

Так, в группе Mg L-аспарагината индекс агрегации снизился на 65,30 % ($p \leq 0,05$), а в группах Mg L-аспарагината с витамином B₆ и магне B₆[®] – на 37,11 % ($p \leq 0,05$) и 27,54 % соответственно относительно группы магнидефицитных животных. Статистически значимых различий по данным показателям между исследуемыми солями магния обнаружено не было.

Полученные данные соответствуют ранее проведенным исследованиям. Так, по имеющимся литературным данным [8, 10, 11], дефицит магния приводит к увеличению процессов АДФ- и коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов, а при введении солей магния магнидефицитным животным отмечается восстановление данных показателей. На уровне пре-мРНК магний регулирует образование фибронектина (адгезивный экстрацеллюлярный белок), который усиливает адгезию и требуется для активации тромбоцитов, нейтрофилов и эндотелиоцитов. При этом магний напрямую не влияет на связывание фибронектина с эндотелиоцитами, а действует как антагонист, препятствуя кальций-индуцированному связыванию [12]. Таким образом, магний опосредованно препятствует образованию агрегатов тромбоцитов, которые могут, с одной стороны, способствовать внутрисосудистому свертыванию с высвобождением большого количества тромбоцитарных факторов свертывания и биологически активных веществ, а с другой стороны, закупоривая мелкие сосуды, вызывать стаз в системе микроциркуляции [3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании проведенного исследования можно сделать вывод о том, что Mg L-аспарагинат и его комбинация с пиридоксином восстанавливают процессы агрегации тромбоцитов. При этом исследуемые соли по активности оказались сопоставимыми с препаратом сравнения магне B₆[®], нормализуя нарушения у животных с дефицитом магния.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З. С., Балуда В. П. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. – Томск, 1980. – 71 с.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
3. Иконникова Е. И., Черноусова Л. А., Мошкина И. Р. // Клинич. лаб. диагностика. – 1999. – № 6. – С. 20–21.
4. Люсов В. А., Савенков М. П. // Кардиология. – 1998. – № 5. – С. 5–8.
5. Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике. – М.: Медицина, 1987.
6. Bieri J. G. // J. Nutr. – 1980. – Vol. 110. – P. 1726.
7. Bom G. V. // Nature (Lond). – № 194. – P. 927–929.
8. Kh R., Khullar M., Kashyap M., et al. // J. Hypertens. – 2000. – Vol. 18, № 7. – P. 919–926.
9. Sacha T., Skotnicki A. B. // Przegł. Lek. – 1997. – Vol. 54, № 2. – P. 122–125.
10. Scheibe F., Haupt H., Vlastos G. A. // Eur. Arch. Otorhinolaryngol. – 2000. – Vol. 257, № 7. – P. 355–361.
11. Seelig M. S. // J. Am. college Nutrition. – 1993. – Vol. 12. – P. 442–458.
12. Serebruanu V. L., Herzog W. R., Edenbaum L. R., et al. // Magnes Res. – 1996. – Vol. 9, № 3. – P. 155–163.

УДК 547.551.42

ПРЕПАРАТИВНЫЙ СИНТЕЗ ГИДРОХЛОРИДА N-(2,6-ДИМЕТИЛФЕНИЛ)-2-(ЭТИЛАМИНО)АЦЕТАМИДА (MEGX)

А. А. Озеров, Н. В. Рогова, Л. А. Смирнова, К. А. Кузнецов, Е. Г. Глухова, А. И. Луганченко, С. С. Лемишко

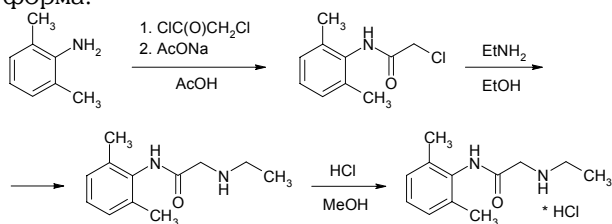
Лаборатория медицинской химии ВНИЦ РАМН и АВО, кафедра фармацевтической и токсикологической химии ВолГМУ

N-(2,6-Диметилфенил)-2-(этиламино)ацетамид (моноэтилглицин-ксилид – MEGX) является одним из наиболее широко применяющихся маркеров активности изофермента цитохорма P450 – CYP3A4, ответственного за метаболизм около 60 % современных лекарственных средств [3]. MEGX-тест характеризуется высокой чувствительностью, специфичностью и значительной прогностической ценностью при диагностике хронической патологии печени [4] и оценке лекарственного взаимодействия за счет индукции или ингибирования CYP3A4 [2]. Однако в отличие от готовых тест-систем, основанных на использовании MEGX, сама субстанция MEGX не поставляется ведущими производителями химических реактивов и реа-

гентов для биохимических анализов, что побудило нас к разработке простого и технологичного метода получения MEGX для нужд собственных клинических исследований.

Синтез гидрохлорида MEGX был осуществлен нами по адаптированной схеме, предложенной для получения ксикаина (лидокаина) [1]. На первой стадии синтеза 2,6-диметиланилин подвергали ацилированию хлорангидридом хлоруксусной кислоты в среде безводной уксусной кислоты. Полученный 2-хлор-N-(2,6-диметилфенил)ацетамид аминировали избытком моноэтиламина в среде 95 %-го этанола при температуре 100 °С и после выделения MEGX-основания превращали его в конечный гидрохлорид обработкой метанольным

раствором хлористого водорода в среде хлороформа:



Данные ТСХ свидетельствуют о том, что при нагревании 2-хлор-N-(2,6-диметилфенил)ацетамида с 2-кратным молярным избытком моноэтиламина в среде 95 %-го этанола в течение 2 ч наблюдается полная конверсия исходного продукта: в хлороформенном растворе, полученном после нейтрализации реакционной массы щелочью (см. экспериментальную часть), отсутствует его пятно с $R_f = 0,76$ и наблюдается интенсивное пятно с $R_f = 0,24$, соответствующее основанию MEGX. При этом в растворе отсутствуют другие продукты реакции, за исключением незначительной примеси с более высокой хроматографической подвижностью ($R_f = 0,47$), которая, возможно, соответствует продукту дизамещения в моноэтиламине.

Полученный гидрохлорид MEGX представляет собой белое кристаллическое вещество, легко растворимое в воде, умеренно растворимое в спирте, мало растворимое в хлороформе. Температурный диапазон плавления вещества зависит от скорости нагрева, что может свидетельствовать о частичном разложении вещества при высокой температуре. Анализ чистоты гидрохлорида MEGX методом ВЭЖХ в концентрации 10 мкг/мл свидетельствует об отсутствии в нем примесей (чувствительность метода 0,01 мкг/мл), а по своим хроматографическим характеристикам синтезированное соединение полностью соответствует стандартному образцу MEGX, полученному из ЦХЛС-ВНИХФИ (г. Москва). Химическое строение целевого и промежуточного продуктов доказано методом ЯМР H^1 -спектроскопии.

Таким образом, нами разработан простой лабораторный метод получения гидрохлорида MEGX, обладающего чистотой, требуемой для проведения современных биохимических и клинических исследований.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе были использованы следующие импортные реактивы высокой чистоты: 2,6-диметиланилин (99 %-й) ("Acros"), моноэтиламин (70 %-й водный раствор) ("Acros"), хлорацетилхлорид (99 %-й) ("Aldrich"), тионилхлорид (99,5 %-й) ("Aldrich"). Спектры ЯМР H^1 регистрировали на спектрометре "Bruker DRX-500" (500 МГц) в $DMCO-D_6$, внутренний стандарт ТМС. Интерпретацию спектров осуществляли с помощью лицензионной программы ACD/HNMR "Predictor Pro 3.0" фирмы "Advanced Chemistry Development" (Канада).

ТСХ выполняли на пластинах "Sorbfil" ("Сорбполимер", Россия), элюент – этилацетат, проявление в парах йода. Температуры плавления измерены в стеклянных капиллярах на приборе "Mel-Temp 3.0" ("Laboratory Devices Inc.", США) при скорости нагрева 1 и 10 °С/мин.

Чистоту MEGX-основания методом ВЭЖХ определяли на хроматографе "Shimadzu HPLC-10Avp", колонка "SUPELCO SIL LC-8", элюент – фосфатный буфер (0,05 М KH_2PO_4 , pH = 4,0): ацетонитрил = 87 : 13, скорость потока 1 мл/мин, температура колонки – 25 °С, детектирование при 205 нм. Предварительно проводилась трехкратная экстракция MEGX из щелочного раствора хлороформом, экстракт упаривался методом барботирования, и сухой остаток растворялся в 0,1 мл этанола.

2-Хлор-N-(2,6-диметилфенил)ацетамид.

В трехгорлый реактор, снабженный лопастной мешалкой, термометром и капельной воронкой, охлаждаемый на ледяной бане, помещают раствор 25,0 мл (0,203 моль) 2,6-диметиланилина в 200 мл безводной уксусной кислоты и при температуре не выше 10 °С в течение 20–25 мин добавляют по каплям сначала 18,5 мл (0,232 моль) хлорацетилхлорида, а затем в течение 15–20 мин заранее приготовленный раствор 50 мл уксусной кислоты и 40 г гранулированного едкого калия в 300 мл воды. Перемешивают при охлаждении еще 30 мин, выделившийся осадок отфильтровывают, промывают на фильтре 100 мл холодной воды, сушат на воздухе при комнатной температуре в течение суток и получают 30,8 г (77 %) белого кристаллического вещества, Т. пл. 146–149 °С (10 °С/мин) (147–148 °С [1]). 2-Хлор-N-(2,6-диметилфенил)ацетамид дополнительно очищают перекристаллизацией из 150 мл 95 %-го этанола, выход – 23,1 г, Т. пл. = 147,5–150 °С (10 °С/мин), $R_f = 0,76$.

Спектр ЯМР H^1 , δ , м.д.: 2,08 с (6 H, CH_3); 4,21 д (4 Гц, 2 H, CH_2); 7,00 с (3 H, арил); 9,58 уш.с (1 H, NH).

N-(2,6-Диметилфенил)-2-(этиламино)ацетамида гидрохлорид (MEGX). 20,0 г (0,101 моль) 2-хлор-N-(2,6-диметилфенил)ацетамида, 25,0 мл (0,311 моль) 70 %-го водного раствора моноэтиламина и 200 мл 95 %-го этанола нагревают в герметичном толстостенном стеклянном сосуде объемом 0,5 л на кипящей водяной бане в течение 2 ч и оставляют на ночь при комнатной температуре. Полученный прозрачный раствор упаривают при атмосферном давлении на кипящей водяной бане, остаток охлаждают и распределяют при интенсивном перемешивании между 300 мл хлороформа и 200 мл 5 %-го раствора едкого натра. Органический слой отделяют, сушат в течение суток сульфатом натрия, фильтруют и упаривают до половины объема. Остаток охлаждают до комнатной температуры и в течение 5 мин порциями при перемешивании добавляют раствор хлористого водорода в метаноле, предварительно

полученный путем медленного (10–15 мин) и осторожного добавления 8 мл (0,110 моль) хлористого тионила к 25 мл безводного метанола. Реакционную массу с выделившимся обильным осадком выдерживают в течение ночи в холодильнике, осадок отфильтровывают, промывают 2 раза по 50 мл хлороформа, сушат на воздухе при комнатной температуре в течение суток и получают 20,4 г (83 %) белого кристаллического вещества, Т. пл.

293–298 °С (10 °С/мин). MEGX дополнительно очищают перекристаллизацией из 175 мл 95 %-го этанола, выход – 15,1 г, Т. пл. 294,5–298,5 °С (10 °С/мин), 292–293 °С (1 °С/мин).

Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1,18 т (7 Гц, 3 Н, CH_3); 2,11 с (6 Н, CH_3); 2,94 кв (7 Гц, 2 Н, CH_2); 3,94 с (2 Н, CH_2); 7,03 с (3 Н, арил); 9,20 уш.с (2 Н, NH_2^+); 10,18 с (1 Н, NH).

ЛИТЕРАТУРА

1. Рубцов М. В., Байчиков А. Г. Синтетические химико-фармацевтические препараты. – М.: Медицина, 1971. – 328 с.
2. Cox S., Hammer T. // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2005. – Vol. 37. – P. 801–804.
3. Nebert D. W., Russel D. W. // Lancet. – 2002. – Vol. 360. – P. 1155–1162.
4. Potter J. M., Hickman P. E. // Transplant. – 1993. – Vol. 56. – P. 1385–1388.

УДК 615.451.16:615.24:615.322:616.379–008.64–085.24

ВЛИЯНИЕ АНТИДИАБЕТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ "ДИАБЕТТА" НА ВОСПОЛНЕНИЕ УРОВНЯ МАГНИЯ В ЭРИТРОЦИТАХ И ПЛАЗМЕ ПРИ АЛИМЕНТАРНОЙ ГИПОМАГНИЕМИИ

А. А. Спасов, М. П. Самохина, Д. Ю. Агарков, А. Е. Буланов

Кафедра фармакологии, кафедра фармакогнозии и ботаники ВолГМУ,
Российский НИИ здоровья, г. Москва

В ВолГМУ совместно с СКС "Альянс" была создана растительная противодиабетическая композиция "Диабетта" (композиция), предназначенная для применения в составе комплексной терапии лицами, страдающими II типом сахарного диабета (СД). Для обеспечения мультикомпонентного механизма действия в состав композиции было произведено включение компонентов: экстракты гимнемы лесной, девясила, корня солодки, гребней винограда; соли ванадия, цинка, хрома, магния и витамин В₆. В ранее опубликованных работах были описаны результаты исследований антидиабетического действия композиции [3–6]. Выявлено, что полученная композиция обладает гипогликемическими, антиоксидантными, иммуномодулирующими свойствами. Эффективность "Диабетты" была изучена при экспериментальной патологии, отражающей различные патогенетические звенья клинических типов: инсулинзависимом СД (стрептозотцин и аллоксан-индуцированные формы, иммунозависимая и панкреатэктомизированная формы), при СД II типа (интоксикация низкими дозами стрептозотцина – преддиабет, латентная форма сахарного диабета, экспериментальный синдром инсулинрезистентности). Кроме того, выявлена активность препарата на модели экспериментального ожирения.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить влияние противодиабетической композиции "Диабетта", содержащей соль магния, на восполнение уровня магния в эритроцитах и

плазме на фоне алиментарной гипомagneзмии в организме животных.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент был выполнен на белых беспородных крысах-самцах исходной массой 180–200 г. Первая группа составляла контроль – интактные животные. У остальных крыс моделировали магнидефицитное состояние.

Для моделирования гипомagneзмии животные получали специальную магнидефицитную диету фирмы "ICN Biomedicals Inc." (Aurora, Ohio, США) с 3,5 %-м содержанием полиминеральной смеси АIN-76, из которой был полностью исключен магний. Контрольные (интактные) животные получали полноценную диету, содержащую 0,84 г MgO на 1 кг диеты, что соответствовало 0,5 г алиментарного магния на 1 кг диеты.

Скорость и глубину развития гипомagneзии контролировали, определяя концентрацию Mg в плазме и эритроцитах крови спектрофотометрическим методом по цветной реакции с титановым желтым [1]. При снижении концентрации Mg ниже 1,4 ммоль/л в эритроцитах и ниже 0,7 ммоль/л в плазме считалось, что у животных развилась гипомagneзия средней тяжести. После этого животных с гипомagneзией разделили на две группы: первая группа продолжала находиться на диете; второй группе на фоне диеты начинали вводить композицию (перорально через зонд из расчета 50 мг алиментарного магния на 1 кг веса животного).