

# ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ФАРМАКОЛОГІЯ

*Рекомендована д.ф.н., професором Л.В. Яковлевою*

УДК 615.22 : 611.127-002 : 615.276 : 615.9

## ПОШУК КОРЕКТОРІВ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ МІОКАРДА В РЯДУ ПОХІДНИХ D-(+)-ГЛЮКОЗАМИНУ

І.А.Зупанець, А.М.Семенов, С.Г.Ісаєв

Національний фармацевтичний університет

**Представлено результати фармакологічного скринінгу по визначення антиексудативної активності та гострої токсичності 79 заміщених 3,5-дихлор-2-N-фенілантранілової кислоти, їх глюкозиламонієвих солей і D-(+)-глюкозиламонієвих солей заміщених бензойної кислоти в порівнянні зі стандартними НПЗП неселективними інгібіторами ЦОГ-1/ЦОГ-2 диклофенаком натрію та індометацином, селективним інгібітором ЦОГ-2 мелоксикамом і НПЗП з метаболітними властивостями глюкозаміну гідрохлориду. За результатами пошуку виявлено 10 перспективних сполук, які проявляють значиму антиексудативну активність на тлі низької токсичності в порівнянні з референс-препаратами.**

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я від хвороб серця щорічно вмирає 16,6 млн жителів планети, що складає 29,2% від загальної смертності населення світу. В Україні в 2007 р. зареєстровано хвороб системи кровообігу 53 412,4 на 100 тис. осіб (абсолютні дані: 24 818 441) серед всього населення. За даними ряду авторів [3, 5, 6, 13] частка запальних захворювань міокарда (міокардитів, кардіоміопатій тощо) складає 10% в загальному числі кардіологічних хворих.

Запальні захворювання серцевого м'язу є поліетіологічними, часто з нез'ясованою етіологією [13], патогенез яких обумовлений пошкоджуючими впливами токсичного, гіпоксичного, ішемічного характеру, які вкладаються в рамки запального процесу [3, 5, 8]. У зв'язку з цим для фармакокорекції запальних захворювань міокарда поряд з засобами базисної терапії використовуються нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) і засоби метаболічної дії [2, 3, 5]. У той же час НПЗП поряд з лікувальною дією чинять ряд побічних ефектів, зокрема, дистрофогенний вплив на внутрішні органи, в тому числі і міокард, мають здатність порушувати регіонарну геодинаміку, підви-

щуючи при цьому вживання кисню тканинами [3, 5]. Засіб метаболітної дії глюкозамін (ГА) попереджує грубі деструктивні зміни кардіоміоцитів, зберігає цитоархітектоніку та функціональну стабільність сполучної тканини та сприяє швидкому відновленню порушених функцій міокарда [2, 7-13]. ГА поряд з метаболітними проявляє властивості НПЗП, що є підґрунттям для пошуку та вивчення нових лікарських засобів — коректорів запальних захворювань міокарда серед похідних ГА з метою створення на їх основі препаратів з метаболітними властивостями.

Метою нашої роботи став пошук фармакологічно активних речовин серед 79 сполук, похідних аміноцукру D-(+)-глюкозаміну (D-(+)-ГА), шляхом вивчення їх впливу на перебіг ексудативного запалення та дослідження гострої токсичності перспективних сполук.

### Матеріали та методи

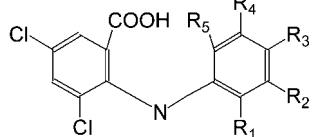
Як об'єкти дослідження були обрані 79 похідних D-(+)-ГА, структура яких має 2 біологічно активних центри: аміноцукор D-(+)-ГА та аглікон. Роль аглікону в цих сполуках виконують похідні бензойної та 3,5-дихлор-2-N-фенілантранілової кислот. Сполуки, що вивчалися, були класифіковані за такою схемою:

- I. Заміщені 3,5-дихлор-2-N-фенілантранілової кислоти та їх глюкозиламонієві солі (56 сполук):
  - заміщені 3,5-дихлор-2-N-фенілантранілової кислоти (26 сполук);
  - D-(+)-глюкозиламонієві солі заміщених 3,5-дихлор-2-N-фенілантранілової кислоти (30 сполук);
- II. D-(+)-глюкозиламонієві солі заміщених бензойної кислоти (23 сполуки).

Як препарати порівняння використовували ефективні представники групи НПЗП неселективні інгібітори ЦОГ-1/ЦОГ-2 індометацин (І) і диклофенак натрію (Д), селективний інгібітор ЦОГ-2 мелоксикам (М) та НПЗП з метаболічною дією глюкозаміну гідрохлорид (ГА-НСІ).

Таблиця 1

Антиексудативна активність та гостра токсичність заміщених 3,5-дихлор-2-N-фенілантранілової кислоти та препаратів порівняння

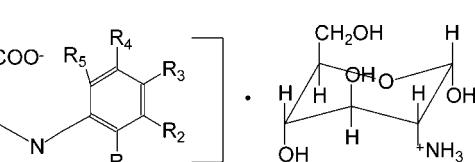


Шифр речовини	Активність, мг/кг		LD <sub>50</sub> , мг/кг	TI, LD <sub>50</sub> /ED <sub>50</sub>
	ED <sub>40</sub>	ED <sub>50</sub>		
1.1	22,3	—	1870 (1150÷2600)	—
1.11	22,6	—	1180 (730÷1640)	—
1.13	22,5	—	1390 (920÷1830)	—
1.17	22,7	—	2180 (1460÷2900)	—
Диклофенак натріо	—	8,0	350 (311÷394)	43,7
Індометацин	—	2,0	30,6 (24,8÷36,3)	15,3
Мелоксикам		1,0	>50	>50
Глюказаміну гідрохлорид	—	50,0	>10000	>200,0

Антиексудативні властивості похідних D-(+)-ГА вивчали на моделі карагенінового набряку стопи у білих мишей вагою 18-20 г [1]. Антиексудативну активність визначали за здатністю речовини пригнічувати запальну реакцію у дослідних тварин у порівнянні з контрольними і

Таблиця 2

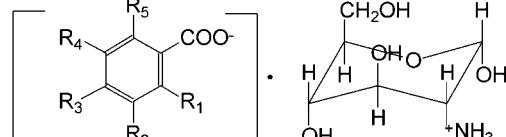
Антиексудативна активність та гостра токсичність D-(+)-глюкозиламонієвих солей заміщених 3,5-дихлор-2-N-фенілантранілової кислоти та препаратів порівняння



Шифр речовини	Активність, мг/кг		LD <sub>50</sub> , мг/кг	TI, LD <sub>50</sub> /ED <sub>50</sub>
	ED <sub>40</sub>	ED <sub>50</sub>		
2.4	21,7	—	3850 (3120÷4570)	—
2.17	19,6	—	2940 (2420÷3460)	—
Диклофенак натріо	—	8,0	350 (311÷394)	43,7
Індометацин	—	2,0	30,6 (24,8÷36,3)	15,3
Мелоксикам		1,0	>50	>50
Глюказаміну гідрохлорид	—	50,0	>10000	>200,0

Таблиця 3

Антиексудативна активність та гостра токсичність D-(+)-глюкозиламонієвих солей заміщених бензойної кислоти та препаратів порівняння



Шифр речовини	Активність, мг/кг		LD <sub>50</sub> , мг/кг	TI, LD <sub>50</sub> /ED <sub>50</sub>
	ED <sub>40</sub>	ED <sub>50</sub>		
3.1	24,2	—	4310 (3510÷5120)	—
3.7	—	22,5	2580 (1930÷3220)	114,6
3.17	10,2	—	1380 (920÷1830)	—
3.21	19,9	—	1187 (1150÷2600)	—
Диклофенак натріо	—	8,0	350 (311÷394)	43,7
Індометацин	—	2,0	30,6 (24,8÷36,3)	15,3
Мелоксикам		1,0	>50	>50
Глюказаміну гідрохлорид	—	50,0	>10000	>200,0

виражали у відсотках. Розрахунок проводили за такою формuloю:

$$\text{АА} = (\Delta M_K - \Delta M_0 / \Delta M_K) \cdot 100\%,$$

де: АА — антиексудативна активність, %;  $\Delta M_K$  — різниця в масі між набряклою та ненабряклою кінцівками тварин контрольної групи;  $\Delta M_0$  — різниця в масі між набряклою та ненабряклою кінцівками тварин дослідної групи.

Вивчення антиексудативної дії досліджуваних речовин у діапазоні доз 5,0-25,0 мг/кг та препаратів порівняння було проведено у 237 серіях дослідів на 1422 білих миших. Було розраховано їх ED<sub>40</sub>, ED<sub>50</sub> з використанням методу найменших квадратів [1].

Гостру токсичність 54 сполук, найефективніших за антиексудативною дією, вивчали при одноразовому внутрішньошлунковому введенні білим мишам вагою 18-20 г, за якими вели спостереження протягом 14 днів, з подальшим визначенням LD<sub>50</sub> та їх довірчих інтервалів [4], розрахунком терапевтичного індексу (TI), який характеризує широту терапевтичної дії сполуки і є критерієм оцінки їх безпеки та ефективності. У процесі дослідження гострої токсичності похідних D-(+)-ГА було поставлено 34 серії дослідів з використанням 918 білих мишей.

Результати дослідження щодо найефективніших та найперспективніших сполук наведені у табл. 1-3.

#### Результати та їх обговорення

Дослідження антиексудативної активності та гострої токсичності в ряду похідних з 56 замі-

щених 3,5-дихлор-2-N-фенілантранілової кислоти та їх глюкозиламонієвих солей показало, що 27 сполук проявляють антиексудативну активність різного ступеня вираженості та за значенням LD<sub>50</sub>, які знаходяться в інтервалі 1121-4840 мг/кг, належать до класу "Малотоксичних речовин" за загальноприйнятою класифікацією речовин за токсичністю. Але перспективними як коректори запальних захворювань міокарда можуть бути тільки шість речовин під шифрами 1.1; 1.11; 1.13; 1.17; 2.4 та 2.17, які проявили антиексудативну дію на рівні ED<sub>40</sub> в інтервалі 19,6-22,7 мг/кг (табл. 1-2). Перевагою цієї групи сполук є їх більша, ніж у препаратів порівняння Д та І нешкідливість, про що свідчить значення їх LD<sub>50</sub> (табл. 1-2).

За результатами нашої роботи установлено, що в ряду з 23 похідних D-(+)-глюкозиламонієвих солей заміщених бензойної кислоти для 16 характеристика антиексудативна дія різного ступеня вираженості та низька токсичність, що за значенням LD<sub>50</sub>, які знаходяться в межах 1187-4650 мг/кг, дозволяє віднести сполуки до IV класу токсичності "Малотоксичні речовини" за загальноприйнятою класифікацією речовин за токсичністю. Три речовини під шифрами 3.1; 3.17 та 3.21 проявляють антиексудативний ефект на рівні ED<sub>40</sub> в рамках 10,2-24,2 мг/кг і поступаються препаратам порівняння, але мають перевагу над Д та І за нешкідливістю у 3,4-141 рази (табл. 3). Сполука під шифром 3.7 проявляє виражену антиексудативну дію на рівні ED<sub>50</sub>=22,5 мг/кг і поступається препаратам порівняння Д (ED<sub>50</sub>=8 мг/кг) у 2,8 рази, І (ED<sub>50</sub>=2 мг/кг) — у 11,25 рази, М (ED<sub>50</sub>=1 мг/кг) — у 22,5 рази, але перевищує антиексудативну дію ГА-HCl (ED<sub>50</sub>=50 мг/кг) у 2,2 рази (табл. 3). За широтою терапевтичної дії сполука під шифром 3.7 не поступається ГА-HCl та має перевагу над Д у 3 рази, І — у 7,5 рази, М — у 2,3 рази (табл. 3).

Таким чином, проведений фармакологічний скринінг з визначення антиексудативної дії та гострої токсичності в ряду з 79 сполук заміщених 3,5-дихлор-2-N-фенілантранілової кислоти, їх глюкозиламонієвих солей та D-(+)-глюкозиламонієвих солей заміщених бензойної кислоти дозволив визначити 10 речовин для подальших досліджень з метою пошуку нових високоефективних та нешкідливих коректорів запальних захворювань міокарда.

#### ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що з 56 похідних заміщених 3,5-дихлор-2-N-фенілантранілової кислоти та їх глюкозиламонієвих солей перспективними як коректори запальних захворювань міокарда можуть бути тільки шість речовин під шифрами 1.1; 1.11; 1.13; 1.17; 2.4 та 2.17, які проявили антиексудативну дію на рівні ED<sub>40</sub>, але їх перевагою є більший, ніж у препаратів порівняння показник нешкідливості.

2. Серед 23 похідних D-(+)-глюкозиламонієвих солей заміщених бензойної кислоти перспективними для подальшого пошуку коректорів запальних захворювань міокарда є 4 сполуки під шифрами 3.1; 3.7; 3.17 та 3.21, з них три речовини під шифрами 3.1; 3.17 та 3.21 проявляють антиексудативний ефект на рівні ED<sub>40</sub>, сполука під шифром 3.7 — на рівні ED<sub>50</sub>, остання переважає за антиексудативною дією глюкозаміну гідрохлорид та за широтою терапевтичної дії — решту препаратів порівняння.

3. Отже, для подальших досліджень з метою пошуку нових високоефективних та нешкідливих коректорів запальних захворювань міокарда з властивостями НПЗП метаболічної дії відібрано 10 сполук з ряду заміщених 3,5-дихлор-2-N-фенілантранілової кислоти, їх глюкозиламонієвих солей та D-(+)-глюкозиламонієвих солей заміщених бензойної кислоти.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Дроговоз С.М., Зупанець І.А., Мохорт М.А. та ін. Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби. У кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекоменд. / За ред. член.-кор. АМН України О.В.Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — С. 292-306.
2. Зупанець І.А. Экспериментальное обоснование использования глюкозамина и его производных в медицине: Дисс. ... докт. мед. наук. — Купавна, 1993. — 90 с.
3. Коваленко В.Н. Новые возможности антиревматической терапии на основе нестероидных противоспазмогенных средств / Матер. науч.-практ. конф. "Актуальні питання медицини", присвяченої 30-й річниці Центрального госпіталю МВС України. — К., 1997. — С. 5-6.
4. Коваленко В.М., Стефанов О.В., Максимов О.В., Трахтенберг І.М. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. У кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекоменд. / За ред. член.-кор. АМН України О.В.Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — С. 74-97.
5. Мусеев В.С. // Практикующий врач. — 1996. — №7 (4). — С. 4-6.
6. Перчикова Г.Е., Виноградов А.В., Веселова С.П. // Тер. архів. — 1992. — №9. — С. 68-71.

7. *Actis-Goretta L., Ottaviani J.I., Fraga C.G. et al.* // *J. of Agricultural and Food Chem.* — 2006. — Vol. 54, №1. — P. 229-234.
8. *Akao M., O'Rourke B., Kusuoka H. et al.* // *Circ. Res.* — 2003. — Vol. 92, №2. — P. 195-202.
9. *Edeas M. Future of Antioxidants Applications in Human Health: III International Conference on Polyphenols applications in Nutrition and Health, October 26-27, 2006, St Julian / M.Edeas.* — Malta: ISANH, 2006. — P. 47.
10. *Gamaley I.A., Klyubin I.V.* // *Inter. Rev. Cytol.* — 1999. — Vol. 188, №4. — P. 203-255.
11. *Garcia-Saura M.F., Galisteo M., Villar I.C. et al.* // *Molecular and Cellular Biochem.* — 2005. — Vol. 270, №1-2. — P. 147-155.
12. *Rangkadilok N., Sitthimonchai S., Worasuttayangkurn L. et al.* // *Food and Chem. Toxicol.* — 2007. — Vol. 45, №2. — P. 328-336.
13. *Report of the WHO/ISFC task force on the definition and classification of cardiomyopathies* // *Brit. Heart. J.* — 2000. — Vol. 44. — P. 672-673.

УДК 615.22 : 611.127-002 : 615.276 : 615.9

**ПОИСК КОРРЕКТОРОВ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МИОКАРДА В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ D-(+)-ГЛЮКОЗАМИНА**

И.А.Зупанец, А.Н.Семенов, С.Г.Исаев

Представлены результаты фармакологического скрининга по определению антиексудативной активности и острой токсичности 79 замещенных 3,5-дихлор-2-N-фенилантраниловой кислоты, их глюкозиламмониевых солей и D-(+)-глюкозиламмониевых солей замещенных бензойной кислоты в сравнении со стандартными НПВС неселективными ингибиторами ЦОГ-1/ЦОГ-2 диклофенаком натрия и индометацином, селективным ингибитором ЦОГ-2 мелоксикамом и НПВС с метаболическими свойствами глюкозамина гидрохлоридом. В результате поиска выявлено 10 перспективных соединений, которые проявляют значимую антиексудативную активность на фоне низкой токсичности по сравнению с референс-препаратами.

UDC 615.22 : 611.127-002 : 615.276 : 615.9

**THE SEARCH OF MYOCARDIUM INFLAMMATORY DISEASES PROOF-READERS IN THE LINE OF D-(+)-GLUCOSAMINE DERIVATIVES**

I.A.Zupanets, A.M.Semenov, S.G.Isaev

The results of the pharmacological screening in determining the anti-exudative activity and acute toxicity of 79 substituted 3,5-dichlor-2-N-phenylanthranilic acid, their glucosylammonia salts and D-(+)-glucosylammonium salts of benzoic acid substitutes in comparison with the standard NSAIDs non-selective inhibitors of COX-1/COX-2 sodium diclofenac and indometacin, selective inhibitor of COX-2 meloxicam and NSAID with metabolic properties of glucosamine hydrochloride have been presented. According to the screening results 10 perspective compounds with a significant anti-exudative activity and low toxicity comparing to the reference medicines have been found.