

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

ЗУПАНЕЦЬ МАКСИМ ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК: 547.455.623'233.1:547.814.5:616.72-002

ПОШУК НОВИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ В РЯДУ НІТРО-
ТА ОКСАМОЇЛЗАМІЩЕНИХ N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2015

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакології Національного фармацевтичного університету МОЗ України (м. Харків)

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Дроговоз Світлана Мефодіївна,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
професор кафедри фармакології та лікарської
токсикології

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, член-кореспондент НАН і
НАМН України, професор
Чекман Іван Сергійович,
Національний медичний університет
ім. О. О. Богомольця МОЗ України (м. Київ),
завідувач кафедри фармакології

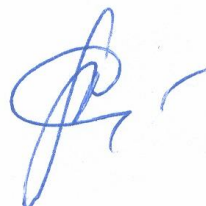
доктор фармацевтичних наук, професор
Сирова Ганна Олегівна,
Харківський національний медичний університет
МОЗ України,
завідувач кафедри медичної та біоорганічної хімії

Захист відбудеться “ 16 ” жовтня 2015 р. о 12 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий “ 11 ” вересня 2015 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради
д. фарм. н., професор



Т. С. Сахарова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Серед запальних захворювань чільне місце посідають патології суглобів. Згідно зі статистикою, на запальні захворювання суглобів хворіє 20-45 % населення в усіх країнах світу – кожна сота людина на планеті, переважно жінки старше 30 років, що зменшує тривалість життя хворих приблизно на 10 років (Statistics about Arthritis, 2014). Соціальна небезпека остеоартриту полягає в тому, що понад 15 % хворих стають з часом інвалідами.

Терапія остеоартриту неможлива без застосування нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП), дія яких пов'язана з пригніченням ферменту циклооксигенази-2 (J. K. Chang, 2005; Г. О. Сирова, 2012). Однак ці препарати, при всій їх різноманітності та ефективності, здатні пошкоджувати слизову оболонку шлунка і кишечника, а також чинити негативний вплив на печінку та нирки (І. С. Чекман і співавт., 2010). Не стала винятком група високоселективних інгібіторів ЦОГ-2, які при високій протизапальній активності мають значно кращий профіль гастроінтестинальної безпеки. Але згодом було доведено наявність серйозних серцево-судинних, ниркових і тяжких шкірних побічних реакцій, що призвело до обмеження їх застосування (Ю. Д. Игнатов и соавт., 2010). Відомо, що при тривалому застосуванні НПЗП можуть негативно впливати на метаболізм як ушкодженого хряща, так і на здорові суглоби (Н. Nakamura, 2007; T. N. de Boer, 2009). Тому актуальним залишається пошук протизапальних препаратів із хондропротекторними властивостями. Останнім часом при пошуку нових безпечних НПЗП велика увага приділяється сполукам природного походження, таким, як глюкозамін (ГА) (І. А. Зупанець і співавт., 2000-2014; О. В. Курята і співавт., 2014).

Глюкозамін (2-аміно-2-дезоксид-D-(+)-глюкоза) входить до складу глікозаміногліканів, полісахаридів, глікопротеїнів, наявний у структурі біологічних мембран, міжклітинної рідини, матриксу суглобового хряща та інших елементів сполучнотканинного походження (Г. В. Зайченко, 2010). Цей аміноцукор є «будівельним» матеріалом для хрящової тканини, відіграє значну роль у формуванні поверхні суглобів, сухожилів, зв'язок, синовіальної рідини, шкіри, а також слизу в травному, дихальних і сечовивідних шляхів (N. R. Dostrovsky et al., 2011). Численні наукові дослідження довели, що лікарські препарати, які містять ГА, збільшують рухливість суглобів, зменшуючи біль та запалення в них, сприяють їх регенерації (С. Б. Попов і співавт., 2007). Існує понад 50 хондропротекторів, до складу яких входить ГА. У працях професорів С. М. Дроговоз, І. А. Зупанця та ін. доведена протизапальна активність похідних ГА (2004-2014).

З існуючих НПЗП похідні N-фенілантранілової кислоти (N-ФАК) є одними з широковикористовуваних похідних у різних галузях медицини (A. Zarbock, 2013). N-ФАК є похідними антранілової кислоти, які виявляють протизапальну, анальгетичну, антиоксидантну, мембраностабілізуювальну, жарознижувальну, гепатозахисну дію та протипухлинну активність

(S. Endo et al., 2010). Крім того, ці сполуки мають малу токсичність, нескладний та економічно маловитратний шлях синтезу (B. Punjabi et al., 2009; С. Г. Ісаєв і співавт, 2014).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана за планом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету, затвердженим МОЗ України, «Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (номер держреєстрації 0103U000478), «Фармакологічні вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956), в якій автор є співвиконавцем.

Мета і задачі дослідження. *Метою* нашої роботи стало експериментальне обґрунтування доцільності пошуку нових фармацевтичних субстанцій у ряду нітро- та оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот, що поєднують у собі протизапальні та хондропротекторні властивості.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

1. Провести скринінг 19 уперше синтезованих речовин у ряду нітро- та оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот на протизапальну активність.
2. Встановити залежність «структура – дія» перспективних речовин у ряду нітро- та оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот.
3. Вивчити гостру токсичність перспективних речовин при однократному внутрішньошлунковому введенні мишам і щурам та внутрішньочеревному введенні щурам.
4. Вивчити антиексудативну, антиальтеративну та антипроліферативну дію перспективних речовин.
5. Вивчити анальгетичну та жарознижувальну дію перспективних речовин.
6. Провести поглиблене вивчення ефективності речовин-лідерів на моделі колаген-індукованого артриту у щурів у порівнянні з диклофенаком натрію та глюкозаміну сульфатом.

Об'єкт дослідження – запальні захворювання суглобів.

Предмет дослідження – протизапальні, анальгетичні, жарознижувальні, хондропротекторні властивості уперше синтезованих речовин у ряду нітро- та оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот.

Методи дослідження: фармакологічні, токсикологічні, біохімічні, морфологічні та методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше теоретично та експериментально обґрунтовано і проведено фармакологічне вивчення 19 уперше синтезованих речовин у ряду нітро- та оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот. Доведено можливість посилення протизапальної активності уперше синтезованих речовин шляхом сумування активностей катіона ГА і аніона N-ФАК.

Поглиблено наукові уявлення про фармакологічні властивості солей у ряду нітро- та оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот, зокрема

встановлена закономірність «структура – дія», виявлені перспективні речовини.

Встановлено, що застосування речовини-лідера 1-БИСГ (D-(+)-глюкозиламонієва сіль 5-нітро-N-фенілантранілової кислоти) при модельному остеоартриті характеризується вираженим позитивним впливом на маркери остеоартриту, що виявляється в зниженні запально-деструктивних процесів у суглобах. Протизапальна та хондропротекторна активність речовини 1-БИСГ підтверджена біохімічними, клінічними та морфологічними дослідженнями. Лікувальна ефективність 1-БИСГ не поступається диклофенаку натрію та переважає глюкозаміну сульфат: за нормалізацією кількості лейкоцитів (на 23,2 %), за вмістом С-реактивного білка (на 27,2 %), сіалових кислот (на 18,1 %), глікопротеїнів (на 12,1 %), а також за вираженістю позитивного впливу на морфометричні показники стану суглобового хряща тварин.

Практичне значення одержаних результатів. За результатами роботи встановлено, що речовини у ряду нітро- та оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот є перспективними речовинами для розробки сучасних НПЗП з малою токсичністю для фармакотерапії хронічних запальних захворювань суглобів.

Результати дисертаційної роботи є фрагментом доклінічного вивчення речовини-лідера в ряду нітро- та оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот (1-БИСГ), що стало підставою для внесення до опрацювання та включення 1-БИСГ у план розробки технологічного регламенту і проекту АНД на новий лікарський засіб ТОВ «ХФП «Здоров'я народу» у 2016 році (акт апробації № 381.1/00 від 25.02.2015).

Експериментально обґрунтована доцільність створення потенційних протизапальних засобів нового покоління на основі встановлених фармакологічних закономірностей похідних солей ГА та N-ФАК, що підтверджується інформаційним листом про нововведення у системі охорони здоров'я «Пошук безпечних НПЗП на основі комбінації N-фенілантранілових кислот та солей глюкозаміну», № 88/1-2014, 2014 р.

Запропоновано спосіб лікування запальних процесів з переважанням болю з використанням D-(+)-глюкозиламонієвої солі 5-нітро-N-фенілантранілової кислоти (Патент України на корисну модель № 92679 від 26.08.2014 р.).

Результати роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедр фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету (протокол № 8 від 03.04.2014), фармакології Івано-Франківського національного медичного університету (протокол № 6 від 05.02.2015), фармації ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» (протокол № 20 від 12.06.2015), фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університету імені І. Я. Горбачевського» (протокол № 19 від 02.06.2015), експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (протокол № 23 від 26.06.2015), загальної та клінічної фармації ДЗ "Дніпропетровська медична академія" (протокол № 1 від 31.08.2015).

Особистий внесок здобувача. Робота виконана на базі кафедри фармакології НФаУ. Разом з науковим керівником визначено мету і завдання дослідження, розроблені методичні підходи, згідно з якими відібрані моделі та методи для виконання експериментальної частини дисертації. Особисто проведено: патентно-інформаційний пошук, статистична обробка й аналіз отриманих результатів з оформленням їх у вигляді таблиць, діаграм, аналіз даних літератури за темою дисертації, експериментальні дослідження, аналіз та систематизація отриманих результатів; сформульовано висновки дисертації. В опублікованих наукових працях дисертантом наведено результати власних експериментальних досліджень.

Морфологічні дослідження проведені на базі Центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ МОЗ України за консультативної допомоги ст. н. с., к. біол. н. Ю. Б. Лар'яновської. Також дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на: Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (м. Харків, 2013), Національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (м. Харків, 2013), Міжнародній науково-практичній конференції «Медичні та фармацевтичні науки: історія, сучасний стан та перспективи досліджень» (м. Одеса, 2014), VII науково-практичній Internet-конференції «Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку» (м. Харків, 2014).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць, з них 6 статей, 5 з яких опубліковано у наукових профільних виданнях, рекомендованих МОН України, у тому числі 2 у зарубіжних виданнях, 4 тези доповідей, 1 патент України на корисну модель та 1 інформаційний лист.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 160 сторінках машинописного тексту і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел. Робота містить 32 таблиці і 46 рисунків. Бібліографія містить 243 посилання на наукові праці, з них 100 – кирилицею, 143 – латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Досліджено 19 уперше синтезованих речовин потенційних НПЗП похідних D-(+)-глюкозиламонієвих солей N-ФАК, які були синтезовані на кафедрі медичної хімії Національного фармацевтичного університету д. фарм. н., професором С. Г. Ісаєвим. Уперше синтезовані сполуки являють собою водорозчинні кристалічні речовини різного кольору залежно від хімічної структури (білого, майже білого, жовтого, коричневого).

Як препарати порівняння використовували: диклофенак натрію – Вольтарен, таблетки, вкриті оболонкою, 0,025, виробництва «Novartis Pharma» (Швейцарія); глюкозаміну сульфат – ДОНА[®] порошок, саше 1,5, виробництва Rottapharm S.p.A. (Італія); мефенамову кислоту – мефенамінова кислота-Дарниця, таблетки 0,5, виробництва ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» (Україна); індометацин – індометацин-ретард, капс. 0,075, виробництва ТОВ "Стиролбіофарм" (Україна); метамізол натрію – анальгін-Дарниця, таблетки 0,5, виробництва ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» (Україна).

Експериментальне вивчення протизапальної активності оригінальних сполук у ряду нітро- та оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот починали зі скринінгових досліджень їх антиексудативної активності. За результатами цих досліджень були виявлені три перспективні речовини (1-БИСГ та 2-БИСГ D-(+)-глюкозиламонієві солі заміщених 5-нітро-N-ФАК; 1353-СГС D-(+)-глюкозиламонієва сіль 3-оксамоїлзаміщеної N-ФАК) та проведені дослідження їх гострої токсичності, антиексудативної, антиальтеративної, антипроліферативної дії, визначена анальгетична та жарознижувальна активність. Для речовини-лідера 1-БИСГ (D-(+)-глюкозиламонієва сіль 5-нітро-N-ФАК) поглиблено вивчено протизапальну активність на моделі запалення суглобів.

Уперше синтезовані речовини вводили внутрішньошлунково в еквімолекулярних дозах по відношенню до дози 8 мг/кг диклофенаку натрію. Препарати порівняння вводили внутрішньошлунково у вигляді водних суспензій: диклофенак натрію, глюкозаміну сульфат, індометацин та метамізол натрію в дозах 8, 50, 10 та 50 мг/кг відповідно (О. В. Стефанов, 2001); мефенамову кислоту – в дозі ЕД₅₀ 30 мг/кг у вигляді тонкодиспергованих суспензій в очищеній воді, стабілізованих емульгатором твіном-80 (С. Г. Ісаєв, 2013).

На рис. 1 наведено схему дослідження, загальна кількість тварин та їх розподіл залежно від етапу досліджень.

Експеримент виконано на 562 статевозрілих білих щурах масою 180-230 г, 126 мишах масою 15-24 г, вирощених у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ, згідно з методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України (О. В. Стефанов, 2001), Національними «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001) та ухвалою Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2007). Дотримання етичних норм підтверджено комісією з біоетики НФаУ (протокол № 3 від 19.03.2014 р.). Дослідження проводили у ЦНДЛ НФаУ, що сертифікована ДЕЦ МОЗ України (посвідчення № 21 від 30.04.2009 р.). Скринінгові дослідження антиексудативної дії вперше синтезованих речовин проводили на моделях карагенінового набряку (О. В. Стефанов, 2001). Гостру токсичність цих сполук при внутрішньошлунковому та внутрішньочеревному введенні визначали у широкому діапазоні доз 500-5000 мг/кг за методом Т. В. Пастушенко і співавт. (1985). На основі отриманих даних встановлювали середньолетальні дози перспективних речовин (1-БИСГ, 2-БИСГ та 1353-СГС) та клас їх токсичності (К. К. Сидоров і соавт., 1977).

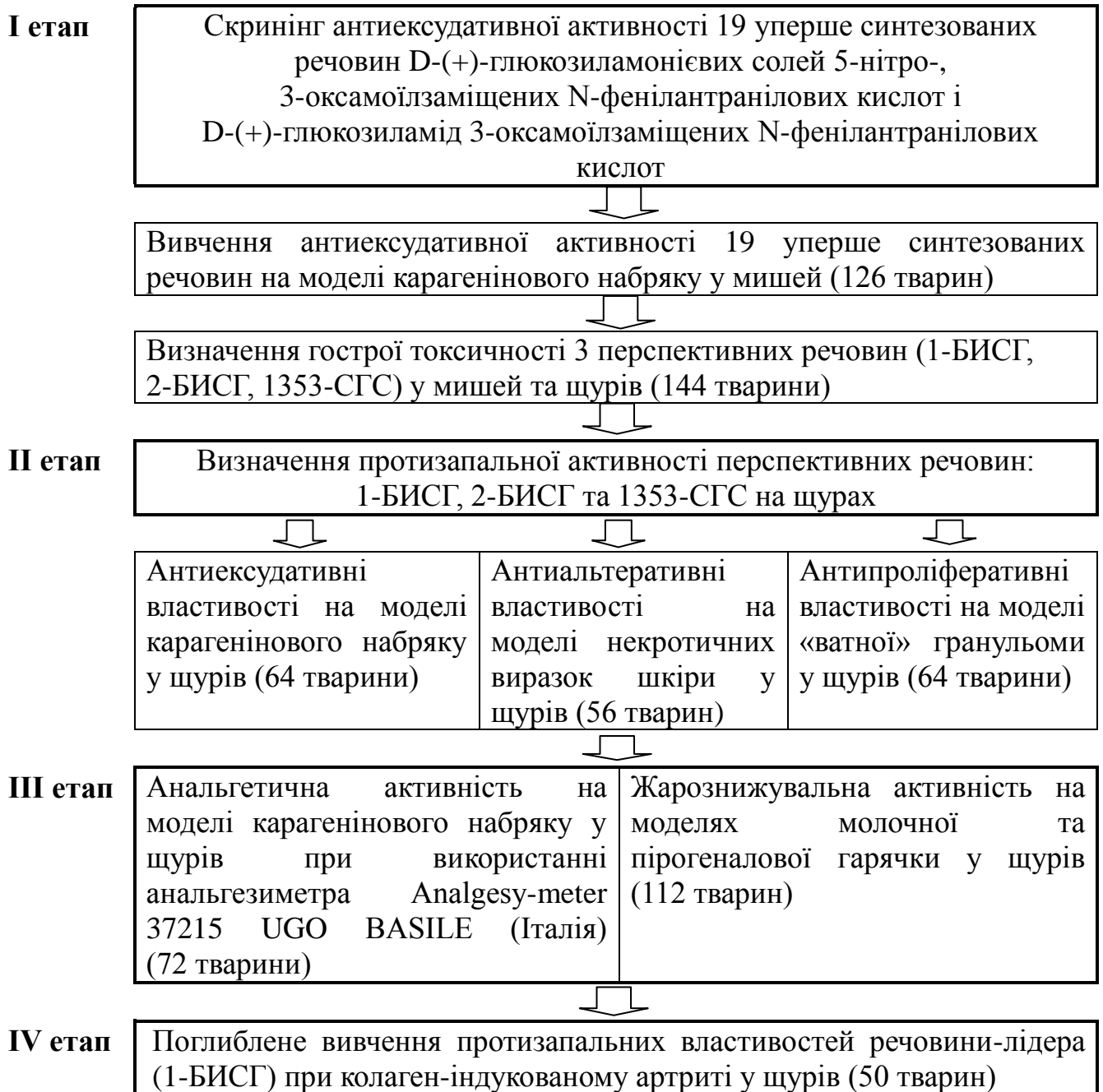


Рис. 1. Схема вивчення протизапальної дії D-(+)-глюкозиламонієвих солей та D-(+)-глюкозиламідів N-фенілантранілових кислот

На наступному етапі дослідження вивчали протизапальну активність перспективних речовин на щурах. Вивчення антиексудативної активності проводили на моделі карагенінового набряку при використанні цифрового плетизмометра ІТС Life Science (США) (N. D. Doncheva et al., 2013; A. Lahoti et al., 2014). Оцінку антиальтеративної активності перспективних речовин проводили на моделі некротичних виразок, антипроліферативної активності – на моделі «ватної» гранульоми, анальгетичної активності – на моделі карагенінового набряку з використанням анальгезиметра Analgesy-meter 37215 UGO BASILE (Італія), а оцінку жарознижувальної активності – на моделі молочної та пірогеналової гарячки у щурів (О. В. Стефанов, 2001; S. I. Eissa et al., 2014).

За результатами першого, другого і третього етапів дослідження встановлено речовину-лідера – 1-БИСГ та обґрунтовано доцільність подальшого її вивчення, оскільки вона має виражену протизапальну, анальгетичну, жарознижувальну активність і низьку токсичність.

На останньому (четвертому) етапі дослідження поглиблено вивчено протизапальні властивості речовини-лідера 1-БИСГ в умовах розвитку колаген-індукованого артриту у щурів. Для цього у перший день експерименту відтворювали автоімунний артрит введенням імунізувальної суміші. Через тиждень для потенціювання автоімунного процесу повторно вводили імунізувальну суміш. Через 10-14 днів у тварин розвивався поліартрит задніх і передніх кінцівок (С. К. Шебеко, 2009; А. J. Alonso-Castro et al, 2015). Починаючи з 14 дня експерименту й упродовж двох тижнів тварини отримували лікування речовиною-лідером 1-БИСГ у дозі 11,0 мг/кг.

На 28 добу експерименту тварин піддавали декапітації під ефірним наркозом з метою отримання крові для клінічних і біохімічних аналізів, а також тканини суглобів для гістологічного вивчення. Проводили дослідження крові щурів (вихідні дані станом на 28 добу досліду): визначали кількість лейкоцитів, лейкоцитарну формулу та швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) за допомогою уніфікованих методів (Н. К. Walker et al, 1990; А. В. Кононенко, 2014); біохімічні дослідження показників сироватки крові: вміст маркерів запалення сіалових кислот (СК) за методом Гесса, глікопротеїнів за реакцією з молібденово-сірчаноокислим реактивом (метод Штейнберга-Доценко) та С-реактивного білка за допомогою імунохімічних наборів «Іму-ЛА-Тест» виробництва «PLIVA-Lachema Diagnostika» (Чехія) (турбідиметричний метод) (К. О. Зупанець і співавт., 2010; J. S. Aprioku et al., 2014).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента й непараметричних методів аналізу (Mann-Whitney U Test) за допомогою комп'ютерних програм STATISTICA 7.0, StatPlus 2009 та MS Excel 2007.

Результати та їх обговорення. Порівняння протизапальної активності 19 уперше синтезованих речовин у ряду нітро- та оксамоїлзаміщених N-ФАК свідчить, що найкращі показники антиексудативної активності з досліджених сполук виявили речовини з групи D-(+)-глюкозиламонієвих солей заміщених 5-нітро-N-ФАК (шифр – БИСГ) на рівні 28,46 - 57,43 %. Речовини групи D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-ФАК (1353-СГС, 1355-СГС, 1358-СГС) виявили помірну антиексудативну активність на рівні 22,89 - 33,73 %, а речовини 1354-СГС, 1356-СГС, 1357-СГС зовсім не виявляють цієї активності. А група похідних D-(+)-глюкозиламідів N-ФАК під шифрами ИСГА виявила відносно низьку антиексудативну активність, тому не становить подальшого інтересу для пошуку нових безпечних НПЗП.

Отже, виділено три перспективні речовини для подальшого дослідження 1-БИСГ, 2-БИСГ та 1353-СГС, які виявили антиексудативну активність на рівні 53,6, 57,4 та 33,7 % відповідно. Ці речовини перевершили

за активністю глюкозаміну сульфат (більш ніж у 2 рази та в 1,5 рази (1353-СГС)) і мефенамову кислоту (у 1,5 рази для речовин 1-БИСГ; 2-БИСГ), а речовина 1353-СГС виявила активність на рівні мефенамової кислоти.

При вивченні гострої токсичності перспективних речовин встановлено, що значення їх ЛД₅₀ перевищує 5000 мг/кг. Відповідно до класифікації К. К. Сидорова речовини 1-БИСГ, 2-БИСГ та 1353-СГС (ЛД₅₀ > 5000 мг/кг) належать до VI класу токсичності – відносно нешкідливі речовини, що підтверджує їх перспективність та безпечність як потенційних НПЗП. Досліджувані речовини належать до такого ж класу токсичності, що ГА (ЛД₅₀ > 10000 мг/кг), перевершуючи у 7 разів показник летальної дози мефенамової кислоти (ЛД₅₀ > 700 мг/кг).

Результати вивчення складових протизапальної активності перспективних речовин (1-БИСГ; 2-БИСГ; 1353-СГС) наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

**Порівняння (у %) складових протизапальної активності
перспективних речовин у ряду нітро- та оксамоїлзаміщених
N-фенілантранілових кислот у щурів (n = 184)**

Сполуки та препарати порівняння	Активність речовин за фазами запалення		
	ексудація	альтерація	проліферація
1-БИСГ, 11,0 мг/кг	45,6 ^{**/®}	72,0 [*]	18,0 ^{®/©}
2-БИСГ, 11,4 мг/кг	41,2 [*]	62,1 [*]	13,7 ^{*/®/©}
1353-СГС, 12,0 мг/кг	37,5 [*]	14,8 [®]	11,8 ^{*/®/©}
Мефенамова кислота, 100,0 мг/кг	35,0 [*]	–	–
Глюкозаміну сульфат, 50,0 мг/кг	22,6 [*]	75,0	32,0
Диклофенак натрію, 8,0 мг/кг	54,8 ^{**/®}	27,2 [®]	21,7 [©]
Індометацин, 10,0 мг/кг	–	–	41,3

Примітки:

- * – достовірність по відношенню до диклофенаку натрію, $p < 0,05$;
- ** – достовірність по відношенню до мефенамової кислоти, $p < 0,05$;
- ® – достовірність по відношенню до глюкозаміну сульфату, $p < 0,05$;
- © – достовірність по відношенню до індометацину, $p < 0,05$;
- n – загальна кількість тварин у досліді.

Найвищу антиексудативну активність (45,6 %) серед досліджуваних сполук виявили речовини 1-БИСГ та 2-БИСГ (41,2 %) і перевищили за цією активністю препарати порівняння мефенамову кислоту (35 %) та ГА (22,6 %), але не перевищили диклофенак натрію (54,8 %). Тому досліджені речовини та препарати порівняння можна розташувати у такій послідовності залежно від антиексудативної активності: диклофенак натрію > 1-БИСГ > 2-БИСГ > 1353-СГС > мефенамова кислота > глюкозаміну сульфат.

Однак за антиальтеративною активністю диклофенак натрію мав низький показник (27,2 %) відносно ГА (75 %). За даними літератури, ГА у

дозі 50 мг/кг виявляє антиальтеративну активність на рівні 72,2 % і має властивість індукувати утворення факторів підсилення процесів регенерації та стимуляції сполучної тканини (В. О. Туляков, 2005). Приблизно на одному рівні (72,0 %) з ГА виявила антиальтеративну активність сполука 1-БИСГ. Із різницею у 13 % до ГА антиальтеративну активність виявила сполука 2-БИСГ (62,1 %), а найменша антиальтеративна активність була у сполуки 1353-СГС – 14,8 %. Найвищу антипроліферативну активність серед перспективних речовин виявила сполука 1-БИСГ – 18 %, а речовини 2-БИСГ та 1353-СГС виявили лише тенденцію до цієї активності (13,7 % та 11,8 % відповідно). Одержані значення антипроліферативної активності співпадають з даними літератури: антипроліферативна активність диклофенаку натрію – 16 %, а ГА – 31 % (І. А. Зупанець, 1993).

Найвищу жарознижувальну активність (табл. 2) серед досліджуваних перспективних речовин виявила сполука 1-БИСГ (1,01° С) на рівні диклофенаку натрію (0,94° С). Найменшу жарознижувальну активність за різницею температур по відношенню до вихідних даних мала сполука 2-БИСГ з показником 0,58° С, яка значно поступалась активності препаратам порівняння. Сполуки 1-БИСГ та 2-БИСГ виявили однакову анальгетичну активність на рівні 39,1 % та 38,4 % відповідно (див. табл. 2), що тотожно активності мефенамової кислоти (36,0 %). Сполука 1353-СГС виявила активність (24,7 %) на рівні ГА (21,7 %).

Таблиця 2

Порівняння активностей перспективних речовин у ряду нітро- та оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот у щурів (n = 184)

Сполуки та препарати порівняння	Жарознижувальна, Δ °С	Анальгетична, %
1-БИСГ, 11,0 мг/кг	1,01	39,1*
2-БИСГ, 11,4 мг/кг	0,58 *	38,4*
1353-СГС, 12,0 мг/кг	0,92	24,7*/**
Диклофенак натрію, 8,0 мг/кг	0,94	59,7**
Мефенамова кислота, 100,0 мг/кг	1,27	36,0
Глюкозаміну сульфат, 50,0 мг/кг	0,88	21,2*
Індометацин, 10,0 мг/кг	–	–
Метамізол натрію, 55 мг/кг	–	63,0

Примітки:

1. Δ °С – середній показник різниці температури (молочна та пірогеналова гарячка) по відношенню до вихідних даних на піку патології (3-4 година після введення пірогену);
2. * – достовірність по відношенню до диклофенаку натрію, $p < 0,05$;
3. ** – достовірність по відношенню до мефенамової кислоти, $p < 0,05$;
4. n – загальна кількість тварин у досліді.

Підсумовуючи отримані результати другого етапу дослідження, доцільно розташувати досліджувані речовини в такій послідовності: 1-БИСГ > 2-БИСГ > 1353-СГС.

Отже, за результатами другого етапу дослідження серед перспективних речовин виділено сполуку-лідера 1-БИСГ. Так, речовина 1-БИСГ виявила антиексудативну активність на рівні 45,6 % (перевершивши мефенамову кислоту на 10 %), антиальтеративну активність – 72 % (на рівні ГА), антипроліферативну активність – 18 % (на рівні диклофенаку натрію), жарознижувальну активність – 1,01° С (на рівні диклофенаку натрію), що перевершує ГА – 0,88° С; анальгетичну активність – 39,1 %, тобто на рівні мефенамової кислоти і вище, ніж ГА (на 18 %).

На третьому етапі при лікуванні щурів сполукою-лідером 1-БИСГ на моделі колаген-індукованого артриту у щурів досліджували клінічні (лейкоцити, ШОЕ), біохімічні (С-реактивний білок, сіалові кислоти, глікопротеїни) та морфологічні (товщина хряща, клітинна щільність) показники протизапальної активності у порівнянні з препаратами порівняння (диклофенак натрію, глюкозаміна сульфат). Результати наведено в таблиці 3.

На 28 день експерименту після моделювання КІА при введенні імунізувальної суміші у тварин контрольної патології спостерігався прояв поліартриту. При лікуванні щурів з КІА сполукою 1-БИСГ відбулося зниження набряку (антиексудативна активність) на рівні 42,1 % по відношенню до контрольної патології. Сполука 1-БИСГ перевершила за активністю препарат порівняння ГА (35,5 %), але не перевершила диклофенак натрію (54 %).

На 28 добу досліду при лікуванні щурів речовиною 1-БИСГ спостерігалась вища нормалізація показників лейкоцитів і ШОЕ, ніж при лікуванні препаратами порівняння. Так, у щурів, лікованих речовиною 1-БИСГ, кількість лейкоцитів була меншою в 1,5 рази, у порівнянні зі щурами, лікованими ГА (9,31 проти 13,18 x 10⁹/л) та в 1,1 рази у порівнянні з тваринами на тлі дії диклофенаку натрію (10,24 x 10⁹/л). Що стосується показників ШОЕ, вони статистично достовірно не відрізнялись один від одного: 1-БИСГ (4,58 мм/год) ≥ диклофенак натрію (4,93 мм/год) > ГА (5,13 мм/год), але відрізнялися від показників ШОЕ щурів групи контрольної патології відповідно в 1,7, 1,6 та 1,5 рази, що свідчить про зниження вираженості системної запальної реакції на тлі лікування досліджуваними засобами. При лікуванні щурів речовиною 1-БИСГ спостерігалась виражена тенденція до нормалізації показників рівня С-реактивного білка (7,11 мг/л) з достовірним зниженням у 1,9 рази відносно групи контрольної патології. На тлі лікування щурів речовиною 1-БИСГ показники СК та ГП не відрізнялись від таких у групі інтактних тварин, але суттєво відрізнялись від показників групи контрольної патології – на 23% та 19,4%, що свідчить про протизапальну дію речовини 1-БИСГ при КІА.

За ступенем нормалізувального впливу на біохімічні маркери запалення речовина 1-БИСГ достовірно перевершила препарат порівняння ГА.

Таблиця 3

Порівняння клінічних, біохімічних і морфологічних показників речовини-лідера 1-БИСГ на моделі колаген-індукованого артриту на 28 день (n = 50; M±m)

Показники \ Дослідна група	Інтактний контроль (вихідні дані)	Контрольна патологія	1-БИСГ	Глюкозаміну сульфат	Диклофенак натрію
Набряк / гіперемія	–	+++ / +++	++ / +	+++ / ++	++ / +
Об'єм лапи щурів, см ³ / антиексудативна активність, %	–	0,83±0,03/–	0,54±0,02 / 42,1 %	0,61±0,02 / 35,5%	0,44±0,02 / 54,0 %
Лейкоцити (x 10 ⁹ /л)	10,04±0,33*	16,73±0,37	9,31±0,41	13,18±0,58	10,24±0,45
ШОЕ (мм/год)	4,22±0,31*	7,80±0,34	4,58±0,24	5,13±0,22	4,93±0,42
С-реактивний білок, мг/л	3,65±0,34*	20,19±0,65*	7,11±0,47	12,59±0,62	8,59±0,65
Сіалові кислоти, ммоль/л	3,35±0,32*	4,42±0,36	3,41±0,34	4,21±0,23	3,52±0,26
Глікопротеїни, г/л	2,85±0,15*	3,86±0,07*	3,11±0,11	3,58±0,16	3,20±0,10
% тварин, у яких виявлено: синовіт / гіперплазію синовіальної оболонки / деструкцію і дистрофію хряща / панус	0/0/0/0	50/70/70/70	0/20/0/40	30/70/0/30	30/20/0/0

Примітки:

1. + / ++ / +++ – слабка/ помірна / висока динаміка прояву;
2. * – достовірність по відношенню до диклофенаку натрію, p < 0,05;
3. n – загальна кількість тварин у досліді.

При лікуванні щурів 1-БИСГ вміст С-реактивного білка у щурів знижувався на 38 %, однак відрізнявся й від аналогічного показника групи інтактного контролю (в 3,7 рази). Спостерігалась тенденція до нормалізації показників СК та ГП у сироватці крові щурів. Однак ці зміни не мали статистичної достовірності у групі щурів, лікованих ГА, по відношенню до групи щурів контрольної патології (перевершили норму на 25 %).

При вивченні морфологічних показників (на 28 день КІА) у групі контрольної патології спостерігалась запальна реакція в синовії з вираженими проліферативними і деструктивно-дистрофічними процесами в хрящі і м'якотканинних структурах (рис. 2).

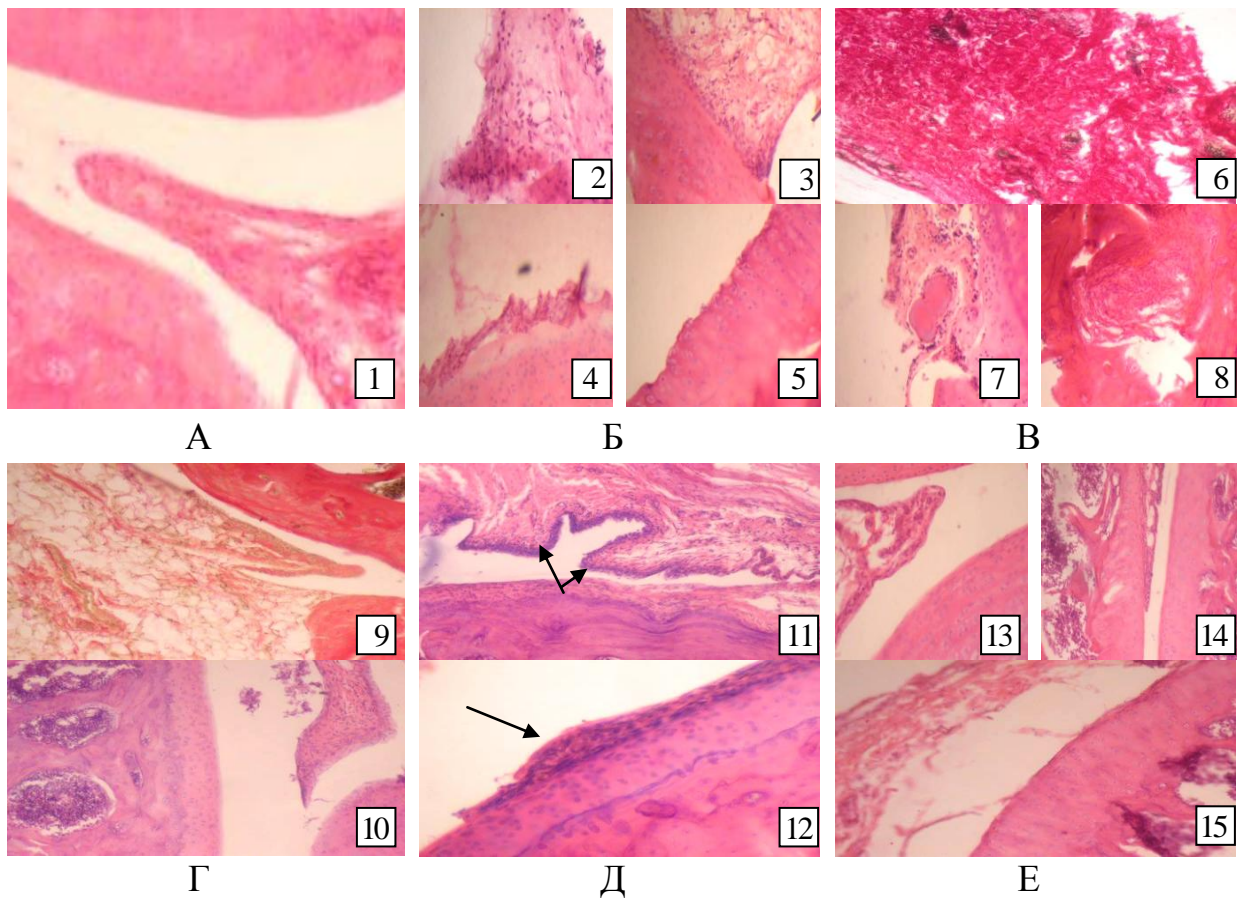


Рис. 2. А, 1 – нормальна синовіальна оболонка ареолярного типу. Б – на 14 добу з КІА: 2 – інфільтрація лейкоцитами, гіперплазія крайових синовіоцитів; 3 – щільне зрощення синовіальної оболонки із суглобовою поверхнею; 4 – початкові стадії формування пануса; 5 – нерівна роз'їдена поверхня хряща. В – на 28 добу з КІА: 6 – гіперплазія синовіальної оболонки; 7 – руйнація ділянки хряща; 8 – заміщення зруйнованої субхондріальної кістки сполучною тканиною. Г – з КІА під впливом 1-БИСГ на 28 добу: 9 – відсутність ознак гіперплазії синовія; 10 – нормальна будова хряща і синовіальної оболонки. Д – з КІА під впливом ГА на 28 добу: 11 – проліферація крайових синовіоцитів; 12 – панус наповзає на поверхню хряща. Е – з КІА під впливом диклофенаку натрію на 28 добу: 13 – помірна крайова гіперплазія синовіоцитів; 14 – панус наповзає на бічну поверхню хряща; 15 – незмінені синовіальна оболонка і хрящ. 1-5, 8, 10-15 – Гематоксилін-еозин.; 6, 9 – Пікрофуксин за Ван-Гізеном; 1, 9-15 – зб. 150; 2-7 – зб. 200.

При лікуванні речовиною 1-БИСГ у тварин з КІА хрящової деструкції виявлено не було: сам суглобовий хрящ звужений порівняно з інтактним контролем, але нормальної будови. У 80 % тварин синовіальні оболонки мають нормальну будову. У 40 % тварин спостерігались нашарування пануса на суглобовий хрящ. У щурів, лікованих ГА, зменшувалась деструкція суглобових тканин при КІА: деструкція та дистрофія хряща не спостерігаються, але сама хрящова тканина звужена, щільність розташування хрящових клітин мала тенденцію до підвищення. Гіперплазія покривних тканин хряща зі слабким проявом синовіту спостерігались у 70 % тварин, а продуктивний синовіт відмічено у 30 % тварин. У 2 рази по відношенню до групи контрольної патології знижувалась кількість випадків формування пануса, що контактує з хрящовою поверхнею (у 30 % щурів). При введенні тваринам диклофенаку натрію, як і при лікуванні 1-БИСГ, не спостерігалась розвиток деструктивно-дистрофічних процесів у хрящі. Відносно показників контрольної патології на 20 % збільшувалась щільність розташування клітинних елементів зі збільшенням товщини хряща (див. табл. 3). Ознаки запалення синовіальної оболонки були на рівні 20 %, а у 30 % тварин синовій формував вузький бічний панус, який щільно прилипав до хряща. У 30% тварин з КІА під впливом натрію диклофенаку відмічені залишкові запальні явища в періартикулярних тканинах: велика проліферація сполучної тканини в прилеглих м'язових волокнах, розширені судини.

Отже, комплекс одержаних результатів обґрунтовує перспективність сполуки 1-БИСГ як коректора запально-деструктивних захворювань суглобів з аутоімунним компонентом.

ВИСНОВКИ

Захворювання на остеоартрит є однією з розповсюджених причин інвалідності працездатного населення світу. Незважаючи на численні методи терапії остеоартриту, спрямовані на симптоматичне лікування запалення, недостатня увага приділяється поліпшенню метаболічних процесів суглобів. Відомо, що при тривалому застосуванні нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) спостерігається вплив на метаболізм ушкодженого хряща та здорового суглоба. Тому актуальним залишається пошук протизапальних препаратів з хондропротекторними властивостями.

У дисертації наведено теоретичне обґрунтування та вирішення наукового завдання, що полягає в експериментальному обґрунтуванні доцільності доклінічного дослідження речовини-лідера 1-БИСГ (D-(+)-глюкозиламонієва сіль 5-нітро-N-фенілантранілової кислоти) як перспективної сполуки при терапії запально-деструктивних захворювань суглобів, зокрема остеоартриту. Терапевтична дія досліджуваної речовини пов'язана з її протизапальними, хондропротекторними, жарознижувальними

та анальгетичними властивостями за рахунок наявності у хімічній структурі солі глюкозаміну та N-фенілантранілової кислоти.

1. За результатами скринінгу 19 уперше синтезованих солей у ряду нітрота оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот в еквімолекулярних дозах по відношенню до диклофенаку натрію ($ED_{50} = 8$ мг/кг) на моделі карагенінового запалення у мишей виділено три перспективні речовини 1-БИСГ; 2-БИСГ; 1353-СГС, які показали протизапальну активність на рівні 53,6, 57,4 та 33,7 % відповідно, та представляли інтерес для подальшого дослідження.
2. Оцінюючи залежність «структура – дія» перспективних речовин, слід зазначити, що їх активність залежить від природи замісника в структурі N-фенілантранілової кислоти. Найбільшу антиексудативну активність виявляють D-(+)-глюкозиламонієві солі, які містять в аніонній частині молекули в неантраніловому кільці метильну групу в 2'- та 3'-положеннях (1-БИСГ, 2-БИСГ). Також заміна оксамоїльного залишку на сукцинамідний приводить до підвищення антиексудативного ефекту (1353-СГС), але при введенні в ароматичне кільце ковалентнозв'язаного хлору у 4'-положення (1358-СГС) та метилоксаліламідного залишку в 3 положення антранілового фрагмента спостерігається пониження протизапальної дії.
3. За результатами вивчення гострої токсичності 1-БИСГ, 2-БИСГ та 1353-СГС при однократному внутрішньошлунковому введенні мишам і щурам та внутрішньочеревному введенні щурам встановлено, що LD_{50} перевищує 5000 мг/кг, що дозволяє віднести їх до VI класу токсичності (відносно нешкідливі речовини за класифікацією К. К. Сидорова (1977)).
4. Антиексудативна активність 1-БИСГ та 2-БИСГ перевищила за дією препарати порівняння глюкозаміну сульфат (1-БИСГ – на 23,0 %; 2-БИСГ – на 18,6 %) та 1-БИСГ мефенамову кислоту (на 9,4 %), поступившись активності диклофенаку натрію (54,8 %). За антиальтеративною активністю сполуки під шифром 1-БИСГ та 2-БИСГ були на рівні глюкозаміну сульфату (75 %), перевершивши диклофенак натрію на 44,8 % та 34,9 % відповідно. За антипроліферативною активністю три досліджувані речовини знаходяться на одному рівні (1-БИСГ – 18 %; 2-БИСГ – 13,7 %; 1353-СГС – 11,8 %), але поступаються індометацину (41,3 %), глюкозаміну сульфату (32,0 %) та диклофенаку натрію (21,7 %). За результатами вивчення антиексудативних, антиальтеративних та антипроліферативних властивостей виявлено посилення фармакологічних ефектів компонентів солі (D-(+)-глюкозамін та N-фенілантранілова кислоти).
5. Сполуки 1-БИСГ та 2-БИСГ виявляють анальгетичну активність на рівні мефенамової кислоти (39,1 % та 38,4 % відповідно), а речовина 1353-СГС – на рівні глюкозаміну сульфату, невірогідно перевищуючи активність диклофенаку натрію та метамізолу натрію. За жарознижувальною активністю перспективні речовини невірогідно поступаються диклофенаку натрію.
6. На моделі колаген-індукованого артриту у щурів підтверджена протизапальна та хондропротекторна дія 1-БИСГ. За нормалізуючою дією

1-БИСГ невірогідно знаходиться на рівні диклофенаку натрію та переважає глюкозаміну сульфат: за нормалізацією кількості лейкоцитів (на 23,2%), вмісту С-реактивного білка (на 27,2 %), сіалових кислот (на 18,1 %), глікопротеїнів (на 12,1 %). Морфологічними дослідженнями підтверджено протизапальну (зниження виразності синовіту) та хондропротекторну дію 1-БИСГ, що доведено позитивним впливом на морфометричні показники стану суглобового хряща тварин.

7. Проведене дослідження є експериментальним обґрунтуванням перспективності та доцільності подальшого поглибленого вивчення сполуки 1-БИСГ з метою розробки на його основі нового НПЗП з хондропротекторними властивостями.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Пошук протизапальних речовин серед D-(+)-глюкозиламонієвих солей заміщених 5-нітро-N-фенілантранілових кислот / М. В. Зупанець, С. М. Дроговоз, С. Г. Ісаєв, М. М. Сулейман // Клінічна фармація. – 2013. – Т. 17, № 2. – С. 52-55. *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).*
2. Дроговоз С. М. Перспективы создания противовоспалительных средств на основе D-(+)-глюкозиламониевых солей 3-оксамоилзамещенных N-фенилантраниловых кислот и экстракта листьев рябины обыкновенной / С. М. Дроговоз, М. В. Зупанец, А. В. Кононенко // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2013. – № 2 (3). – С. 64–67. *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).*
3. Синтез та фармакологічна активність D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот / М. В. Зупанець, С. М. Дроговоз, С. Г. Ісаєв, М. М. Сулейман // Клінічна фармація. – 2013. – Т. 17, № 3. – С. 38-41. *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).*
4. Синтез та фармакологічна активність D-(+)-глюкозиламонієвих солей та D-(+)-глюкозиламідів 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот / М. В. Зупанець, С. М. Дроговоз, С. Г. Ісаєв, А. О. Девяткіна // Український біофармацевтичний журнал. – 2014. – № 2 (31). – С. 20–23. *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).*
5. Изучение противовоспалительной активности фармакологических средств природного происхождения / С. Ю. Штрыголь, С. М. Дроговоз, М. В. Зупанец, А. В. Кононенко // Вестник фармации. – 2014. – № 2 (64). – С. 89–93. *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).*
6. Дроговоз С. М. Изучение антиартритной активности производных солей глюкозамина N-фенилантраниловых кислот / С. М. Дроговоз,

- М. В. Зупанец // Врач-аспірант. – 2014. – № 4 (65). – С. 31–35. (*Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів*).
7. Патент 92679 України на корисну модель, МПК А61К 31/196, С07С 229/58, А61Р 29/00. D-(+)-глюкозиламонієва сіль 5-нітро-N-фенілантранілова кислота, що проявляє анальгетичну активність / Зупанець М. В., Дроговоз С. М., Ісаєв С. Г., Девяткіна А. О.; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – заявл. 07.04.2014; опубл. 26.08.2014, бюл. № 16, 2 с. (*Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів*).
 8. Фармакологічна активність похідних D-(+)-глюкозиламонієвих солей 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот та похідних D-(+)-глюкозиламідів 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот / М. В. Зупанець, С. М. Дроговоз, С. К. Шебеко, Р. В. Деркач // Клінічна фармація: 20 років в Україні : Матеріали Національного конгресу, м. Харків, 21-22 березня 2013 р. – Х., 2013. – С. 115-116.
 9. Zupanets M.V. Investigation of Pharmacological properties of derivatives of D-(+)-glucosylammonium salt of N-Phenylantranilic acid / M. V. Zupanets, O. V. Mayboroda, S. M. Drogovoz // Actual questions of development of new drugs – Kharkov, 2013 – P. 182.
 10. Зупанець М. В. Пошук безпечних НПЗП у ряду похідних 5-нітро-N-фенілантранілових кислот / М. В. Зупанець, С. М. Дроговоз // Медичні та фармацевтичні науки: історія, сучасний стан та перспективи досліджень: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, м. Одеса, 17-18 жовтня 2014 р. – Одеса, 2014. – С. 18–20.
 11. Дроговоз С. М. Фармакоэкономические перспективы нового противовоспалительного вещества 1-БИСГ / С. М. Дроговоз, М. В. Зупанець // Фармакоэкономика в Україні: стан та перспективи розвитку: Матеріали VII наук. - практич. Internet-конф., м. Харків, 20 листоп. 2014 р. – Х. 2014. – С. 6–7.
 12. Пошук природних НПЗП на основі комбінації солей глюкозаміну та N-фенілантранілових кислот / М. В. Зупанець, С. М. Дроговоз, С. Г. Ісаєв, А. О. Девяткіна // Інформаційний лист № 88/1-2014. – Укрмедпатентінформ МОЗ України. – Випуск № 5 з проблеми «Фармації». – К., 2014. – 4 с. (*Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів*).

АНОТАЦІЯ

Зупанець М. В. Пошук нових протизапальних препаратів в ряду нітро- та оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2015.

У ході скринінгових досліджень 19 уперше синтезованих сполук виділено три перспективні речовини під шифрами 1-БИСГ, 2-БИСГ та 1353-СГС, які виявили виражену антиексудативну активність, перевершуючи за активністю мефенамову кислоту та глюкозаміну сульфат. Результати вивчення гострої токсичності перспективних речовин за методом Т. В. Пастушенко і спіавт. (1985) дозволили зробити висновок, що перспективні речовини можуть бути віднесені до VI класу токсичності – відносно нешкідливі речовини, що підтверджує їх перспективність та безпечність як НПЗП. Встановлено, що речовини 1-БИСГ, 2-БИСГ та 1353-СГС виявляють антиексудативну, антиальтеративну, антипроліферативну, жарознижувальну та помірну анальгетичну активність. За результатами другого етапу дослідження визначено речовину-лідер під шифром 1-БИСГ. При поглибленому вивченні протизапальних властивостей речовини 1-БИСГ в умовах розвитку колаген-індукованого артриту у щурів встановлено, що 1-БИСГ чинить значну нормалізуючу дію на клінічні, біохімічні та морфологічні показники запалення.

Отже, проведені дослідження експериментально підтверджують перспективність створення препарату з протизапальною та хондропротекторною дією на основі речовини 1-БИСГ для використання в моно- та комплексній терапії хронічних запальних захворювань суглобів.

Ключові слова: фармакологічне дослідження, запалення, ексудація, альтерація, проліферація.

АННОТАЦИЯ

Зупанец М. В. Поиск новых противовоспалительных препаратов в ряду нитро- и оксамоилзамещенных N-фенилантраниловых кислот. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2015.

Диссертационное исследование посвящено поиску новых фармацевтических субстанций в ряду нитро- и оксамоилзамещенных N-фенилантраниловых кислот, сочетающих в себе противовоспалительные и хондропротекторные свойства.

В ходе скрининговых исследований 19 впервые синтезированных соединений выделены три перспективные вещества под шифрами 1-БИСГ, 2-БИСГ и 1353-СГС, которые проявили выраженную антиэкссудативную активность, превосходя по действию мефенамовую кислоту и глюкозамина сульфат. Результаты проведенных исследований по изучению острой токсичности перспективных веществ по методу Т. В. Пастушенко и соавт. (1985) позволяют сделать вывод, что вещества 1-БИСГ, 2-БИСГ и 1353-СГС могут быть отнесены к VI классу токсичности - относительно безвредные вещества. Это подтверждает их перспективность и безопасность как потенциальных НПВС.

Сравнивая зависимость «структура – действие» перспективных веществ (1-БИСГ, 2-БИСГ и 1353-СГС), следует отметить, что их активность зависит от природы заместителя в структуре N-фенилантраниловой кислоты. Наибольшая противовоспалительная активность наблюдается у D-(+)-глюкозиламмониевых солей, содержащих в анионной части молекулы в неантраниловом кольце метильную группу во 2'- и 3'-положениях (1-БИСГ, 2-БИСГ). Также замена оксамоильного остатка на сукцинамидный приводит к повышению антиэкссудативного эффекта (1353-СГС), но при введении в ароматическое кольцо ковалентносвязанного хлора в 4'-положение (1358-СГС) и метилоксалиламидного остатка в 3-положение антранилового фрагмента наблюдается снижение противовоспалительного действия.

Установлено, что вещества 1-БИСГ, 2-БИСГ и 1353-СГС проявляют антиэкссудативную, антиальтеративную, антипролиферативную, жаропонижающую и умеренную анальгетическую активность.

Достоверно не отличались от показателей ГА по антиальтеративной активности перспективные вещества 1-БИСГ (72,0 %) и 2-БИСГ (62,1 %). Но вещество 1353-СГС проявило слабую антиальтеративную активность (14,8 %). Наивысшую антипролиферативную активность среди перспективных веществ проявило соединение 1-БИСГ (18 %), а вещества 2-БИСГ и 1353-СГС проявили лишь тенденцию к этой активности (13,7 % и 11,8 % соответственно).

Вещество 1-БИСГ проявило жаропонижающую активность среди исследуемых перспективных веществ на уровне диклофенака натрия. Наименьшую жаропонижающую активность по разнице температур по отношению к исходным данным, значительно уступая препаратам сравнения, имело соединение 2-БИСГ. Соединения 1-БИСГ и 2-БИСГ проявили анальгезирующую активность на уровне 39,1 % и 38,4 % соответственно, что тождественно активности мефенамовой кислоты.

По результатам второго этапа исследования определено вещество-лидер под шифром 1-БИСГ, которое является наиболее перспективным для дальнейшего исследования, поскольку превзошло по антиэкссудативной активности мефенамовую кислоту; по антиальтеративной активности соответствует глюкозамину сульфату; по антипролиферативной и жаропонижающей – диклофенаку натрия; по анальгетической – мефенамовой кислоте.

При углубленном изучении противовоспалительных свойств вещества 1-БИСГ в условиях развития коллаген-индуцированного артрита у крыс установлено, что 1-БИСГ, как и диклофенак натрия, оказывал значительное нормализующее действие на клинические, биохимические и морфологические показатели воспаления: на лейкоциты, СОЭ, сиаловые кислоты, гликопротеины. При применении 1-БИСГ отсутствовала деструкция хряща, гиперплазия покровных тканей выражена слабо, наблюдались остаточные явления в синовиальных оболочках.

Таким образом, проведенные исследования экспериментально подтверждают перспективность создания препарата с противовоспалительным и хондропротекторным действием на основе вещества 1-БИСГ для использования в моно- и комплексной терапии хронических воспалительных заболеваний суставов.

Ключевые слова: фармакологическое исследование, воспаление, экссудация, альтерация, пролиферация.

SUMMARY

Zupanets M.V. Search for new anti-inflammatory drugs in a series of nitro and oksamoil substituted N- phenylanthranilics acids. – The manuscript.

Thesis for the degree of candidate of pharmaceutical sciences in specialty 14.03.05 - pharmacology. - National University of Pharmacy of the Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2015.

Three promising substances under the designation 1-BYSG, 2-BYSG and 1353-SGS, which showed pronounced antiexudative activity exceeding the activity of mefenamic acid and glucosamine sulfate, were identified during the screening studies of 19 first synthesized compounds. The results of the acute toxicity study of the promising substances by the method of T.V. Pastushenko et al. (1985) led to the conclusion that these substances may be assigned to VI class of toxicity - relatively harmless substances, which confirms their feasibility and safety as NSAIDs. It was established that substances 1-BYSG, 2-BYSG and 1353-SGS show antiexudative, antialterative, antiproliferative, antipyretic and moderate analgesic activity. According to the results of the second stage of the study the substance-leader under the designation 1-BYSG was identified.

In a detailed study of the anti-inflammatory properties of the substance 1-BYSG in the development of collagen-induced arthritis in rats it was found that 1-BYSG has a significant normalizing effect on the clinical, biochemical and morphological indicators of inflammation.

Therefore, the studies experimentally confirmed that development of the drug based on the substance 1-BYSG with anti-inflammatory and chondroprotective effect for the use in mono and complex therapy of chronic inflammatory joint disease is promising.

Key words: pharmacological research, inflammation, exudation, alteration, proliferation.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ГА	–	глюкозамін;
ГАГ	–	глікозаміноглікани;
ГП	–	глікопротеїни;
ДЕЦ	–	Державний експертний центр;
ЕД ₅₀	–	середньоефективна доза;
ІК	–	інтактний контроль;
КП	–	контрольна патологія;
ЛД ₅₀	–	середньосмертельна доза;
МПД	–	мінімальна пірогена доза;
НПЗП	–	нестероїдні протизапальні препарати;
ПГ	–	простагландини;
СК	–	сіалові кислоти;
ЦНДЛ	–	Центральна науково-дослідна лабораторія;
ЦОГ	–	циклооксигеназа;
ШКТ	–	шлунково-кишковий тракт;
ШОЕ	–	швидкість осідання еритроцитів;
N -ФАК	–	N-фенілантранілова кислота.