

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Recommended by Doctor of Medicine, professor A. I. Bereznyakova

UDC 615.275.4:547.822.7:616.36-002:616.127

<https://doi.org/10.24959/nphj.17.2173>

V. A. Volkovoy, O. V. Sevrucov, S. V. Kolisnyk, N. V. Derkach, S. I. Kryzhna*, M. O. Ostapets

National University of Pharmacy

*Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education

The experimental study of the antihypoxic and antioxidant activity of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine derivatives

Aim. To study the antihypoxic and antioxidant activity of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine derivatives on the models of the experimental pathology.

Materials and methods. The study of the antihypoxic activity of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine derivatives was conducted on the model of acute hemic hypoxia, the antioxidant action was studied on the model of toxic tetrachlorometane hepatitis.

Results and discussion. It was found that the activity of compounds KMS-161, KMS-164, KMS-166, KMS-168, KMS-174, KMS-176, KMS-191 was lower compared to mexidol, and the antihypoxic activity of compounds KMS-162, KMS-163, KMS-172, KMS-178, KMS-179, KMS-211, KMS-214, KMS-217 was close and slightly higher than the activity of mexidol in its median effective dose of 100 mg/kg. The marked antihypoxic activity was found in all groups studied. In the "structure – activity" analysis it was found that the antihypoxic activity among derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine was caused by their nature, the structure of the radical and the position of the substituent. The presence of the pyrrole ring in the molecule of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine led to the increased antihypoxic activity. A comparative analysis of the effectiveness of the objects studied showed that substances with the code of KMS-162, KMS-176, KMS-191, KMS-211, KMS-214, KMS-217 affected most positively on the state of AOS and LPO in conditions of acute hepatitis.

Conclusions. In a series of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine derivatives the most active was compound KMS-211, which showed the high antihypoxic activity (131 %) in relation to the control group and exceeded the reference drug mexidol by 45 %. Synthetic derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine exhibited the antioxidant activity (compound KMS-211 was the most active). The compounds studied may be the basis for the purposeful synthesis of antihypoxants and antioxidants.

Key words: derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine; hypoxia; antihypoxic action; lipid peroxidation; hepatitis; antioxidant activity

В. А. Волковой, О. В. Севрюков, С. В. Колісник, Н. В. Деркач, С. І. Крижна, М. О. Остапєць

Експериментальне вивчення антигіпоксичної та антиоксидантної активності похідних 5,7-дигідро-1Н-піроло-[2,3-д]піримідину

Мета – дослідити антигіпоксичну та антиоксидантну активність похідних 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-д]піримідину за умов експериментальної патології.

Матеріали та методи. Дослідження антигіпоксичної активності похідних 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-д]піримідину проводили на моделі гострої гемічної гіпоксії; антиоксидантної дії – на моделі токсичного тетрахлорометанового гепатиту.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що активність сполук KMS-161, KMS-164, KMS-166, KMS-168, KMS-174, KMS-176, KMS-191 була нижча порівняно з мексидолом, а антигіпоксична активність сполук KMS-162, KMS-163, KMS-172, KMS-178, KMS-179, KMS-211, KMS-214, KMS-217 наближається та дещо перевищує активність мексидолу в його середньоефективній дозі 100 мг/кг. Вся досліджувана група виявила виражену антигіпоксичну активність. При аналізі «структура – активність» встановлено, що антигіпоксична активність у ряду похідних 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-д]піримідину зумовлена природою, положенням замісника і структури радикалу. Наявність пірольного циклу в молекулі 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-д]піримідину приводить до підвищення антигіпоксичної активності. Порівняльний аналіз ефективності досліджуваних об'єктів показав, що найбільш позитивно на стан АОС та процес ПОЛ за умов гострого тетрахлорометанового гепатиту впливають субстанції під шифрами KMS-162, KMS-176, KMS-191, KMS-211, KMS-214, KMS-217.

Висновки. В ряду похідних 5,7-дигідро-1H-піроло[2,3-d]піримідину найактивнішою є сполука KMS-211, яка проявила найвищу антигіпоксичну активність (131 %) відносно контрольної групи та перевищувала препарат порівняння мексидол на 45 %. Синтетичні похідні 5,7-дигідро-1H-піроло[2,3-d]піримідину проявили антиоксидантну активність (найбільш активна сполука KMS-211). Досліджувані сполуки можуть бути базою для цілеспрямованого синтезу антигіпоксантів та антиоксидантів.

Ключові слова: похідні 5,7-дигідро-1H-піроло[2,3-d]піримідину; гіпоксія; антигіпоксична дія; перекисне окиснення ліпідів; гепатит; антиоксидантна активність

В. А. Волковой, А. В. Севрюков, С. В. Колесник, Н. В. Деркач, С. И. Крыжная, М. А. Остапец

Экспериментальное изучение антигипоксической и антиоксидантной активности производных 5,7-дигидро-1H-пирроло-[2,3-d] пириимидина

Цель – исследовать антигипоксическую и антиоксидантную активность производных 5,7-дигидро-1H-пирроло-[2,3-d]пириимидина в условиях экспериментальной патологии.

Материалы и методы. Исследование антигипоксической активности производных 5,7-дигидро-1H-пирроло-[2,3-d]пириимидина проводили на модели острой гемической гипоксии; антиоксидантного действия – на модели токсического тетрахлорметанового гепатита.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что активность соединений KMS-161, KMS-164, KMS-166, KMS-168, KMS-174, KMS-176, KMS-191 была ниже по сравнению с мексидолом, а антигипоксическая активность соединений KMS-162, KMS-163, KMS-172, KMS-178, KMS-179, KMS-211, KMS-214, KMS-217 приближается и несколько превышает активность мексидола в его среднеэффективной дозе 100 мг/кг. Во всех исследуемых группах обнаружена выраженная антигипоксическая активность. При анализе «структура – активность» установлено, что антигипоксическая активность в ряду производных 5,7-дигидро-1H-пирроло-[2,3-d]пириимидина обусловлена природой, положением заместителя и структурой радикала. Наличие пиррольного цикла в молекуле 5,7-дигидро-1H-пирроло-[2,3-d]пириимидина приводит к повышению антигипоксической активности. Сравнительный анализ эффективности исследуемых объектов показал, что наиболее положительно на состояние АОС и процесс ПОЛ в условиях острого тетрахлорметанового гепатита влияют субстанции под шифрами KMS-162, KMS-176, KMS-191, KMS-211, KMS-214, KMS-217.

Выводы. В ряду производных 5,7-дигидро-1H-пирроло-[2,3-d]пириимидина активным является соединение KMS-211, которое проявило высокую антигипоксическую активность (131 %) относительно контрольной группы и превосходило препарат сравнения мексидол на 45 %. Синтетические производные 5,7-дигидро-1H-пирроло-[2,3-d]пириимидина проявили антиоксидантную активность (наиболее активное соединение KMS-211). Исследуемые соединения могут быть базой для целенаправленного синтеза антигіпоксантів та антиоксидантів.

Ключевые слова: производные 5,7-дигидро-1H-пирроло-[2,3-d]пириимидина; гипоксия; антигипоксическое действие; перекисное окисление липидов; гепатит; антиоксидантная активность

In development of most pathological processes hypoxia plays an important role. At the bottom of any hypoxia is deficiency of the cell energy. When hypoxia occurs, the intensity of lipid peroxidation and formation of free radicals in the membranes of endothelial cells increase, it leads to disturbance of membrane structures and ion channels [1]. To protect organs and systems in the human body it is necessary to create drugs with a pronounced antihypoxic effect. Thus, it is advisable to study the antihypoxic and antioxidant activity of new synthetic compounds – derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine [2].

Materials and methods

The objects of research were 15 derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine (KMS-163, KMS-164, KMS-166, KMS-168, KMS-172, KMS-174, KMS-178, KMS-179, KMS-191, KMS-185, KMS-190, KMS-191, KMS-211, KMS-214, KMS-217). The study was performed at the premises of the Central Research Laboratory of the National University of Pharmacy. The experiments were conducted on nonlinear white mice weighing 20-25 g; they were divided into several groups. The antihypoxic activity was studied on a model of acute hemic hypoxia caused by a subcutaneous injection of sodium nitrite in the dose of 225 mg/kg. The antihypoxic effect

was assessed observing the life expectancy of animals [3]. The antihypoxic properties of the compounds were studied on the models of acute hepatitis caused by tetrachloromethane. The animals of the experimental groups and the control group received intragastrically 50 % oil solution of four-chloride carbon at the rate of 0.04 ml per 10 g of the body weight. Tetrachloromethane solution was not injected to the group of control animals. In 2 hours the mice were injected with the substance again, the reference drug and an equivalent amount of water (intact control groups and control pathology) [4]. The intensification of free radical processes in the liver in this condition was assessed by the quantitative content of the organ homogenate LPO – TBA-reagents in the final product using the generally accepted methods. The degree of functionally important cells of antioxidant molecules was determined by the content of reduced glutathione (RGT) using the method of E. L. Beutler et al. [5, 7].

The results obtained were compared with the reference drug – mexidol, a widely known as an antihypoxant and antioxidant in medical practice [6, 8].

Results and discussion

The analysis of the results shows a high antihypoxic activity of these substances in terms of the life expectan-

Table 1

The antihypoxic activity of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine derivatives on the model of acute hemic hypoxia ($X \pm S_x$), $n = 6$

Substance	The average life expectancy, min	The activity in relation to the control, %	The activity in relation to mexidol, %
KMS-161	53 ± 0.31*	151	95
KMS-162	66 ± 0.29	189	118**
KMS-163	70 ± 0.27	200	125*/**
KMS-164	50 ± 0.62*	143	89
KMS-166	47 ± 0.37	134	84
KMS-168	49 ± 0.42*	140	88
KMS-172	71 ± 0.63	203	127**
KMS-174	48 ± 0.24*	137	86
KMS-176	51 ± 0.30	146	91
KMS-178	64 ± 0.61	183	114**
KMS-179	68 ± 0.21	194	121**
KMS-191	47 ± 0.58*	134	84
KMS-211	81 ± 0.38	231	145**
KMS-214	68 ± 0.18*	194	121**
KMS-217	60 ± 0.15	171	107*/**
Control	35	100	65
Mexidol	56*	160	100

Notes: * – $p < 0.05$ compared to the control group; ** – $p < 0.05$ compared to the mexidol.

cy compared to mexidol in mice. It was found that the activity of compounds KMS-161, KMS-164, KMS-166, KMS-168, KMS-174, KMS-176, KMS-191 was lower compared to mexidol, and the antihypoxic activity of compounds KMS-162, KMS-163, KMS-172, KMS-178, KMS-179, KMS-211, KMS-214, KMS-217 was close and slightly higher than the activity of mexidol in its median effective dose of 100 mg/kg (Tab. 1).

The marked antihypoxic activity was found in all groups studied. In the “structure – activity” analysis it was found that the antihypoxic activity among derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine was caused by their nature, the structure of the radical and the position of the substituent. The presence of the pyrrole ring in the molecule of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine led to the increased antihypoxic activity.

Among 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine derivatives the most active was compound KMS-211, which showed the high antihypoxic activity (131%) in relation to the control group and exceeded the reference drug mexidol by 45 %.

On day 3 in the control pathology group there was a significant increase in the level of TBA active products and decrease of RGT in the liver homogenate. The changes in these parameters indicate activation of LPO due to the oxidative action of hepatotoxins. A significant increase in the liver mass coefficient (LMC) compared to the intact controls was also recorded, confirming the severity of tetrachloromethane-induced pathology. Deaths of the

Table 2

The antioxidant activity of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine derivatives on the model of toxic hepatitis on day 3 of the experiment ($X \pm S_x$), $n = 6$

Conditions of the experiment	LMC, %	RGT	TBA-reagents
Intact control	4.92 ± 0.66	57.06 ± 3.10	55.21 ± 5.62
Control pathology	6.93 ± 0.25*	23.67 ± 1.92*	116.48 ± 4.1*
KMS-161	6.76 ± 0.36*	42.12 ± 4.38 */**/**	78.72 ± 6.18 */**/**
KMS-162	6.74 ± 0.37*	53.62 ± 4.58 ***	76.82 ± 5.68 */**/**
KMS-163	6.91 ± 0.18*	62.34 ± 3.37 **/**	98.23 ± 7.72 */**/**
KMS-164	6.92 ± 0.11*	58.82 ± 3.22 ***	92.72 ± 2.2 */**/**
KMS-166	6.91 ± 0.17*	64.72 ± 2.37 */**/**	88.62 ± 6.02 */**/**
KMS-168	6.88 ± 0.4**	26.63 ± 1.89 */**/**	90.85 ± 5.94 */**/**
KMS-172	6.91 ± 0.2*	30.58 ± 2.19 */**/**	98.60 ± 3.21 */**/**
KMS-174	6.89 ± 0.3*	28.85 ± 2.56 */**	79.62 ± 6.94 */**/**
KMS-176	6.72 ± 0.43*	54.83 ± 4.8***	66.43 ± 4.00 ***
KMS-178	6.87 ± 0.31*	33.22 ± 3.2 */**/**	86.52 ± 7.85 */**/**
KMS-179	6.92 ± 0.42*	40.35 ± 2.94 */**/**	80.42 ± 5.47 */**/**
KMS-191	6.54 ± 0.39*	53.42 ± 4.82 ***	66.82 ± 4.06 ***
KMS-211	6.57 ± 0.42*	55.16 ± 2.14 ***	65.30 ± 5.31 ***
KMS-214	6.56 ± 0.4*	51.23 ± 3.8***	67.62 ± 4.69 ***
KMS-217	6.62 ± 0.42*	52.82 ± 4.83 ***	68.72 ± 5.04 ***
Mexidol	6.63 ± 0.48*	53.86 ± 1.62 ***	72.64 ± 6.7 */**/**

Notes: * – $p \leq 0.05$ compared to the intact control; ** – $p \leq 0.05$ compared to mexidol; *** – $p \leq 0.05$ compared to the control pathology group.

experimental animals treated with compounds with the code of KMS-162, KMS-163, KMS-174, KMS-176, KMS-178, KMS-191, KMS-211, KMS-214, KMS-217 were not recorded.

The results of the studies of the antioxidant activity of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo [2,3-d] pyrimidine derivatives are presented in Tab. 2.

Compounds with the code of KMS-174, KMS-178, KMS-179, KMS-181, KMS-185, KMS-190, KMS-191, KMS-211, KMS-214, KMS-217 significantly reduced the content of TBA-reagents. These changes in the con-

tent of TBA active products indicate the ability of the abovementioned compounds to inhibit LPO, and it proves their antioxidant properties.

Compounds with the code of KMS-163, KMS-164, KMS-166, KMS-168, KMS-172 did not have a significant effect on the rate of TBA-active products, indicating the absence of the antioxidant activity in the compounds in the dose studied.

Thus, the analysis showed that compounds with the code of KMS-185, KMS-190, KMS-191, KMS-211, KMS-214, KMS-217 affected the state of LPO most positively in conditions of acute hepatitis. The most activity was revealed by compound KMS-211.

CONCLUSIONS

1. In a series of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine derivatives the most active was compound KMS-211, which showed the high antihypoxic activity (131 %) in relation to the control group and exceeded the reference drug mexidol by 45 %.

2. Synthetic derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-d]pyrimidine exhibited the antioxidant activity (compound KMS-211 was the most active).

3. The compounds studied may be the basis for the purposeful synthesis of antihypoxants and antioxidants.

Conflict of Interests: authors have no conflict of interests to declare.

REFERENCES

1. Данілова, О. І. Антиоксиданти – «пастки» для вільних радикалів / О. І. Данілова // Науковий світ. – 2008. – № 1. – С. 10–11.
2. Владимиров, Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Наука, 1972. – 252 с.
3. Стефанов, О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / О. В. Стефанов. – К. : Авіценна, 2001. – 528 с.
4. Gonzales, C., Hernandez-Cruz, B., Rico-Borrego, M. J. et al. // *Clinical Chemistry*. – 2009. – Vol. 55, Issue 6. – P. 127.
5. Зенков, Н. К. Окислительный стресс / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньщикова. – М. : Наука, 2004. – 343 с.
6. Chang, C. Y. Therapy of NAFLD : antioxidants and cytoprotective agents / C. Y. Chang, C. K. Argo, A. M. Al-Osaimi // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 40, Issue 3. – 5160 p.
7. Dimova, E. Y. Oxidative stress and hypoxia : implications for plasminogen activator inhibitor-1 expression / E. Y. Dimova, A. Samoylenko, T. Kietzmann // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2004. – Vol. 6, Issue 4. – P. 777–791. doi: 10.1089/1523086041361596
8. Lu, M. Efficiency and structure-activity relationship of the antioxidant action of resveratrol and its analogs / M. Lu, Y. J. Cai, J. G. Fang // *Die Pharmazie*. – 2002. – Vol. 57, Issue 7. – P. 474–478.

REFERENCES

1. Danilova, O. I. (2008). *Naukovyi svit*, 1, 10–11.
2. Vladimirov, Yu. A., Archakov, A. I. (1972). *Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskikh membranakh*. Moscow: Nauka, 252.
3. Stefanov, O. V. (2001). *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv*. Kyiv: Avicenna, 528.
4. Gonzales, C., Hernandez-Cruz, B., Rico-Borrego, M. J. et al. (2009). *Clinical Chemistry*, 55 (6), 127.
5. Zenkov, N. K., Lankin, V. Z., Menchshikova, E. B. (2004). *Okislitelnyi stress*. Moscow: Nauka, 343.
6. Chang, C. Y., Argo, C. K., Al-Osaimi, A. M. (2006). Therapy of NAFLD: antioxidants and cytoprotective agents. *J. Clin. Gastroenterol.*, 40 (3), 5160.
7. Dimova, E. Y., Samoylenko, A., Kietzmann, T. (2004). Oxidative Stress and Hypoxia: Implications for Plasminogen Activator Inhibitor-1 Expression. *Antioxidants Redox Signaling*, 6 (4), 777–791. doi: 10.1089/1523086041361596
8. Lu, M., Cai, Y. J., Fang, J. G. (2002). Efficiency and structure-activity relationship of the antioxidant action of resveratrol and its analogs. *Die Pharmazie*, 57 (7), 474–478.

Information about authors:

Volkovoy V. A., Doctor of Medicine (Dr. habil.), professor of the Department of Pathological Physiology, National University of Pharmacy
Sevrukov O. V., postgraduate student of the Department of Pathological Physiology, National University of Pharmacy
Kolisnyk S. V., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor of the Analytical Chemistry Department, National University of Pharmacy
Derkach N. V., Candidate of Biology (PhD), associate professor of the Department of Human Physiology and Anatomy, National University of Pharmacy
Kryzhna S. I., Doctor of Medicine (Dr. habil.), professor of the Department of Clinical Pathophysiology, Topographic Anatomy and Operative Surgery, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education
Ostapets M. O., Candidate of Medicine (PhD), teaching assistant of the Department of Pathological Physiology, National University of Pharmacy.
E-mail: marina.ostapets.22@gmail.com

Відомості про авторів:

Волковой В. А., д-р мед. наук, професор кафедри патологічної фізіології, Національний фармацевтичний університет
Севрюков О. В., аспірант кафедри патологічної фізіології, Національний фармацевтичний університет
Колісник С. В., д-р фарм. наук, професор кафедри аналітичної хімії, Національний фармацевтичний університет
Деркач Н. В., канд. біол. наук, доцент кафедри фізіології та анатомії людини, Національний фармацевтичний університет
Крижна С. І., д-р мед. наук, професор кафедри клінічної патологічної фізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії, Харківська медична академія післядипломної освіти
Остапєць М. О., канд. мед. наук, асистент кафедри патологічної фізіології, Національний фармацевтичний університет. E-mail: marina.ostapets.22@gmail.com

Сведения об авторах:

Волковой В. А., д-р мед. наук, профессор кафедры патологической физиологии, Национальный фармацевтический университет
Севрюков А. В., аспирант кафедры патологической физиологии, Национальный фармацевтический университет
Колесник С. В., д-р фарм. наук, профессор кафедры аналитической химии, Национальный фармацевтический университет
Деркач Н. В., канд. биол. наук, доцент кафедры физиологии и анатомии человека, Национальный фармацевтический университет
Крыжная С. И., д-р мед. наук, профессор кафедры клинической патологической физиологии, топографической анатомии и оперативной хирургии, Харьковская медицинская академия последипломного образования
Остапец М. А., канд. мед. наук, ассистент кафедры патологической физиологии, Национальный фармацевтический университет.
E-mail: marina.ostapets.22@gmail.com

Надійшла до редакції 01.04.2017 р.