

УДК 615.276:547.583.5:547.459.5

# СИНТЕЗ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ D-(+)-ГЛЮКОЗИЛАМОНІЄВИХ СОЛЕЙ З-ОКСАМОЇЛЗАМІЩЕНИХ N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ

**М.В.Зупанець, С.М.Дроговоз, С.Г.Ісаєв, М.М.Сулейман**

Національний фармацевтичний університет

*Ключові слова: артрит; глюкозамін; N-фенілантранілова кислота; синтез; фармакологічна активність*

## SYNTHESIS AND THE PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF D-(+)-GLUCOSYL AMMONIUM SALTS OF 3-OXAMOIL SUBSTITUTED N-PHENYLANTHRANILIC ACID

**M.V.Zupanets, S.M.Drogovoz, S.G.Isaev, M.M.Suleiman***National University of Pharmacy**Key words: arthritis; glucosamine; N-phenylanthranilic acid; synthesis; pharmacological activity*

*The synthesis of new D-(+)-glucosyl ammonium salts of 3-oxamoil substituted N-phenylanthranilic acids has been carried out; their composition and purity have been confirmed by such modern physicochemical methods as elemental, IR and PMR spectral, chromatographic analysis and qualitative reactions. Using the models of Carrageenan-Induced Edema and "hot plates" it has been experimentally found that the substances synthesized reveal the anti-inflammatory and analgesic activity in equimolecular doses in relation to sodium diclofenac. A number of regularities of the "structure – activity" relationship has been determined. The research indicates the perspectiveness of the search of biologically active substances with the anti-inflammatory and analgesic action in the range of D-(+)-glucosyl ammonium salts of 3-oxamoil substituted N-phenylanthranilic acids. The phenomenon of pharmacodynamic synergism revealed by interpotentiation of the pharmacological effects of glucosamine and N-phenylanthranilic acid is also observed.*

З року в рік зростає кількість звернень до лікарів з приводу захворювань, зумовлених запаленням суглобів. Згідно із статистикою артрит зменшує тривалість життя приблизно на 10 років [3]. Основою традиційної протизапальної терапії є нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), які тимчасово знижують інтенсивність симптомів захворювання – запалення, болю, обмеження рухливості [9]. Але всі сучасні НПЗП мають ряд побічних ефектів, які зустрічаються майже у 25% випадків застосування, у 5% з яких вони становлять загрозу життю [4]. Все це обмежує їх використання, тому пошук нових ефективних протизапальних речовин, у яких би була відсутня побічна дія при збереженні потужного протизапального ефекту, залишається актуальною проблемою сучасної фармакології.

В останні 30 років арсенал цієї групи значно поповнився

похідними солей глюкозаміну (ГА). Так, у роботах проф. І.А.Зупанця, проф. С.М.Дроговоз, проф. Л.В.Яковлевої, проф. С.Г.Ісаєва, доц. В.О.Тулякова доведено, що ГА крім хондропротекторної чинить помітну протизапальну, мембраностабілізуючу, антиоксидантну, анагетичну дію [3, 6, 7, 8]. Минуло більше 40 років, як були встановлені протизапальні властивості похідних фенілантранілових кислот, але за останні 10 років стали відомі можливості їх потенціювання за допомогою ГА [5].

Метою даного дослідження були синтез та фармакологічне вивчення D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот як перспективних НПЗП.

### Матеріали та методи

Досліджувані субстанції синтезовані на кафедрі медичної хімії Національного фармацевтичного університету професо-

ром С.Г.Ісаєвим та іншими вченими.

Синтез похідних D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот (I-IX) проводили шляхом взаємодії 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот з основою D-глюкозаміну, отриманих у результаті дії на гідрохлорид D-глюкозаміну еквімолекулярної кількості металічного натрію в розчині метанолу [1]. Кристалізація солей (I-IX) проходила на холоді протягом 8-12 годин. Будову речовин підтверджено даними елементного аналізу, методом ІЧ-спектроскопії, індивідуальність – методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту. Катіонно-аніонний характер солей (I-IX) підтверджено наявністю в ІЧ-спектрах смуг поглинання в межах 1632-1615  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{COO}^-}^{\text{as}}$ ), 1440-1428  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{COO}^-}^{\text{s}}$ ), та 2930-2918  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{NH}_3^+}$ ).

Було синтезовано та вивчено протизапальну активність 9 сполук D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених

Таблиця 1

## Протизапальна активність D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот

Сполуки	R	R'	Доза, мг/кг	Протизапальна активність, %
I	2'-CH	CH <sub>3</sub>	10,00	40,50
II	3'-CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OH	10,00	44,60
III	4'-CH <sub>3</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> -i	10,00	39,10
IV	H	H	11,95*	33,73
V	4'-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	12,73*	0
VI	3',4'-CH <sub>3</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> -n	14,77*	28,11
VII	4'-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	13,48*	-10,84
VIII	2'-Cl	CH <sub>3</sub>	13,25*	1,81
IX	4'-Cl	CH <sub>3</sub>	13,25*	22,89
Натрію диклофенак			8,00	50,0
Мефенамінова кислота			100,00**	30,0**

Примітки:

1) \* – речовини, еквімолекулярні диклофенаку натрію 8 мг/кг;

2) \*\* – дані літератури [1].

N-фенілантранілових кислот (рис.). У досліді використано 66 білих нелійнійних мишей вагою 18-22 г, які були розподілені на 9 дослідних, одну контрольну групу та одну групу з препаратом порівняння. Препаратом порівняння був обраний брендний препарат «золотого» стандарту протизапальної терапії диклофенак натрію (ВОЛЬТАРЕН, «Novartis Pharma S.A.S.», табл. по 25 мг). Піддослідних тварин утримували у віварії Національного фармацевтичного університету згідно зі стандартними санітарними нормами на необхідному харчовому раціоні.

Дослідження проводили відповідно до рекомендацій Державного фармакологічного центру МОЗ України на моделі «ка-

рагенінового набряку», яку можна вважати класичною скринінговою моделлю для відтворення гострого асептичного запалення з метою пошуку інгібіторів циклооксигенази [2].

Дослідні речовини розчиняли в дистильованій воді та вводили внутрішньошлунково в еквімолекулярній дозі по відношенню до натрію диклофенаку у дозі 8 мг/кг (ED<sub>50</sub>). Кожну речовину досліджували на 6 тваринах, які мали приблизно однакову масу тіла ±1,0 г. Через 1 годину після введення досліджуваної речовини викликали асептично-ексудативне запалення шляхом субплантарного введення у праву задню лапу 0,05 мл 1% розчину карагеніну [2, 3]. З цієї метою було використано

α-карагенін виробництва «Fluka» (Швейцарія). Через 3 години після цього тварин виводили з досліду шляхом декапітації під ефірним наркозом та проводили ампутацію задніх кінцівок на рівні тазостегнового суглоба. Протизапальну активність оцінювали у відсотках за ступенем зменшення набряку лапи у тварин, які отримували дослідні речовини, в порівнянні з тваринами групи контрольної патології та розраховували за формулою:

$$A = \frac{\Delta M_k - \Delta M_d}{\Delta M_k} \times 100\%,$$

де: A – активність (%);

ΔMк – маса набряку у групі контрольної патології (мг);

ΔMд – маса набряку у дослідній групі (мг).

Аналгетичну активність вивчали на найбільш перспективних речовинах групи за протизапальною активністю (I-IV). Для цього було використано 36 білих нелійнійних шурів масою 180-200 г, які були розподілені на 4 дослідних групи, одну контрольну групу та одну групу з препаратом порівняння (ВОЛЬТАРЕН, «Novartis Pharma S.A.S.», табл. по 25 мг). Досліджувані речовини вводили внутрішньошлунково в дозі, еквімолекулярній по відношенню до натрію диклофенаку (8 мг/кг). Показником аналгетичного ефекту був час (с), протягом якого тварина отримувала тепловий опік шкіри хвоста при температурі 100°C. Зазначений час фіксували автоматично [5].

Результати досліду обробляли методом математичної статистики з використанням t-критерію Стьюдента, та значущими вважали результати P≤0,05 [5].

### Результати та їх обговорення

Результати серій досліджень з вивчення протизапальної та аналгетичної активності на основі D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-

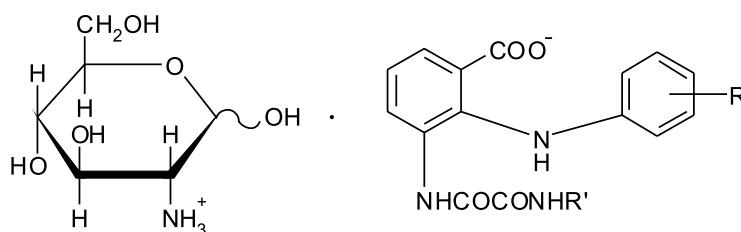


Рис. Хімічна структура D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот

Таблиця 2

**Аналгетична активність D-(+)-глюкозиламонієвих солей  
3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот**

Сполуки	Аналгетична активність	
	доза, мг/кг	%
I	10	55,40
II	10	42,30
III	10	50,10
IV	11,95*	19,80
Натрію диклофенак	8,00	73,50

Примітка. \* – речовини, еквімолекулярні натрію диклофенаку 8 мг/кг

фенілантранілових кислот наведені в табл. 1 та 2.

Аналіз результатів вивчення протизапальної активності дозволив виявити сполуки, які проявляють високу антиексудативну активність. Так, D-(+)-глюкозиламонієві солі 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот під шифром I, II та III виявляють виражену здатність до зменшення набряку кінцівок у дослідних тварин на рівні 40,5%, 44,6%, 39,10%, не перевищуючи аналогічну дію натрію диклофенаку, але перевищуючи мефенамінову кислоту в середньому на 10-15%. Слід відзначити, що введення в структуру N-фенілантранілових кислот ГА сприяє підвищенню протизапальної дії, що узгоджується з попередніми дослідженнями, які вказують про потенціуючий вплив ГА на протизапальні властивості НПЗП (ібупрофен), що дозволяє знизити середню

ефективну дозу останніх у середньому майже у 2 рази зі збереженням високого рівня протизапальної активності (І.А.Зупанець і співав., 2008). На рівні мефенамінової кислоти протизапальну активність проявили солі IV та VI. Висока дія D-(+)-глюкозиламонієвих солей (I-III) характерна у дозі 10 мг/кг, але при введенні замісника хлору (Cl<sup>-</sup>) або метилу (CH<sub>3</sub>) у фрагмент щавлевої кислоти в четвертому положенні структури 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот (IX) спостерігається значне зменшення антиексудативної активності або повна її втрата (V, VII, VIII).

При подальшому вивченні D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот ми спостерігаємо високий рівень аналгетичної активності, результати якої наведені в табл. 2. Найбільшу аналгетичну активність на

рівні 55,40%, 42,30% та 50,10% проявили речовини I, II та III. У речовини IV спостерігається слабка аналгетична активність на рівні 19,8%, що обумовлено природою замісника гідрогену в структурі N-фенілантранілової кислоти (R=H; R'=H).

**ВИСНОВКИ**

1. D-(+)-глюкозиламонієві солі 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот виявляють протизапальну та аналгетичну активність і є перспективною групою для подальшого пошуку безпечних речовин з протизапальною активністю шляхом їх більш детального вивчення та модифікації.

2. Найбільш активними сполуками є речовини I, II, III та IV, які проявили протизапальну активність, відповідно на 40,5%, 44,6%, 39,10%, 33,73% та аналгетичну активність на 55,40%, 42,30%, 50,10% та 19,80%, відповідно.

3. Введення в структуру N-фенілантранілових кислот фрагменту щавлевої кислоти та глюкозаміну сприяє посиленню протизапального та аналгетичного ефекту.

4. В антиексудативній і аналгетичній дії D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот спостерігається феномен фармакодинамічного синергізму, що проявляється взаємопотенціюванням фармакологічних ефектів ГА та N-фенілантранілової кислоти.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Бризицький О.А. Синтез, фізико-хімічні властивості, реакційна здатність та біологічна активність нітробензойної та аміно- і нітро-N-фенілантранілових кислот: Автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – Х., 2005. – 20 с.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. / За ред. О.В.Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
3. Зупанець І.А., Попов С.Б., Отрішко І.А. // Клінічна фармація. – 2002. – Т. 6, №2. – С. 48-50.
4. Зупанець І.А., Шебеко С.К. // Здоров'я України. – 2008. – №21/1. – С. 70-71.
5. Ісаєв С.Г., Чикіна О.Л., Жегунова Г.П. // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, №4. – С. 13-17.
6. Ісаєв С.Г. Синтез, реакційна здатність і біологічна здатність ортогалогенобензойних, ароматичних амінокислот та акридину: Автореф. дис. ... д-ра фармац. наук. – Х., 2008. – 36 с.

7. Туляков В.О. Розробка протиартрозных препаратів з хондропротекторною, протизапальною та аналгетичною дією на основі аміноцукру глюкозаміну: Автореф. дис. ... д-ра фармац. наук. – Х., 2008. – 36 с.
8. Keller L. // Adv. Nurse Pract. – 2003. – Vol. 11, №6. – P. 19-21.
9. Zhang W., Doherty M., Peat G. et al. // Ann. Rheum. Dis. – 2009. – Vol. 68, №13. – P. 141.

#### **СИНТЕЗ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ D-(+)-ГЛЮКОЗИЛАМОНІЄВИХ СОЛЕЙ 3-ОКСАМОЇЛЗАМІЩЕНИХ N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ**

*М.В.Зупанець, С.М.Дрогвоз, С.Г.Ісаєв, М.М.Сулейман*

**Національний фармацевтичний університет**

Ключові слова: артрит; глюкозамін; N-фенілантранілова кислота; синтез; фармакологічна активність

*Здійснено синтез нових D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот, будова та чистота яких підтверджені сучасними фізико-хімічними методами: елементного, ІЧ-, ПМР-спектрального, хроматографічного аналізу та якісними реакціями. На моделях «карагенинового набряку» та «гарячих пластинок» експериментально встановлено, що синтезовані речовини в еквімолекулярних дозах по відношенню до натрію диклофенаку проявляють відповідно протизапальну та аналгетичну активність. Встановлено ряд закономірностей зв'язку «будова-активність». Дослідження свідчать про перспективність пошуку біологічно активних речовин з протизапальною та аналгетичною дією в ряду D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот. Також спостерігається феномен фармакодинамічного синергізму, що проявляється взаємопотенціюванням фармакологічних ефектів глюкозаміну та N-фенілантранілової кислоти.*

#### **СИНТЕЗ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ D-(+)-ГЛЮКОЗИЛАММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ 3-ОКСАМОИЛЗАМЕЩЕННЫХ N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ**

*М.В.Зупанец, С.М.Дрогвоз, С.Г.Ісаєв, М.М.Сулейман*

**Национальный фармацевтический университет**

Ключевые слова: артрит; глюкозамин; N-фенілантраніловова кислота; синтез; фармакологическая активність

*Осуществлен синтез новых D-(+)-глюкозиламмониевых солей 3-оксамоилзамещенных N-фенілантраніловых кислот, строение и чистота которых подтверждены современными физико-химическими методами: элементного, ИК-, ПМР-спектрального, хроматографического анализа и качественными реакциями. На моделях «карагенинового отека» и «горячих пластинок» экспериментально установлено, что синтезированные вещества в эквивалентных дозах по отношению к натрия диклофенаку проявляют противовоспалительную и анальгезирующую активность. Установлен ряд закономерностей связи «строение-активность». Исследования свидетельствуют о перспективности поиска биологически активных веществ с противовоспалительным и анальгезирующим действием в ряду D-(+)-глюкозиламмониевых солей 3-оксамоилзамещенных N-фенілантраніловых кислот. Также наблюдается феномен фармакодинамического синергизма, который проявляется взаимопотенцированием фармакологических эффектов глюкозамина и N-фенілантраніловова кислоты.*

Адреса для листування: 61002, м. Харків,

вул. Мельникова, 12. Тел. (57) 706-30-69.

E-mail: maksym\_zupanets@mail.ru.

Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 30.01.2013 р.