки
6.		CH ₃ OCH ₂ CONHNH	H	более 200	1 сутки
Эталоны		Диазинон		17.0±1.87	1 сутки
		Пиримифос		24.5±1.69	1 сутки
		Имидаклоприд		43.5±3.39	1 сутки

Таблица 2

Влияние соединений на время свертывания крови

n\п	X-Y	R ₁	R ₂	Кол-во кроликов, контроль	Время свертывания, сек. контроль	Кол-во кроликов, опыт	Время свертывания, сек., опыт	% изменения свертываемости	P
1.	CH=C(CH ₃)	C ₆ H ₅ OCH ₂ CONHNH	H	10	15.5 ± 6.83	10	167.0 ± 6.63	-10.9	>0.05
2.		CH ₃ CONHNH	Na	10	118.6 ± 2,11	10	95.6 ± 5,19	+19.4	<0.01
3.		CH ₃ CONHNH	K	10	126.4 ± 4.94	10	115.3 ± 4.08	+8.8	>0.05
4.		CH ₃ OCH ₂ CONHNH	H	10	152.1 ± 5.21	10	133.5 ± 6.60	+12.2	<0.05
5.		C ₆ H ₅ CH(OH)CONHNH	H	10	146.9 ± 6.09	10	130.0 ± 7.15	+11.5	>0.05
Эталоны		Этамзилат		10	144.1 ± 7.83	10	121.0 ± 7.20	+16.0	<0.05
		Гепарин		10	145.7 ± 9.64	10	618.3 ± 55.88	-324.4	<0.001

эффекту этамзилата [14], замена иона водорода в кислотном фрагменте на ион натрия (соед. 2) несколько усиливает этот эффект, а введение иона калия (соед. 3) приводит к потере активности. Введение метоксильной группы в ацетильный фрагмент гидразида фталевой кислоты (соед. 4) несколько уменьшает гемостатическую активность незамещенного ацетилгидрида этой кислоты [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поиск соединений среди ацигидразидов 1, 4-дикарбоновых кислот с инсектицидным действием и влиянием на время свертывания крови является перспективным. Инсектицидное действие фенилацетилгидразида цитраконовой кислоты аналогично эффекту препарата диазинон. Ацетилгидразид фталевой кислоты по своему гемостатическому эффекту не уступает действию препарат атамзилат.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Blommel M.L., Blommel A.L. // Am. J. Health Syst. Pharm. 2011. Vol. 68 (16), pp. 1506 – 1519.
2. Mak K.-H. // European heart journal. 2011. Vol. 32, pp. 20-22.
3. Бояринцев В.В., Назаров В.Б., Фрончек Э.В., Самойлов А.С., Юдин А.Б., Коваленко Р.А. // Медицина катастроф. 2010. №3. С.23-25.
4. Pusateri A., McCarthy S., Gregory K. // Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care. 2003. Vol.54, pp. 177–182.
5. Alam Hasan B., Chen Z., Miller D. // Ibid. 2004. Vol.56(5), pp. 974–983.
6. Syropatov B.Ya., Kolotova N.V., Goldobina Yu.A., Zhovanik A.V. // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. 2014. № 12. С.52-55.
7. Чернобровин Н.И. // Бюл. №16. – РЖ Химия 17032П. 1992. №17. С.7-8.
8. Андрейчиков Ю.С. //Изобретения. 1992. №8. С.247
9. D'Angelo J. //Isr.J. Cyem. 1997.Vol.37, pp. 81 – 85.
10. Arakelian A.N. // J. Org. Chem. 1960. Vol. 25, pp. 465 – 467.
11. Черних В.П. // Фармацевтический журнал. 1983. №4. С. 27 – 30.
12. Сыропятов Б.Я., Н.В. Колотова, А.В. Долженко. //Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2012. №5. С.31-36.
13. Колотова Н.В., А.В. Старкова, С.В. Чащина //Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. 2016. №3(13). С. 15 – 23.
14. Сыропятов Б.Я. Колотова // «Инновации в науке», сборник трудов XVI Международной заочной научно-практической конференции, 28 января 2013 г., Москва, 2013. - с. 139 -147.
15. Сыропятов Б.Я., Колотова Н.В.//Вопросы биологической, медицинской, и фармацевтической химии. 2015. №6. С.54-56.
16. Сыропятов Б.Я. //Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2015. №8. С. 19-22.
17. Сыропятов Б.Я. //Вопросы медицинской, биологической и фармацевтической химии. 2014. №11. С. 52-55.
18. Dolzhenko A.V. //Pharmaceutical Chemistru Journal. 2003. Vol. 37, pp. 186 – 188.
19. Dolzhenko A.V.//Pharmaceutical Chemistru Journal. 2002. Vol. 36, pp. 174 – 176.
20. Dolzhenko A.V.//Pharmaceutical Chemistru Journal. 2003. Vol. 37, pp. 229 – 231.
21. Колотова Н.В. // Рукопись деп. ВИНТИ 29.09.1997. №2940-B97. Пермь. 1997. 1-31.
22. Прозоровский В.В. //Психофармакология и биологическая наркология. 2007. Т.7. Вып. 3-4. С. 2090-2120.
23. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Москва, Гриф и К, 2012, ч.1. 197с.

Пермская государственная фармацевтическая академия

Колотова Н. В., к.х.н., доцент кафедры аналитической химии

Тел.: +7 (342) 282-58-56

e-mail: kolotova.nina49@mail.ru

Perm State Pharmaceutical Academy

Kolotova N. V., PhD, Assistant Professor of analytical chemistry

Ph.: +7 (342) 282-58-56

e-mail: kolotova.nina49@mail.ru

Старкова А. В., к.м.н., доцент, кафедры физиологии

Тел.: +7 919 442-90-34

e-mail: allaperm@list.ru,

Starkova A. V., PhD, Assistant Professor of Department of Physiology

Ph.: +7 919 442-90-34

E-mail: allaperm@list.ru,

BIOLOGICAL ACTIVITY OF A SERIES ACYLHYDRAZIDES 1, 4-DECARBOXYLIC ACIDS

N.V.Kolotova, A.V. Starkova

Perm State Pharmaceutical Academy

Abstract. Insecticidal activities and influence on hemostasis of acylhydrazides 1, 4 – dicarboxylic acids were investigated. To study the effect of compounds on hemostasis were performed on coagulometer "АИП 4-02-Р" for the five compounds. The study was performed on citrate (3,8%) blood (9:1) rabbits. As the comparison drug used 50 µl of heparin at a concentration of 1 U/ml of blood or 50 µl etamzilat at a concentration of 0.2%. For control, 50 µl of isotonic sodium chloride solution was added instead of the substance. Samples were incubated for 60 sec. The degree of influence of compounds on hemostasis was determined by the change in clotting time of citrate blood in control and experience. Evaluation of biological activity in rabbit experiments was carried out in accordance with the requirements of the Pharmacological Committee. The content of animals conformed to the rules of laboratory practice during preclinical studies in the Russian Federation. The hemostatic action was discovered for two compounds – sodium salt acetylhydrazide and methoxyacetanilide phthalic acid. Found that the sodium salt of phthalic acid acetylhydrazide its hemostatic effect is not inferior to the action of the drug etamzilat. The potassium salt of this hydrazide is inactive. Phenoxyacetylhydrazide of citraconic acid and phenylhydroxyacetylhydrazide of tetrachlorophthalic acid had no effect on hemostasis. Insecticidal activity was investigated on the mosquito larvae Chironomidae (bloodworms) for 6 acylhydrazides 1, 4-dicarboxylic acids. The Petri dishes were placed 5 ml of a 0.1% aqueous solution of the studied compounds and was loaded with 5 mosquito larvae. The effect of the compounds was determined by the time of death. As template we used Imidacloprid, diazinon and pirimiphos. For five compounds, insecticidal activity was not detected. Insecticidal action of phenylacetylhydrazide citraconic acid is similar to the effect of diazinon. Acylhydrazides of succinic acid, phthalic acid and phthalic acid acylhydrazide salts had no influence on the longevity of mosquito larvae. The results of the investigation of the insecticidal activity of the compounds and the effect on hemostasis were processed by the Fisher-Student variational statistics method. The analysis of "structure – biological activity" for the studied monogamistic of acylhydrazides 1, 4-dicarboxylic acids.

Keywords: acylhydrazides 1, 4-dicarboxylic acids, insecticidal, anticoagulant, hemostatic activity.

REFERENCES

1. Blommel M.L., Blommel A.L.//Am. J. Health Syst. Pharm. 2011. Vol. 68 (16), pp. 1506 – 1519.
2. Mak K. - H.//European heart journal. 2011. Vol. 32, pp. 20-22.
3. Boyarintsev V.V., Nazarov V.B., Fronchek E.V., Samoylov Ampere-second., Yudin A.B., Kovalenko R.A.//Medicine of accidents. 2010. No. 3, pp-23-25.
4. Pusateri A., McCarthy S., Gregory K.//Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care. 2003. Vol.54, pp. 177–182.
5. Alam Hasan B., Chen Z., Miller D.//Ibid. 2004. Vol.56(5), pp. 974–983.
6. Syropatov B.Ya., Kolotova N.V., Goldobina Yu.A., Zhovanik A.V.//Questions of biological medical and pharmaceutical chemistry.-2014.-№ 12, pp. 52-55.
7. Chernobrovin N.I.//Bulletin No. 16. – RZh Chemistry 17032P. – 1992. - №. 17, pp. 7-8.
8. Andreychikov Yu.S.//Inventions. 1992. No. 8, p. 247
9. D'Angelo J.//Isr.J. Cyem. 1997. Vol.37, pp. 81 – 85.
10. Arakelian A.N.//J. Org. Chem. 1960. Vol. 25, pp. 465 – 467.
11. Chernikh V. P.//Pharmaceutical magazine.-1983. - No. 4, pp. 27 – 30.
12. Syropatov B.Ya., N.V. Kolotova, A.V. Dolzhenko.//Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2012. No. 5, pp. 31-36.
13. Kolotova N.V., A.V. Starkova, S.V. Chashchina//Questions of ensuring quality of medicines. 2016. No. 3, pp. 15 – 23.

14. Syropyatov B.Ya. Kolotov// "Innovations in science", collection of works XVI of the International correspondence scientific and practical conference, on January 28, 2013, Moscow, 2013, pp. 139 - 147.
15. Syropyatov B.Ya., Kolotova N.V.//Questions of biological, medical, and pharmaceutical chemistry. 2015. No. 6, pp.54-56.
16. Syropyatov B.Ya.//Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2015. No. 8, pp. 19-22.
17. Syropyatov B.Ya.//Questions of medical, biological and pharmaceutical chemistry. 2014. No. 11, pp. 52-55.
18. Dolzhenko A.V.//Pharmaceutical Chemistry Journal. 2003. Vol. 37, pp. 186 – 188.
19. Dolzhenko A.V.//Pharmaceutical Chemistry Journal. 2002. Vol. 36, pp. 174 – 176.
20. Dolzhenko A.V.//Pharmaceutical Chemistry Journal. - 2003.-Vol. 37, pp. 229 – 231.
21. Kolotova N.V.//Manuscript деп. You BLAME 9/29/1997. No. 2940-B97. Perm. 1997, pp.1-31.
22. Prozorovsky V.V.//Psychopharmacology and biological narcology. 2007. T.7. Issue 3-4, pp.2090-2120.
23. Mironov A.N. Guide to carrying out preclinical researches of medicines. Moscow, the Signature stamp and To, 2012, pt.1, 197 p.