

УДК 615.9:547 587.51

В.Ю. Євсюкова, І.Д. Андреева, В.В. Казмирчук, В.І. Юзменко  
ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України», м. Харків

### ВИВЧЕННЯ ТОКСИЧНИХ ЕФЕКТІВ ПОХІДНИХ 2H-ПІРАНО[2,3-с]ПІРИДИНІВ

В експериментах на лабораторних мишах досліджено токсичні ефекти похідних 2H-пірано[2,3-с]піридинів. Встановлено належність новосинтезованих сполук до IV класу токсичності – малотоксичні речовини. Доведено перспективність подальших токсикофармакологічних досліджень похідних 2H-пірано[2,3-с]піридинів з метою створення на їх основі протимікробних лікарських засобів.

**Ключові слова:** похідні 2H-пірано[2,3-с]піридинів, токсичність.

*Робота є фрагментом науково-дослідної роботи АМН 81/2008 – 2010, № держреєстрації 0108U001293 та є фрагментом досліджень токсичної дії 2H-пірано[2,3-с]піридинів як потенційних лікарських засобів.*

Незважаючи на успіхи сучасної медицини, захворюваність на інфекційні хвороби в Україні та в більшості країн світу, залишається на високому рівні, і боротьба з ними є одним із пріоритетних напрямків охорони здоров'я у світі [2]. Починаючи з другої половини ХХ сторіччя і до теперішнього часу провідна роль в лікуванні інфекцій належить антибіотикам [2-4]. Головним негативним явищем, що обумовлює зниження ефективності антибактеріальної терапії є постійно прогресуюча полірезистентність мікроорганізмів до антибіотиків [2, 4, 14]. Щорічні витрати на лікування ускладнень антибіотикотерапії, викликаних резистентними мікроорганізмами, лише у США становлять 4 млрд. доларів [4, 6]. Протягом останніх 50 років у всіх країнах світу розробляються та упроваджуються різні заходи з метою захисту від полірезистентності до антибактеріальних препаратів, у тому числі відновлення пошуку радикально відмінних ліків, які не повинні мати структурної подібності з існуючими антибіотиками і, виходячи з цього, не бути мішенню для вже існуючих механізмів резистентності [2, 4, 5, 10]. Перспективними в плані пошуку високоактивних сполук з протимікробними властивостями є синтетичні похідні 2H-пірано[2,3-с]піридинів та їх гетероаналоги [7]. Попередніми власними дослідженнями [13] доведено широкий спектр та високий ступінь протимікробної активності похідних 2H-пірано[2,3-с]піридинів та повільне формування резистентності до них грампозитивних, грамнегативних мікроорганізмів та грибів роду *Candida*. Проблема безпеки лікарських засобів стає все більш актуальною, що насамперед пов'язано із збільшенням кількості лікарських засобів та їх високою активністю, яка може супроводжуватися виникненням різних за проявом та ступенем тяжкості побічних реакцій [1] У теперішній час банк даних про серйозні побічні реакції, які зареєстровані у світі, налічує майже п'ять млн. повідомлень, а в Україні з 1996 року – більше сорока тисяч [3] Летальність внаслідок побічних реакцій займає п'яте місце в світі після захворювань серцево-судинної системи, легень, онкопатології та травм [11] 2 – 3 % загальної популяції людей страждає від побічних реакцій лікарських засобів та їх наслідків [3, 6]

**Метою** роботи було визначення потенційної токсичності похідних 2H-пірано[2,3-с]піридинів в експерименті на лабораторних тваринах (мишах) при їх одноразовому та багаторазовому введенні.

**Матеріал та методи дослідження.** Дослідження проведено відповідно наказу МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» та діючим на теперішній час методичних рекомендацій [5, 8, 9]. Досліджено три найбільш перспективні за нашими попередніми даними [13] похідні 2H-пірано[2,3-с]піридинів, що були синтезовані в ХНФУ на кафедрі органічної хімії, а саме: сполука 1 (1) – похідної 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2H-пірано[2,3-с]піридин-3-N-арикарбоксамідів; сполука 2 (5) - 2-N<sup>2</sup>-ариліміно-5-гідроксиметил-8-метил-2H-пірано[2,3-с]піридин-3-N<sup>1</sup>-арикарбоксамідів та сполука 5 (7) – похідної 2-N<sup>2</sup>-ариліміно-3-N<sup>1</sup>-арилкарбоксамідо-8-метил-2H-пірано[2,3-с]піридин-5-іл)-метилацетатів. Експерименти проведені на 224 нелінійних білих мишах обох статей, масою тіла 18 – 22 г, віком 2,0 – 2,5 місяці, яких утримували в умовах віварію ДУ «ІМІ ім. І.І. Мечникова АМН України». Усі роботи з тваринами проводилися з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиви ЄС №609 від 24.11.1986 р. і МОЗ України №281 від 01.11.2000 р. З метою визначення параметрів гострої токсичності похідних 2H-пірано[2,3-с]піридину сполуки розчиняли у поліпропіленгліколі та вводили тваринам одноразово вранці натщесерце підшкірно в об'ємі 1 мл. Тварини були рандомізовано розподілені за методом випадкового вибору на п'ять дослідних груп по 8 голів у кожній. При дослідженні використовували різні дози досліджених сполук - переносимі, токсичні та дози летальні. Сполуку 1(1) вводили у дозах 300, 600, 900, 1200, 1500 мг/кг маси тіла, сполуку 2(5) – у дозах 100, 150, 300, 600, 1000 мг/кг маси тіла та сполуку 5(7) - у дозах 150, 300, 600, 1000, 1500 мг/кг маси тіла. Контролем служили тварини, яким вводили розчинник. Головним критерієм гострої токсичності була загибель тварин. Спостереження за станом тварин, що залишилися живими, проводили впродовж 14 діб після введення сполук. У ході спостереження враховували клінічний стан тварин, рухову активність, особливості поведінки, оцінювали прийом корму і води. Мінімальні дози не спричиняли у мишей ніяких токсичних реакцій, максимальні дози викликали загибель всіх піддослідних тварин. Спостерігали за часом загибелі тварин та кількістю загиблих тварин

у групі. За тваринами, що залишились живими, після ін'єкції продовжувалось спостереження на протязі 14 днів. Середні смертельні дози ( $LD_{50}$ ) розраховували за методом Кербера.

З метою встановлення порогових доз при повторних введеннях похідних 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридину білим безлінійним мишам з масою тіла 18 – 22 г, сполуки вводили один раз на добу підшкірно у розчині поліпропіленгліколю в об'ємі 1,0 мл на протязі 14 днів. Тривалість повторних введень була обрана з урахуванням передбачаємого потенційного використання 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів у якості протимікробних засобів. Досліджувані сполуки вводились у трьох дозах: умовно терапевтичної (мінімальної), максимальної для виявлення передбаченої токсичності та проміжної між мінімальною та максимальною [5]. Вибір доз ґрунтувався на результатах дослідження гострої токсичності та визначався фіксованими частинами  $LD_{50}$ . В залежності від отриманих доз сполук піддослідні тварини були розподілені на три групи по 8 голів у кожній: 1 група – 1/5  $LD_{50}$ , 2 група - 1/10  $LD_{50}$ , 3 група – 1/275  $LD_{50}$ . Контролем служили тварини, яким вводився розчинник (1,0 мл поліпропіленгліколю). За підслідними тваринами спостерігали наступні 30 діб. У тварин в усіх групах до початку експерименту та на 7, 14, 20 та 30 добу після його завершення проводили реєстрацію специфічних та неспецифічних симптомів інтоксикації, клінічної картини її розвитку, перебігів та наслідків.

**Результати дослідження та їх обговорення.** У результаті проведених досліджень гострої токсичності похідних 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів встановлено, що при одноразовому підшкірному введенні досліджуваних сполук мишам  $LD_{50}$  перебувала у діапазоні 156,25 – 937,5 мкг/кг.  $LD_{50}$  сполуки 1(1) складала 937,5 мг/кг маси тіла,  $LD_{50}$  сполуки 2(5) – 156,25 мг/кг маси тіла та  $LD_{50}$  сполуки 5(7) – 625,0 мг/кг маси тіла, а загибель тварин спостерігалась на першу – третю добу. Після підшкірного введення речовин, найчастіше сполуки 2(5), спостерігались дозозалежні явища гострого отруєння тварин, які характеризувалися в'ялістю, загальною слабкістю, зниженням реакції на подразники, зменшенням рухомої активності, що було інтерпретовано як вірогідний побічний вплив досліджуваних речовин на сенсорну та соматомоторну системи. З урахуванням шляху введення відповідно класифікації речовин за токсичністю похідні 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів було віднесено до 4 класу небезпеки – малотоксичні речовини. При порівнянні токсичних властивостей досліджених похідних 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів встановлено, що сполуки 1(1) та 5(7), середні летальні дози яких відповідно дорівнюють 937,5 мг/кг та 625,0 мг/кг маси тіла, володіють меншим ступенем токсичності, ніж сполука 2(5), середня летальна доза якої (156,25 мг/кг маси тіла) наближається до лімітуючого показника даного класу.

При дослідженні впливу багаторазових введень похідних 2*H*-пірано[2,3-*c*]піридинів проводилось візуальне спостереження за тваринами та визначались гематологічні показники. Після 14-денного курсу ін'єкцій сполуки 5(7) - похідної 2-*N*2-ариліміно-3-*N*1-арилкарбоксамідо-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-5-іл)-метил-ацетатів у тварин першої дослідної групи (1/5  $LD_{50}$ ) спостерігався середній ступінь пригнічення, ознаки подразнюючої дії в області введення. Одна тварина загинула на 10-ту добу. Інші тварини впродовж 30 діб спостереження залишились живими. У тварин другої піддослідної групи (1/10  $LD_{50}$ ) після 14-тиденного введення розчинів спостерігався слабкий ступінь пригнічення, у 37,5 % тварин спостерігалось незначне подразнення у ділянці ін'єкцій. На протязі усього терміну спостереження та прийшли до норми по завершенню експерименту на 30-ту добу. У третій групі мишей (1/275  $LD_{50}$ ) пригнічення та інших ознак подразнення не спостерігалось. По завершенню експерименту всі піддослідні тварини даної групи залишались живими та здоровими. У контрольній групі після введення поліпропіленгліколю усі тварини залишались живими та здоровими. Аналогічно по групах була реакція на повторні введення сполуки 1 (1) - похідної 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-*N*-арилкарбоксамідів. В результаті дослідження порогових доз при повторних введеннях сполуки 2(5) - похідної 2-*N*2-ариліміно-5-гідроксиметил-8-метил-2*H*-пірано[2,3-*c*]піридин-3-*N*1-арилкарбоксамідів у 75 % мишей (6 тварин) першої піддослідної групи (1/5  $LD_{50}$ ) після 14-ти денного курсу ін'єкцій спостерігалось пригнічення середнього ступеню, в'ялість, порушення координації рухів. У 37,5 % (3 тварини) цієї групи спостерігалось значне загальне пригнічення, порушення координації рухів, судоми, прогресуючі порушення дихання, серед них одна тварина загинула на 7-му добу та ще одна - на 20-ту добу при явищах асфіксії. У всіх тварин спостерігались подразнення в області введення та розчиси. У мишей другої піддослідної групи (1/10  $LD_{50}$ ) після 20-ти введень розчину сполуки 2(5) у 87,5 % (7 голів) тварин спостерігалось пригнічення слабого ступеню. 62,5 % тварин (5 голів) відмічались незначне подразнення у місті введення сполуки. У однієї тварини другої піддослідної групи спостерігалось загальне пригнічення середнього ступеню, в'ялість, розлади дихання та загибель цієї тварини на 20-у добу експерименту. У тварин третьої групи (1/275  $LD_{50}$ ) не відмічалось пригнічення, подразнень та інших зовнішніх ознак токсикозу. Наприкінці експерименту на 30-ту добу всі піддослідні тварини даної групи були здорові та живі. У контрольній групі у тварин не спостерігалось будь-яких відхилень.

Маса тіла мишей в усіх експериментальних групах та в групі контролю збільшувалась однаково. В той же час у окремих тварин, які отримували великі дози сполук (перші дослідні групи) спостерігалось невірогідне уповільнення надбавки ваги. Гематологічні дослідження показали, що всі досліджувані сполуки при щоденному підшкірному введенні мишам впродовж 14 діб не здійснювали впливу на вміст гемоглобіну та формені елементи крові. Показники крові в піддослідних групах співвідносились з аналогічними даними групи контролю та знаходились у межах нормальних показників для даного виду тварин. Коливання біохімічних показників крові у тварин після багаторазового підшкірного введення сполук та розчинника знаходились в однаковому фізіологічному діапазоні значень. Отримані дані були розцінені нами як відсутність негативного впливу досліджуваних сполук на гематологічні показники та функціональну діяльність внутрішніх органів мишей. Летальна токсичність, яка спостерігалась при введенні високих доз сполук, можливо, пов'язана з нейротоксичністю, що потребує подальших досліджень у даному напрямку.

**Висновки**

1. За параметрами гострої токсичності досліджені похідні 2H-пірано[2,3-с]піридинів належать до IV класу токсичності – малотоксичні речовини.
2. При дослідженні токсичних ефектів при одноразовому та багаторазовому впливі похідні 2-N<sup>2</sup>-ариліміно-5-гідроксиметил-8-метил-2H-пірано[2,3-с]піридин-3-N<sup>1</sup>-арикарбоксамідів виявились найбільш токсичними в порівнянні з похідними 2-N<sup>2</sup>-ариліміно-3-N<sup>1</sup>-арилкарбоксамідо-8-метил-2H-пірано[2,3-с]піридин-5-іл)-метилацетатів та 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2H-пірано[2,3-с]піридин-3-N-арикарбоксамідів.

*Перспективи подальших розробок у даному напрямку. Отримані результати свідчать про найбільшу перспективність подальших токсикофармакологічних досліджень похідних 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2H-пірано[2,3-с]піридин-3-N-арикарбоксамідів з метою створення на їх основі протимікробних лікарських засобів.*

**Література**

1. Безопасность лекарств: Руководство по фармаконадзору/ под ред.. А.П. Викторова, В.И. Мальцева, Ю.Б. Белоусова. – К. Морион, 2007. – 240 с.
2. Березняков И.Г. Инфекции и антибиотики / И.Г. Березняков. – Х.: Константа, 2004. – 448 с.
3. Вікторов А.П. Актуальные вопросы безопасности медикаментозной терапии остеоартроза пациентов пожилого и старческого возраста / А.П. Вікторов // Новости медицины и фармации. – 2010. - № 5(311). – С. 3- 4.
4. Вікторов О.П. Антибіотики: проблеми безпеки під час медичного застосування / О.П. Вікторов // Здоров'я України. – 2008. - № 21. – С.42.
5. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, Ю.М. Максимов, І.М. Трахтенберг // Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / ред.: О.В. Стефанов. – К., Видавничий дім «Авіцена», 2001. – С. 74 – 97.
6. Зборовский А.Б. Неблагоприятные побочные эффекты лекарственных средств / А.Б. Зборовский, И.Н. Тюренков, Ю.Б. Белоусов. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. – 656 с.
7. Избранные методы синтеза и модификации гетероциклов : у 2 т. Т. 2 / Ред. В.Г Карцева. – М.: IBS PRESS, 2003. – С. 159 – 192.
8. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических средств / Е.В. Арзамасцев, Т.А. Гуськова, И.В. Березовская и др. // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ – М., 2000. – С.18 -26
9. Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів: наказ МОЗ України від 14.12.2009 № 944 // <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=z0053-10/>
10. Раевский, А.О. Моделирование связи «структура-активность» III. Системный физико-химический подход к конструированию биологически активных веществ / А.О. Раевский // Хим.-фарм. журнал. – 1990. - № 1. – С. 43 – 46.
11. Фармацевтический сектор: фармаконадзор за лекарственными препаратами для человека / ред.. А.В. Стефанова и др.. – к.: Морион, 2003. – 216 с.
12. Bush, K. Antibacterial drug discovery / K. Bush // Clin. microbiol. infect. – 2004. – Vol. 10 – Suppl. 4. - P. 10 - 17.
13. Evsukova V.Y. Antimicrobial activity of synthetic derivatives of condensed heterocyclic compounds with pyridine fragment / V.Y. Evsukova, I.D. Andreieva, V.V. Kazmirchuk [et al.] // Annals of Mechnikov Institute.– 2009.- N 1.– P. 14 – 16.
14. Towner K.J. The problem of resistance. In: Greenwood D., editor. Antimicrobial chemotherapy. 4th ed. — Oxford, New York: Oxford University Press, 2001. — P. 137–144.

**Уфериати**

**ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ  
ПРОИЗВОДНЫХ 2H-ПИРАНО[2,3-с]ПИРИДИНОВ**

**Евсюкова В.Ю., Андреева И.Д., Казмирчук В.В.,  
Юхименко В.И.**

В экспериментах на лабораторных мышцах изучены токсические эффекты производных 2H-пірано[2,3-с]піридинов. Установлено, что новосинтезированные соединения относятся к IV классу токсичности – малотоксичные вещества. Доказана перспективность последующих токсикоз-фармакологических исследований производных 5-гідроксиметил-2-іміно-8-метил-2H-пірано[2,3-с]піридин-3-N-арикарбоксамидов с целью создания на их основе противомикробных лекарственных средств.

**Ключевые слова:** производные 2H-пірано[2,3-с]піридинов, токсичность.

**STUDY OF THE TOXIC EFFECTS OF DERIVATIVES OF 2H-PIRANO[2,3-с]PYRIDINES**

**Evsukova V.Y., Andreieva I.D., Kazmirchuk  
V.V., Yuchimenko V.I.**

In experiments on laboratory mice studied toxic effects of derivatives of 2H-pyranо[2,3-с]pyridines. Found that new synthesis compounds belong to class IV toxicity - low toxic substance. Prove the prospects of future toxicology-pharmacological studies of 5-hydroxymethyl-2-imino-8-methyl-2H-pyranо[2,3-с] pyridine-3-N-arikarboksamidov with the purpose of creation on their basis of antimicrobial means.

**Keywords:** derivatives of 2H-pyranо[2,3-с]pyridines, toxicity.

Стаття надійшла 24.07.2010 р.