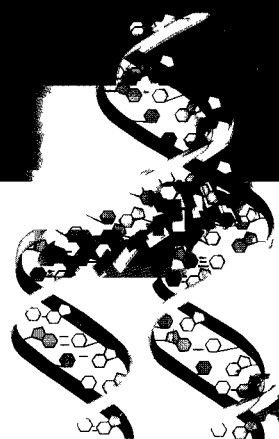


# МЕДИЧНА ХІМІЯ

Medical Chemistry

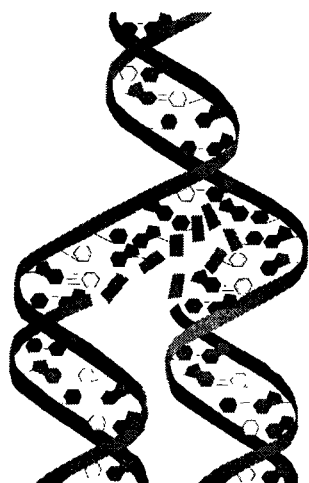


**1** TOM 6  
2004

Академія медичних наук України  
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського  
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця  
Українська Академія наук національного прогресу

# МЕДИЧНА ХІМІЯ

**НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ**



*Academy of Medical Sciences of Ukraine  
Ternopil State Medical Academy by I.Ya. Horbachevsky  
National Medical University by O.O. Bogomolets  
Ukrainian Academy of Sciences of National Progress*

# MEDICAL CHEMISTRY

**SCIENTIFIC JOURNAL**

**1** TOM 6  
2004

## ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 2-(4-КАРБОМОІЛФЕНІЛІМІНО)-2Н-ХРОМЕН-3-КАРБОКСАМІДІВ

С.В. Русанова, Л.В. Яковлева, О.М. Шаповал, С.М. Коваленко  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ, ХАРКІВ

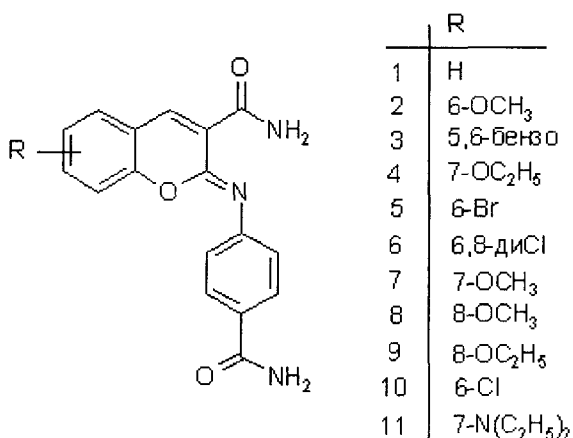
Здійснено синтез 11-ти нових похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів, проведено аналіз їх фізико-хімічних властивостей, вивчено біологічну активність. Структуру одержаних сполук підтверджено результатами спектральних досліджень (ІЧ-, ПМР-спектроскопії).

Встановлено, що синтезовані речовини є нетоксичними та проявляють гепатотропну, анальгезивну й антиексудативну активність. Найбільш перспективним для подальших досліджень виявився (3z)-3{[4-(амінокарбоніл)феніл]іміно}-3Н-бензо[f]хромено-2-карбоксамід.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксаміди, фармакологічний скринінг, біологічно активні речовини.

ВСТУП. 2Н-хромен-2-іміни (2Н-1-бензопіран-2-іміни, 2-імінокумарини, 2-кумариніміни) відносять до важливого, у практичному відношенні, класу гетероциклічних сполук – кумаринів, які широко використовуються як лікарські субстанції, зооциди, біологічні маркери.

З метою пошуку нових біологічно активних речовин здійснено синтез похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів, які було представлено для проведення фармакологічного скринінгу:



МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Похідні 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів було синтезовано на кафедрі органічної хімії

© С.В. Русанова, Л.В. Яковлева – д.фарм.н., проф., О.М. Шаповал – к.біол.н., С.М. Коваленко – д.хім.н., проф., 2004.

Національного фармацевтичного університету України шляхом взаємодії відповідних 2-іміно-2Н-хромен-3-карбоксамідів з 4-амінобензамідом у середовищі льодяної оцтової кислоти [2, 3]. Будову синтезованих сполук доведено методами ІЧ- та ПМР-спектроскопії.

Для скринінгу фармакологічних досліджень вивчали гостру токсичність, гепатотропну, анальгетичну та протизапальну дії.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. 1. Вивчення гострої токсичності похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів

З метою відтворення клініки гострого отруєння та для виявлення середньосмертельних доз (ЛД<sub>50</sub>) гостру токсичність 11-ти похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів вивчали з використанням експрес-методу [7] та методу найменших квадратів [8] на білих мишах масою 18-20 г при одноразовому внутрішньошлунковому (пероральному) введенні. Результати проведених досліджень показали, що під впливом 11-ти речовин всі тварини залишилися живими, ознак інтоксикації в них не спостерігалось (миші були жвавими та охайними) навіть при введенні максимальної дози (15000 мг/кг).

Згідно із загальноприйнятою класифікацією К.К. Сидорова [9], похідні 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів належать до класу відносно нешкідливих речовин

(LD<sub>50</sub> > 15000 мг/кг), тому що їх LD<sub>50</sub> при пероральному введенні значно перевищують 15000 мг/кг.

**2. Вивчення гепатотропної дії похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів**

Враховуючи хімічну структуру похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів, було доцільним вивчити їх вплив на стан печінки та процеси ПОЛ у органі при гострому токсичному гепатиті, викликаному тетрахлоретаном.

В експерименті використовували білих мишей масою 25-30 г. Після попереднього 24-годинного голодування без обмеження вживання води дослідним тваринам у лікувально-профілактичному режимі (до та після введення гепатотоксину) вводили перорально вищевказані похідні 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів у дозі 1 мг/кг, контрольним – еквівалентну кількість води. 50 % масляний розчин тетрахлоретану вводили дослідним та контрольним мишам перорально з розрахунку 0,1 мл на 10 г маси тіла. На 3-ю добу вираховували відсоток тварин, які вижили, виводили їх з досліду за допомогою дислокації шийних хребців, забирали печінку та визначали її масу, що дозволило розрахувати ваговий коефіцієнт печінки (ВКП). Останній характеризує загальнотрофічний та функціональний стан органа. Інтенсивність процесів ПОЛ та стан антиоксидної системи печінки оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) [10] та відновленого глутатіону (G-SH) у гомогенаті печінки дослідних груп тварин порівняно з групами інтактного контролю та контрольної

патології. Результати дослідження наведено у таблиці 1.

3 групи похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів сполуки 1, 8 виявляють гепатотоксичні властивості. Сполуки 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10 також мають гепатотоксичні властивості. Також ці сполуки не нормалізують процеси ПОЛ та АОС організму тварин, тому що рівень G-SH та МДА у групах тварин, які одержували речовини 2, 4, 5, 9, 11, відповідає такому у групі контрольної патології. Детоксикуючі та гепатопротекторні властивості, на наш погляд, виявляють речовини 3 та 11. Під впливом сполуки 3 100 % мишей у групі вижили, знизився ВКП та відновилися до рівня інтактного контролю показники G-SH та МДА у гомогенаті печінки. Речовина 11 сприяла збільшенню до 80 % кількості тварин, які вижили, зниженню вмісту МДА та підвищенню вмісту G-SH до рівня таких показників у групі інтактного контролю.

Таким чином, нами встановлено, що гепатопротекторною активністю володіють речовини 3 та 11. Вони сприяють інгібуванню процесів ПОЛ, про що свідчить зниження рівня МДА, та відновленню функціонального стану антиоксидної системи організму тварин, на що вказує підвищення рівня G-SH у гомогенаті печінки.

**3. Вивчення анагетичної активності похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів**

Вплив сполук на периферичну ноцицептивну систему вивчали на моделі оцтовокислих корчів у щурів [6]. У експерименті використовували статевозрілих щурів обох статей масою 180-200 г по 5 тварин у групі. Досліджували

Таблиця 1 – Вплив похідних на перебіг токсичного гепатиту в мишей, викликаного тетрахлорметаном

Умови досліду	Доза, мг/кг	Кількість тварин у групі	% мишей, які вижили	Ваговий коефіцієнт печінки	G-SH, мг%	МДА, мкмоль/г
Інтактний контроль	—	7	100	6,69±0,22	101,59±3,97	46,58±7,84
Контрольна патологія	—	7	62,5	8,12±0,82*	64,27±823,0*	83,59±13,02*
сполука 1	1,0	7	0	—	—	—
сполука 2	1,0	7	51,74	7,58±0,28*	67,28±16,28*	86,22±8,82
сполука 3	1,0	7	100	7,58±0,28*	83,31±18,40	58,46±15,79
сполука 4	1,0	7	71	8,02±0,47	104,87±15,99	94,61±16,10
сполука 5	1,0	7	50	8,45±0,71	110,13±11,18	79,92±20,23
сполука 6	1,0	7	83,3	7,43±0,64	82,27±14,18	92,82±13,74
сполука 7	1,0	7	83,3	7,89±0,52	95,73±16,96	78,72±9,33
сполука 8	1,0	7	0	—	—	—
сполука 9	1,0	7	66,7	8,05±0,49	70,84±16,14	55,13±20,07
сполука 10	1,0	7	60	7,71±0,68	106,72±20,29	79,49±11,11
сполука 11	1,0	7	80	6,35±0,53	83,97±12,86	39,10±8,97

Примітка \* – відхилення показника достовірно відносно групи інтактного контролю (p≤0,05); \*\* – відхилення показника достовірно відносно групи контрольної патології (p≤0,05)

речовини та препарат порівняння вольтарен вводили перорально у дозах, які було обрано згідно з Методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗУ [6], з метою визначення  $ED_{50}$  на цій моделі. Величини  $ED_{50}$  розраховували із застосуванням методу найменших квадратів [4, 11].

Аналгетичну активність досліджуваних сполук оцінювали за їх здатністю зменшувати кількість корчів у дослідній групі щурів порівняно з контрольною і виражали у відсотках.

Результати експерименту наведено у таблиці 2.

Порівняльний аналіз аналгетичного ефекту в ряді похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів та препарату порівняння показав, що найбільшу ефективність з них має речовина 3 – (3z)-3{[4-(амінокар-

боніл)феніл] іміно}-3Н-бензо[f]хромено-2-карбоксамід, її  $ED_{50}$  дорівнює 0,58 мг/кг та переважає  $ED_{50}$  інших сполук у 1,2-4,4 раза, препарат порівняння вольтарен (5 мг/кг) – у 8,6 раза. Сполуки 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 за величиною  $ED_{50}$  мають перевагу над вольтареном у 2-7,6 раза.

Відомо, що введення оцтової кислоти викликає хімічне больове подразнення [4, 11] та сприяє загальній активації ноцицептивної системи і визволенню медіаторів болю брадікініну, гістаміну, серотоніну і простагландинів. Враховуючи це та результати наших досліджень, можна припустити, що майже усі похідні 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів пригнічують синтез та виділення вищеназваних медіаторів болю, які є і медіаторами запалення.

Таблиця 2 – Вивчення аналгетичної активності похідних на моделі оцтовокислих корчів у щурів та антиексудативної дії похідних АСК на моделі карагенінового набряку стопи у щурів

№ за/п	Сполука	Аналгетична активність			Антиексудативна дія	
		Доза, мг/кг	Аналгетична активність, %	$ED_{50}$ , мг/кг	Доза, мг/кг	Антиексудативна дія, % (середня за 5 год)
1	1		80,66±7,51	0,65	0,65	16,44±20,59
		5,0	43,08±17,82			
		10,0	28,60±14,32			
2	2	1,0	66,30±6,67	1,45	—	—
		5,0	54,92±2,13			
		10,0	48,83±0,83			
3	3	1,0	85,66±3,94	0,58	0,58	45,35±6,35
		5,0	44,02±7,33			
		10,0	24,34±13,85			
4	4	1,0	53,49±14,03	1,25	1,25	26,87±12,11
		5,0	37,99±23,26			
		10,0	85,26±6,64			
5	5	1,0	35,07±7,98	—	—	—
		5,0	48,06±1,97			
		10,0	-70,52±22,79			
6	6	1,0	22,51±4,89	1,73	1,73	4,17±10,99
		5,0	38,96±12,09			
		10,0	86,02±3,15			
7	7	1,0	25,94±6,78	1,35	1,35	11,74±15,45
		5,0	74,82±12,05			
		10,0	52,65±3,93			
8	8	1,0	33,59±6,45	1,15	1,15	-20,88±14,79
		5,0	72,52±3,89			
		10,0	51,90±5,05			
9	9	1,0	83,96±1,44	0,75	0,75	-13,69±19,18
		5,0	12,21±4,40			
		10,0	32,24±10,94			
10	10	1,0	15,07±6,85	2,55	2,55	-25,32±19,24
		5,0	64,88±6,98			
		10,0	69,46±2,71			
11	11	1,0	50,38±3,62	1,30	1,30	28,13±10,07
		5,0	40,46±12,58			
		10,0	82,44±2,39			
12	Вольтарен	1,0	14,10±2,46	5,00 (3,00±8,00)	8,00	58,00±5,33
		5,0	42,20±3,21			
		10,0	70,40±8,06			

#### 4. Вивчення антиексудативної дії 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів

Антиексудативні властивості найбільш ефективних похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів 1, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 та препарату порівняння вивчали на моделі карагенінового набряку стопи у білих щурів масою 180-200 г [5]. Про розвиток набряку судили за збільшенням об'єму стопи, який вимірювали в динаміці через 1, 2, 3, 4 і 5 год за допомогою механічного онкометра за А.С. Захаревським [1]. Антиексудативну активність речовин виражали у відсотках і визначали за здатністю їх зменшувати набряки у дослідних тварин порівняно з контрольними.

Результати проведеного дослідження (табл. 2) свідчать про наявність у деяких похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів різної за ступенем вираження антиексудативної дії. Виражену антиексудативну дію, яка все ж таки поступається такій препарату порівняння вольтарену (в дозі 8 мг/кг – 58 %), виявив (3z)-3{[4-(амінокарбоніл)феніл]іміно}-3Н-бензо[f]хромено-2-карбоксамід (3) у дозі 0,58 мг/кг ( $ED_{50}$  за ана-

гетичною активністю) – 45,35 %. Похідним 1, 6, 7, 8, 9, 10 у дозах  $ED_{50}$ , які визначено при вивченні аналгетичної дії, властива проексудативна активність, про що свідчить значне (до 25 %) збільшення набряку стопи порівняно з контрольними тваринами. Також одержані дані дозволяють зробити припущення, що ці речовини не впливають на периферичний компонент ноцицептивної системи, а механізм їх аналгетичної дії опосередковується впливом на центральну ноцицептивну систему.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що з ряду похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів за антиексудативною дією виділяється речовина 3 – (3z)-3{[4-(амінокарбоніл)феніл]іміно}-3Н-бензо[f]хромено-2-карбоксамід.

**ВИСНОВОК.** За результатами проведеного фармакологічного скринінгу 11-ти похідних 2-(4-карбомоїлфеніліміно)-2Н-хромен-3-карбоксамідів встановлено, що перспективною для подальшого вивчення є сполука 3 – (3z)-3{[4-(амінокарбоніл)феніл]іміно}-3Н-бензо[f]хромено-2-карбоксамід.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Захаревский А.С. Влияние некоторых производных индола на нервную систему: Дис. ... канд. мед. наук. – Минск, 1962. – С. 78-80.
2. Зубков В.А., Коваленко С.Н., Черных В.П., Ивков С.М. Новые производные кумарина: 2-(N-R-имино)-2Н-1-бензопираны // ХГС. – 1994. – № 6. – С. 760-766.
3. Коваленко С.М., Черних В.П., Карасьов О.О. та ін. Взаємодія 2-імінокумаринів з N-нуклеофільними реагентами // Фізіологічно активні речовини. – 2002. – № 1 (33). – С. 14-25.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
5. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ, предлагаемых в качестве нестероидных противовоспалительных средств. – К.: ФК МЗ Украины, 1994. – 40 с.
6. Мохорт М.А., Яковлева Л.В., Шаповал О.М. Пошук та експериментальне вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як ненаркотичні аналгетики // Методичні рекомендації. – К.: ДФЦ

МОЗ України, 2000. – 23 с.

7. Пастушенко Т.В., Маруший Л.Б., Жуков А.А. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ // Гигиена и санитария. – 1985. – № 6. – С. 46-49.
8. Прозоровский В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности // Фармакол. и токсикол. – 1962. – № 1. – С. 115-119.
9. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. – М., 1973. – Вып. 13. – С. 47-57.
10. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Соврем. методы в биохимии. – М., 1977. – С. 66-67.
11. Хаджай Я.И. О графическом способе определения эффективной дозы и её доверительных границ при учете реакций в градуированной форме // Фармакол. и токсикол. – 1968. – № 1. – С. 118-123.

## ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 2-(4-КАРБОМОИЛФЕНИЛИМИНО)-2Н-ХРОМЕН-3-КАРБОКСАМИДОВ

С.В. Русанова, Л.В. Яковлева, О.Н. Шаповал, С.Н. Коваленко  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ

### Резюме

Осуществлен синтез 11-ти новых производных 2-(4-карбомойлфенилимино)-2Н-хромен-3-карбоксамидов, проведен анализ их физико-химических свойств, изучена биологическая активность. Структура полученных соединений подтверждена результатами спектральных исследований (ИК-, ПМР-спектроскопии).

Установлено, что синтезированные вещества являются нетоксичными, проявляют гепатотропную, анальгезирующую и антиэкссудативную активность. Наиболее перспективным для дальнейших исследований оказался (3z)-3{[4-(аминокарбонил)фенил]имино}-3Н-бензо[f]хромено-2-карбоксамид.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: 2-(4-карбомойлфенилимино)-2Н-хромен-3-карбоксамиды, фармакологический скрининг, биологически активные вещества.

## BIOLOGICAL ACTIVITY OF DERIVATIVES OF 2-(4-CARBOMOYLPHENYLIMINO)- 2H-CHROMENE-3-CARBOXAMIDES

S.V. Rusanova, L.V. Yakovleva, O.M. Shapoval, S.M. Kovalenko  
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY UKRAINE, KHARKIV

### Summary

The synthesis of 11 new derivatives of 2-(4-carbomoylphenylimino)-2H-chromene-3-carboxamides is carried out, the analysis of their physical and their chemical properties is conducted, and biological activity is studied. The structure of the synthesized substances is confirmed by data of spectral researches (IR-, PMR-spectroscopy).

It is set, that the synthesized compounds are un toxic, show hepatotropic, analgetic activity and have antiexudative effect. The most perspective for further researches is the substance (3z)-3{[4-(aminocarbonyl)phenylimino]-3H-benzof]chromeno-2-carboxamide.

KEYWORDS: 2-(4-carbomoylphenylimino)-2H-chromene-3-carboxamides, pharmacological screening, biologically active substances.

Отримано 03.10.2003 р.

Адреса для листування: С.В. Русанова, вул. Блюхера, 21-Б, кв. 144, Харків, 61146, Україна.