

его наносомальных лекарственных форм / И.Д. Трещалин, Э.Р. Переверзева, Д.А. Бодягин и др. // Российский биотерапевтический журнал. — 2008. — Т. 7, № 3. — С. 24-33.

- Туляков В.О. Протекторні властивості глюкозаміну / В.О. Туляков, К.О. Зупанець, С.К. Шебеко // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2009. — № 3. — С. 3-9.
- Влияние глюконата кальция на токсичность и противоопухолевую активность доксорубина у мышей / Т.А. Богуш, Г.Б. Смирнова, Н.О. Вихлянцева, А.Б. Сыркин // Антибиотики и химиотерапия. — 1999. — Т. 44, № 1. — С. 6-10.

- Семенов А.Н. Изучение кардиопротекторных свойств нестероидных противовоспалительных средств в ряду производных D-(+)-глюкозамина : дис. ... канд. мед. наук / Семенов Андрей Николаевич. — Купавна, 2001. — 198 с.

УДК 547.455.623'233.1: [615.277.3 + 615.099.092]

И. А. Зупанец, Е. В. Ветрова, Т. С. Сахарова, Э. Л. Торьяник

Национальный фармацевтический университет

ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО АНТИБИОТИКА ДОКСОРУБИЦИНА ПРОИЗВОДНЫМИ ГЛЮКОЗАМИНА И ИХ КОМБИНАЦИЯМИ

В эксперименте на мышах исследована эффективность производных глюкозамина и их комбинаций при доксорубициновой интоксикации. Установлено, что на фоне лечебного применения исследуемые соединения существенно снижают проявления общетоксического действия доксорубина, увеличивают продолжительность жизни у лабораторных животных при моделируемой патологии и повышают их выживаемость. Выбраны наиболее эффективные объекты — глюкозамина гидрохлорид (в условно-терапевтической дозе 50 мг/кг) и комбинация глюкозамина гидрохлорида, N-ацетилглюкозамина с кверцетином (в дозе 82 мг/кг) — как перспективные корректоры токсических эффектов антрациклиновых противоопухолевых антибиотиков.

Ключевые слова: доксорубин, цитотоксичность, глюкозамин, кверцетин, производные глюкозамина, цитопротекторное действие

UDC 547.455.623'233.1: [615.277.3 + 615.099.092]

I. A. Zupanets, K. V. Vetrova, T. S. Sakharova, E. L. Toryanik

National University of Pharmacy

PROSPECTS USE OF GLUCOSAMINE'S DERIVATIVES AND ITS COMPOSITIONS FOR CORRECTION OF TOXICITY OF ANTICANCER THERAPY

The efficiency of glucosamine's derivatives and its compositions was investigated with doxorubicin toxicity in the experiment on the mice. Found that in the context of therapeutic use the test compounds reduce of the systemic toxicity of doxorubicin, increase lifespan in laboratory animals with modeled pathology and increase their survival. The most efficient facilities — glucosamine hydrochloride (conventionally in the therapeutic dose of 50 mg / kg) and the combination of glucosamine hydrochloride, N-acetylglucosamine and quercetin (at a dose of 82 mg / kg) — were selected as a prospective correctors of toxic effects of anthracycline antitumor antibiotics.

Key words: doxorubicin, cytotoxicity, glucosamine, quercetin, glucosamine's derivatives, cytoprotective effect

Адреса для листування:

61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 27,
кафедра клінічної фармакології та клінічної
фармації
тел.: 057-706-30-72

Надійшла до редакції:

21.06.2013 р.

УДК 661.12.091.547

С. М. Коваленко, С. В. Власов, О. В. Ткаченко, Л. В. Євсєєва, А. Л. Загайко, О. А. КРАСІЛЬНИКОВА

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ JNK-КІНАЗНОЇ АКТИВНОСТІ N-(3-ЦІАНО-4,5,6,7-ТЕТРАГІДРО-1-БЕНЗОТІЄНІЛ-2-ІЛ)БЕНЗАМІДІВ

З метою дослідження JNK-кіназної активності структурних аналогів відомого інгібітору с-JNK-кінази (N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)-1-нафтамід), шляхом ацилювання 2-аміно-3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-бензотіофену хлорангідрідами бензойних кислот в сухому 1,4-діоксані були отримані заміщені N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензаміди з фіксованою тіофеновою частиною молекули та набором різноманітних замісників в залишку бензойної кислоти. Структура отриманих N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензамідів підтверджена даними ПМР-спектроскопії. Отримані результати свідчать про те, що N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензаміди впливають на активність аланінамінотрансферази (АЛТ) у ізольованих гепатоцитах, проте суттєво не змінюють вміст триацилгліцеринів у печінці щурів, а також не впливають на рівень глюкози та активність АЛТ в сироватці крові тварин в умовах *in vivo*. Досліджувані речовини знижували вміст ТБК-реактивних продуктів у тварин з експериментальним цукровим діабетом 2-го типу.

Ключові слова: інгібітори JNK-кіназ, N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл) бензаміди, аланінамінотрансфераза, триацилгліцерини, цукровий діабет 2-го типу.

Останніми роками отримані експериментальні докази, що підтверджують наявність тісного зв'язку між активацією JNK або с-Jun N-кінцевої кінази та розвитком таких патологічних станів як ожиріння, інсулінорезистентність, атеросклероз, цукровий діабет [1].

За походженням с-JNK (с-Jun N-кінцеві кінази) відносяться до сімейства мітоген активованих протеїнових кіназ (МАРК). с-JNK кінази активуються у відповідь на різноманітні стресові стимули, зокрема такі, як тепловий або осмотичний удар, ультрафіолетове випромінювання, дія цитокінів або кислот жирного ряду [2]. Можливо, активація відбувається при пошкодженні конформації інших чутливих фосфатазних ферментів, що звичайно подавляють активність с-JNK кіназ [3].

Встановлено, що с-JNK кінази відповідають за запальну реакцію [4]. Показано, що с-JNK1 та с-JNK2 кінази відіграють важливу роль у розвитку викликаного ожирінням діабету [5]. с-JNK кінази також активують внутриклітинний синтез нітроген оксиду, який є медіатором запалення, модифікує білки, пошкоджує нуклеїнові кислоти та бере участь у розвитку атеросклерозу [6]. Але при тому с-JNK кінази запускають механізм відновлення пошкодженої нітроген оксидом ДНК в міоцитах серця [7].

Останнім часом були знайдені потужні інгібітори JNK кіназ, що містять ціано-групу, та можуть бути описані загальною формулою. Яка відображена на рис. 1.



Рис. 1. Загальна формула інгібіторів JNK кіназ, що містять ціано-групу

Першим з таких інгібіторів був розроблений 1,3-бензотіазол-2-іл-(2-[[2-(3-піридиніл)етил]аміно]-4-піримідиніл)ацетонітрил AS601245 [8].

Він інгібує JNK кінази та проявляє активність IC₅₀ 150 нмоль/л проти JNK1, 220 нмоль/л проти JNK2 та 70 нмоль/л проти JNK3. При проведенні доклінічних досліджень на пацюках проти церебральної ішемії, він проявив нейропротекторну дію [9]. AS601245 також демонструє протизапальну активність [10]. Але недоліком AS601245 є слаба проникність всередину клітини [11].

З метою підвищити проникливість всередину клітини та інгібуючу активність, шляхом комбіаторного синтезу та скрінінгу біологічну активність був знайдений високоефективний інгібітор

JNK кіназ N-(4-Аміно-5-ціано-6-етокси-2-піридиніл)-2,5-диметоксифенілацетамід TCS JNK6b. Його активність IC₅₀ дорівнює 2 нмоль/л проти JNK1, 4 нмоль/л проти JNK2 та 5 нмоль/л проти JNK3 [12].

Дуже високу інгібуючу активність демонструє N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)-1-нафтамід TCS JNK5a. Вона дорівнює 5 нмоль/л проти JNK1, 6,5 нмоль/л проти JNK2 та 6,7 нмоль/л проти JNK3 [13].

Синтез нових речовин завжди залишається одним з перспективних напрямків пошуку високоєфективних лікарських субстанцій. В якості об'єктів наших синтетичних досліджень були обрані аміді N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензаміді, синтез яких проводиться за схемою 1. Вихідні 2-аміно-3-ціанотіофену отримували відомим способом — взаємодією α-CH2 кетонів із сіркою та малондинітрилом [14].

Беручи до уваги структуру відомого інгібітору C-JNK-кінази TCS JNK-5a (N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)-1-нафтаміду), в початкових дослідженнях ми вирішили зупинитися на вивченні біологічної активності більш наближених до структури прототипу ароматичних кислот.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Спектри ¹H-ЯМР записані на спектрометрі Varian WXR-200 (робоча частота 200 MHz) в ДМСО-d₆, внутрішній стандарт — ТМС.

Температуру плавлення визначали на блоці Кофлера або за фармакопейним методом. 2-Аміно-3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-4H-циклогекса[b]тіофен було отримано за відомою методикою.

Загальна методика синтезу N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензамідів 3a-c. До суміші (0,005 моль) 2-аміно-3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-4H-циклогекса[b]тіофену **1** та 0,0055 моль піридину у 10 мл сухого діоксану додавали 0,005 моль відповідного бензоїлхлориду. Суміш нагрівали при 50-70°C при перемішуванні впродовж 3 годин. Після охолодження реакційну суміш розводили водою. Осад, який утворився, відфільтровували та перекристалізували з 2-пропанолу.

Дослідження in vitro. Виділення гепатоцитів проводили згідно методу, запропонованого Seglen [15]. Остаточний осад клітин переважно містив 90% гепатоцитів. Життєздатність клітин оцінювали шляхом фарбування з 0,04% розчином трипанового синього. Підрахунок проводили в камері Горяєва. Концентрація життєздатних гепатоцитів становила не менше 90%.

В подальшому клітини інкубували протягом 2 і 20 годин при 37°C в атмосфері O₂:CO₂ (5:95, %) присутності досліджуваних речовин **3a-3c** передбачуваних інгібіторів у концентраціях 25μM і 50μM. Суспензії досліджуваних речовин готували з додаванням Твін-80. Суспензія контрольних клітин містила Твін-80 відповідній концентрації. Окремі проби містили ацетамінофен в концентрації 2,5 мМ.

Активність аланін амінотрансферази (АЛТ) визначали уніфікованим динітрофенілгідразиним методом та використовували стандартні набори реактивів фірми Фелісіт-Діагностика (м. Дніпропетровськ, Україна).

Дослідження in vivo. Досліди проводили на щурах лінії Wistar, маса 140-200г, що містяться на стандартному раціоні виварію. Цукровий діабет 2 типу (ЦД2) моделювали утриманням тварин на дієті з високим рівнем фруктози (60 г/на 100 г дієти) на протязі 60 днів [16]. Досліджувані речовини вводили внутрішньоблунково.

Далі тварини були розділені на 8 груп: 1 група — інтактні щури, 2 група-щури з експериментальним ЦД2, 3 група — щури з експериментальним ЦД2 + **3a**, 4 група — щури з експериментальним ЦД2 + **3b**, 5 група — щури з експериментальним ЦД2 + **3c**, 6 група — щури, яким вводили речовину **3a**, 7 група — щури, яким вводили речовину **3b**, 8 група — щури, яким вводили речовину **3c**. Після закінчення експерименту щурів декапітували, збирали кров з якої отримували сироватку. Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином. Гомогенат готували у співвідношенні 1 частина печінки : 3 частини 0,1 М Трис-НСІ буферу (рН 7,5). В сироватці крові визначали активність АЛТ та вміст глюкози. У гомогенаті печінки — вміст триацилгліцеринів (ТГ) та ТБК- реактивних продуктів (ТБК-РП).

Визначення вмісту глюкози проводили з використанням глюкозооксидазного методу з використанням стандартного набору реактивів фірми Фелісіт-Діагностика (м. Дніпропетровськ, Україна). Визначення вмісту ТГ проводили з використанням методу Флетчера з використанням стандартного набору реактивів фірми Фелісіт-Діагностика. Вміст ТБК-РП у гомогенаті печінки визначали колориметричним методом, який ґрунтується на здатності цієї суми сполук утворювати у кислому середовищі забарвлені триметинові комплекси з тіобарбітуровою кислотою, що мають максимум поглинання при довжині хвилі 532 нм [17].

Статистическую обработку данных проводили с использованием вариационной статистики (ANOVA). P<0,05 — статистически достоверные результаты.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Нами були отримані N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензамідів з фіксованою тіофеновою частиною молекули — аміді 2-аміно-3-ціано-4,5,6,7-тетрагідробензотіофену з бензойними кислотами, варіюючи природу замісника в бензойній кислоті, використовуючи як незаміщену бензойну кислоту (сполука **3a**), так і кислоту з електроноакцепторним (4-фторо-) (сполука **3b**), та електронодонорним (4-метокси-) замісником (сполука **3c**) (рис. 2).

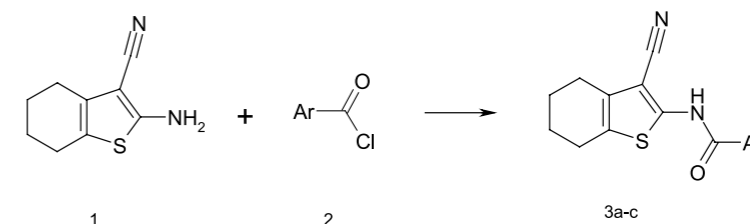


Рис. 2. Схема синтезу N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензамідів.

Утворення цільових N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензамідів **3a-c** проводили при обробці відповідного аміну **1** хлорангідрідами бензойних кислот в сухому 1,4-діокса-

ні. Продукт очищали перекристалізацією з 2-пропанолу. Чистота та структура синтезованих продуктів підтверджена даними ПМР-спектроскопії. У спектрі ПМР синтезованих сполук (таблиця 1)

Таблиця 1

ХАРАКТЕРИСТИКИ N-(3-ЦІАНО-4,5,6,7-ТЕТРАГІДРО-1-БЕНЗОТІЄНІЛ-2-ІЛ)БЕНЗАМІДІВ 3A-3C.

Сполука	Вихід, %	Тпл., °C	Сигнали протонів в ПМР спектрі, δ, м.д.
3a	86	215-216	1,7 м (4H), 2,6 м (4H), 7,55 м (3H), 7,94 дб (2H), 11,7 с (1H)
3b	89	228-229	1,7 м (4H), 2,6 м (2H), 7,37 тр (2H), 8,0 тр (2H), 11,7 с (1H)
3c	46	186-188	1,7 м (4H), 2,6 м (4H), 3,8 с (3H), 7,07 дб (2H), 7,92 дб (2H), 11,5 с (1H)

спостерігалися всі сигнали протонів, що відповідають очікуваній структурі. А саме — характеристичні сигнали протонів амідної групи в області 11,5 — 11,9 м.д., ароматичних протонів, що відповідають природі та типу заміщення в ароматичному залишку відповідної кислоти.

Згідно з результатами попереднього аналізу літературних даних для оцінки впливу сполук **3** на активність JNK-кіназ нами були обрані на-

ступні показники: вміст ТГ в клітинах печінки, активність АЛТ, а також вміст ТБК-РП. Подальше дослідження JNK-кіназної активності сполук **3** проводили методами *in vitro* та *in vivo*.

Нашими дослідженнями показано, що в експериментальних умовах найбільшу активність проявив ацетамінофен. Попередня інкубація виділених гепатоцитів зі специфічним інгібітором повністю скасовувала ефект ацетамінофену (таблиця 2).

Таблиця 2

ВПЛИВ АКТИВАТОРІВ І ІНГІБІТОРІВ JNK-КІНАЗ НА АКТИВНІСТЬ АЛАНІНАМІНОТРАНСФЕРАЗИ, N=4,

Вплив	Активність АЛТ, мкмоль/час/мл
Інтакт	0,238±0,011
SP600125	0,241±0,012
Ацетамінофен	0,656±0,043*
Холева кислота	0,456±0,037*
Пальмітинова кислота	0,269±0,027
Ацетамінофен + SP600125	0,247±0,013

Продовження Табл. 2

Холева кислота + SP600125	0,236±0,017
Пальмітинова кислота + SP600125	0,242±0,019

* — p≤0,05 у порівнянні с інтактом.

Отримані результати свідчать про те, що, найбільш ефективним активатором серед вивчених проявив себе ацетамінофен, тоді як меншу активність проявили жовчні кислоти (на прикладі холевої кислоти), а найбільш показовим маркерним ферментом є АЛТ. В якості доступних для дослідження маркерних показників активації JNK-кіназ були відібрані наступні показники: вміст ТГ в клітинах печінки, активність АЛТ, а також вміст ТБК-РП.

На першому етапі проведених досліджень ми вивчали вплив речовин 3 в різних концентраціях на показник активації JNK-кіназ — актив-

ність АЛТ *in vitro* на моделі ізольованих гепатоцитів. Нами було показано, що зниження активності АЛТ відзначається при дії 3а в концентрації 25µМ, а також речовини 3с в концентрації 50 µМ при інкубації протягом 2 годин (табл. 3). Тоді як інші показники протягом даного часу інкубації не змінювалися. Через 20 годин інкубації ми спостерігали дещо іншу картину. Спостерігалось зниження активності АЛТ при дії 3b в концентрації 25 µМ, тоді, як інші речовини в досліджуваній концентрації не чинили подібного ефекту (табл. 3).

Таблиця 3

ВПЛИВ ДОСЛІДЖУВАНИХ РЕЧОВИН НА АКТИВНІСТЬ АЛТ В СЕРЕДОВИЩІ ІНКУБАЦІЇ ГЕПАТОЦИТІВ (МКМОЛЬ Ч*МЛ В ПЕРЕРАХУНКУ НА 7,8*10⁶ КЛІТИН, М±М, N=6)

	Інтакт	Контроль	3а		3b		3с	
			25µМ	50 µМ	25µМ	50 µМ	25µМ	50 µМ
час інкубації — 2 год	0,0389±0,0017	0,0387±0,0006	0,0356±0,0012*	0,0382±0,0001	0,0361±0,0003	0,0363±0,0005	0,0364±0,0011	0,0351±0,0016*
час інкубації — 20 год	0,0255±0,0004	0,0248±0,0003	0,0262±0,0019	0,0244±0,0019	0,0220±0,0016*	0,0251±0,0029	0,0265±0,0009	0,0254±0,0004

* — p≤0,05 контроль-дослід.

Беручі до уваги, що JNK кінази відіграють важливу роль у розвитку інсулінорезистентності та проатерогенних станів, для дослідження JNK-кіназної активності синтезованих речовин 3а-3с ми також використали модель ЦД2 в умовах *in vivo*. Отримані дані представлені у таблиці 4.

На першому етапі досліджень визначали вміст глюкози в крові піддослідних щурів. Отримані дані свідчать про те, що розвиток ЦД2 типу супроводжувався різким підвищенням вмісту глюкози в крові тварин. Введення тваринам досліджуваних речовин не призводило до вірогідних змін у рівні глюкози в піддослідних тварин. Слід також зазначити, що показники в контрольній групі тварин також суттєво не відрізнялися від показника, що відповідав рівню глюкози у тварин інтактної групи.

Наступним етапом наших досліджень було вивчення активності АЛТ у сироватці крові піддослідних тварин. Отримані в роботі дані свідчать про те, що при розвитку експериментального ЦД2 спостерігається тенденція до збільшення ак-

тивності цього ферменту, проте вірогідного збільшення активності не спостерігалось (табл. 4). Це може свідчити, що за даних експериментальних умов не було суттєвого ураження клітин печінки. Введення речовин як контрольним тваринам, так і тваринам з експериментальним цукровим діабетом суттєво не відобразилося на активності цього маркерного ферменту. Той факт, що при введенні досліджуваних речовин активність цього маркерного ферменту печінки не збільшувалася, ми можемо розглядати, як непряме підтвердження раніше отриманих результаті, а саме те, що досліджувані речовини не викликають патологічних змін у метаболічних процесах клітин печінки, а також не приводять до ураження плазматичних мембран клітин цього органу.

Наступним показником, який вивчали був вміст ТГ в тканині печінки щурів. Отримані дані свідчать про те, що при експериментальному ЦД2 спостерігається накопичення ТГ у тканині печінки тварин (табл. 4). Слід зазначити, що при введенні досліджуваної речовини 3b спостеріга-

ється тенденція до зниження вмісту ТГ, проте введення цієї ж речовини контрольним тваринам, які не мали експериментального ЦД2 не призводила до суттєвого зниження досліджуваного показника.

Також ми вивчали вміст ТБК-РП у сироватці крові експериментальних тварин. Отримані результати свідчать про те, що з розвитком контрольної патології спостерігається збільшення вмісту ТБК-РП у крові тварин (табл. 5). Ці дані свідчать про те, що за даних умов спостерігається інтенсифікація процесів перекисного окиснення ліпідів, що може бути результатом достатньо сталої гіперглікемії, яка спостерігається за даних експериментальних умов. Введення досліджуваних речовин дещо знижує показники перекисного окислювання ліпідів в сироватці експериментальних тварин, що може свідчити про те, що ці речовини мають антиоксидантні властивості.

ВИСНОВКИ

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що отримані N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензаміди впливають на активність АЛТ у ізольованих гепатоцитах. Проте дані, отримані в умовах *in vivo* показали, що досліджувані речовини суттєво не змінюють вміст ТГ у печінці щурів, а також суттєво не впливають на рівень глюкози та активність АЛТ в сироватці крові тварин. Досліджувані речовини на моделі ЦД2 типу продемонстрували зниження вмісту ТБК-РП продуктів.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Bennet B. JNK: a new therapeutic target for diabetes / B. Bennet, Y. Satoh, A. J. Lewis / Curr. Opin. Pharmacol. — 2003. — vol. 3. — P. 420-425.
- Barr R. K. The c-Jun N-terminal protein kinase family of mitogen-activated protein kinases (JNK MAPKs) / R. K. Barr, M. A. Bogoyevich / Int. J. Biochem. Cell Biol. — 2001. — N 33. — P. 1047-1063.
- Vlahopoulos S. JNK: a key modulator of intracellular signaling / S. Vlahopoulos, V. C. Zoumpourlis / Biochemistry Mosc. — 2004. — vol. 69, N 8. — P. 844-854.
- Ip Y.T. Signal transduction by the c-Jun N-terminal kinase (JNK) — from inflammation to development / Y.T. Ip, R. J. Davis / Curr. Opin. Cell Biol. — 1998. — vol. 10, N 2. — P. 205-219.
- Hirosumi J. A central role for JNK in obesity

and insulin resistance / J. Hirosumi, G. Tuncman, L. Chang [et al.] / Nature. -2002. — vol. 402. — P. 333-336.

- Levy A. S. Nitric oxide and coronary vascular endothelium adaptations in hypertension / A. S. Levy, J. C. Chung, J. T. Kroetsch / Vask. Health Risk Manag. — 2009. — vol. 5. — P. 107510 — 107587.
- Levy A. S. Nitric oxide and coronary vascular endothelium adaptations in hypertension / A. S. Levy, J. C. Chung, J. T. Kroetsch / Vask. Health Risk Manag. — 2009. — vol. 5. — P. 107510 — 107587.
- Carboni S. AS601245 (1,3-benzothiazol-2-yl-(2-[[2-(3-pyridinyl)ethyl]amino]-4-pyrimidinyl)acetonitrile): a c-Jun NH2-terminal protein kinase inhibitor with neuroprotective properties / S. Carboni, A. Hiver, C. Szyndralewicz [et al.] / J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2004. — vol. 310, N 1. — P. 25-32.
- Carboni S. AS601245, a c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) inhibitor, reduces axon/dendrite damage and cognitive deficits after global cerebral ischaemia in gerbils / S. Carboni, U. Boschert, P. Gaillard [et al.] / Br. J. Pharmacol. — 2008. — vol. 153, N 1. — P. 157-163.
- Cerbone A. AS601245, an anti-inflammatory JNK inhibitor, and clofibrate have a synergistic effect in inducing cell responses and in affecting the gene expression profile in CaCo-2 Colon Cancer Cells / A. Cerbone, C. Toaldo, S. Pizzimenti [et al.] / PPAR Research. — 2012, Article ID 269751, 16 pages doi:10.1155/2012/269751.
- Gaillard P. Design and synthesis of the first generation of novel potent, selective, and *in vivo* active (benzothiazol-2-yl)acetonitrile inhibitors of the c-Jun N-terminal kinase / P. Gaillard, I. Jeanclaude-Etter, V. Ardissonne [et al.] / Med. Chem. — 2005. — vol. 48. — P. 4596-4607.
- Szczepankiewicz B.G. Aminopyridine-based c-Jun N-terminal kinase inhibitors with cellular activity and minimal cross-kinase activity / B. G. Szczepankiewicz, C. Kosogof, L. T. Nelson [et al.] / J.Med.Chem. — 2006. — vol. 49. — vol. 12. — P. 3563-3580.
- Angell R.M. N-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothien-2-yl)amides as potent, selective, inhibitors of JNK2 and JNK3 / R. M. Angell, F. L. Atkinson, M. J. Brown [et al.] / Bioorg. Med.Chem.Letts. — 2007. — vol. 17, N 5. — P. 1296-1301.

14. Gewald K. Heterocycles from CN-acidic nitriles / K. Gewald, E. Schinke / *Chemische Berichte*. — 1966. — Vol. 99(8). — P. 271-275
15. Seglen P.O. Preparation of isolated rat liver cells: The enzymatic preparation of isolated intact parenchymal cells from rat liver / P. O. Seglen / *Methods Cell Biol.* — 1976. — vol. 13. — P. 29-83.
16. Kannappan S. Insulin sensitizing actions of fenugreek seed polyphenols, quercetin & metformin in a rat model / S. Kannappan, C.V. Anuradha / *Indian J. Med. Res.* — 2009. — Vol. 129. — P. N4401-4408.
17. Ježek J. Mitochondrial phospholipase A2 activated by reactive oxygen species in heart mitochondria induces mild uncoupling / J. Ježek, M. Jabůrek, J. Zelenka, P. Ježek / *Physiol. Res.* — 2010. — vol. 59, N 5. — P. 737-747.

Таблиця 4

ВПЛИВ ДОСЛІДЖУВАНИХ РЕЧОВИН НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ РЕЧОВИН У ТКАНИНІ ПЕЧІНКИ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ, (M±M, N=6)

Показники	Інтакт	Контроль		ЦД2	ЦД2+речовини	
Глюкоза, ммоль/л	4,25±0,27	3a	4,38±0,17	12,37±1,24*	3a	11,98±2,31
		3b	4,04±0,29		3b	13,19±1,96
		3c	4,45±0,31		3c	12,92±2,01
АЛТ, мкмоль\ч*мг білка	0,76±0,07	3a	0,66±0,06	0,98±0,07	3a	0,88±0,08
		3b	0,69±0,07		3b	0,91±0,09
		3c	0,71±0,08		3c	0,89±0,11
ТГ, мг/мл	0,51±0,17	3a	0,62±0,16	1,89±0,13*	3a	1,93±0,14
		3b	0,55±0,13		3b	1,59±0,15
		3c	0,59±0,15		3c	1,89±0,11
ТБК-РП, нмоль/мг білка	0,33±0,13	3a	0,38±0,14	1,16±0,11*	3a	0,89±0,11**
		3b	0,31±0,13		3b	0,82±0,09**
		3c	0,43±0,17		3c	0,85±0,09**

* — P контроль-ЦД2<0,05.

** — P ЦД2-ЦД2+речовини<0,05.

UDC 661.12.091.547

С. Н. Коваленко, С. В. Власов, Е. В. Ткаченко, Л. В. Евсеєва, А. Л. Загайко, О. А. Красильникова

Национальный фармацевтический университет

ИССЛЕДОВАНИЯ JNK-КИНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ N-(3-ЦИАНО-4,5,6,7-ТЕТРАГИДРО-1-БЕНЗОТИЕНИЛ-2-ИЛ) БЕНЗАМИДА

С целью исследования JNK-киназной активности структурных аналогов известного ингибитора C-JNK-киназы путем ацилирования 2-амино-3-циано-4,5,6,7-тетрагидро-бензотиофену хлорангидами бензойных кислот в сухом 1,4-диоксане были получены замещенные N-(3-циано-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиенил-2-ил)бензамидами с фиксированной тиофеновой частью молекулы и набором разнообразных заместителей в остатке бензойной кислоты. Структура полученных N-(3-циано-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиенил-2-ил)бензамидов подтверждена данными ПМР-спектроскопии. Полученные результаты свидетельствуют о том, что N-(3-циано-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиенил-2-ил)бензамиды влияют на активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) в изолированных гепатоцитах, однако существенно не изменяют содержание триацилглицеринов в печени крыс, а также не влияют на уровень глюкозы и активность АЛТ в сыворотке

крови животных в условиях in vivo. Исследуемые вещества снижали содержание ТБК-реактивных продуктов у животных с экспериментальным сахарным диабетом 2-го типа. **Ключевые слова:** ингибиторы JNK-киназы, N-(3-циано-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиенил-2-ил) бензамиды, аланинаминотрансфераза, триацилглицерины, сахарный диабет 2-го типа.

UDC 661.12.091.547

S. N. Kovalenko, S. V. Vlasov, E. V. Tkachenko, L. V. Evseeva, A. L. Zagayko, O. A. Krasil'nikova

National University of Pharmacy

RESEARCH JNK-N-KINASE ACTIVITY OF (3-CYANO-4,5,6,7-TETRAHYDRO-1-BENZOTHIENYL-2-YL)BENZAMIDE

The aim of this work was to study the JNK-kinase activity of structural analogues of an active C-JNK-kinase inhibitor (N-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothien-2-yl)-1-naphthamide); by acylation of 2-amino-3-cyano-4,5,6,7-tetrahydrobenzothiophene with benzoic acids chlorides in anhydrous 1,4-dioxane the series of substituted N-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothien-2-yl)benzamides with the same thiophene moiety and various substituents in benzoic acid residue were obtained. The structures of the obtained N-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothien-2-yl)benzamides were confirmed by ¹H NMR-spectroscopy.

These results indicate that N-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothienyl-2-yl)benzamides decrease alanine aminotransferase (ALT) activity in isolated hepatocytes, but not significantly change the triacylglycerol's content in rat liver, and have no effect on blood glucose and serum ALT activity in the blood of animals in vivo. The TBA-reactive products content was reduced in animals with experimental diabetes mellitus type 2 under administration of these substances.

Key words: C-JNK-kinase inhibitor, N-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothienyl-2-yl) benzamides, alanine aminotransferase, triacylglycerol, diabetes mellitus type 2.

Адреса для листування:

61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, НфаУ

Надійшла до редакції:

19.06.2013 р.