

Є. О. Цапко, І. С. Гриценко, Л. М. Малоштан, І. О. Тимошина, К. М. Ситнік, Л. В. Яковлева, О. М. Шаповал

## Дослідження гіпоглікемічної активності та гострої токсичності похідних ( $\pm$ )-камфорної кислоти з хіназолін-4-оновим фрагментом

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** гіпоглікемічна активність, гостра токсичність, камфорна кислота, хіназолін-4-он.

Дослідили гостру токсичність і гіпоглікемічну активність похідних камфорної кислоти із фрагментом хіназолін-4-ону. Виявили речовини з рівнем активності, що близький до препарату порівняння глібенкламід. Встановили деякі закономірності структура – гіпоглікемічна дія.

### Исследование гипогликемической активности и острой токсичности производных ( $\pm$ )-камфорной кислоты с хиназолин-4-оновым фрагментом

Е. А. Цапко, И. С. Гриценко, Л. Н. Малоштан, И. А. Тимошина, К. М. Ситник, Л. В. Яковлева, О. Н. Шаповал

Исследовали острую токсичность и гипогликемическую активность производных камфорной кислоты с фрагментом хиназолин-4-она. Обнаружили вещества с уровнем активности, близким к препарату сравнения глибенкламид. Установили некоторые закономерности структура – гипогликемическое действие.

**Ключевые слова:** гипогликемическая активность, острая токсичность, камфорная кислота, хиназолин-4-он.

### The study of hypoglycemic activity and acute toxicity of ( $\pm$ )-camphoric acid derivatives containing quinazolin-4-ones residue

Ye. O. Tsapko, I. S. Grytsenko, L. M. Maloshtan, I. O. Tymoshina, K. M. Sytnik, L. V. Yakovleva, O. M. Shapoval

The acute toxicity and hypoglycemic activity of camphoric acid derivatives containing the residue of quinazolin-4-one were investigated. The activity level of some substances is close to the reference drug namely glibenclamide. Some structure – activity relationships have been determined.

**Key words:** hypoglycemic activity, acute toxicity, camphoric acid, quinazolin-4-one.

Цукровий діабет (ЦД) сьогодні посідає третє місце після онкологічних і серцево-судинних захворювань. За даними ВООЗ, у 2011 р. кількість хворих на ЦД у світі становила 366 млн, з них 80–90% – хворі на ЦД 2 типу [1].

Одним з основних завдань фармакотерапії під час лікування ЦД 2 типу є зниження гіперглікемії, котра є не тільки основним симптомом ЦД, але й головним фактором розвитку специфічних ускладнень. Для лікування ЦД 2 застосовують похідні сульфонілсечовини, бігуаніди, тiazолідиндіони, інгібітори альфа-глюкозидаз, метглітиніди, інгібітори дипептидилпептидази тощо. Зазначені групи препаратів діють на різні ланки патогенезу ЦД 2 типу [2,3]. Водночас кожна група препаратів має ряд обмежень для широкого застосування через побічні ефекти на шлунково-кишковий тракт, нирки, печінку тощо [4]. Часто ці фактори стають вирішальними, оскільки у більшості випадків ЦД супроводжується ожирінням, розладом серцево-судинної системи, патологією печінки і нирок.

Останнім часом речовини з антигіперглікемічною активністю виявлені серед похідних камфорної кислоти [5]. Представником цієї групи є антидіабетичний засіб діакамф [6]. Введення діакамфу сприяє досягненню стійкого глікемічного контролю. Встановили також, що діакамф виявляє антиатерогенні, церебропротекторні, антиоксидантні та репаративні властивості за умов експериментального ЦД 2 типу [7]. Слід відзначити, що у спеціалізованій літературі майже відсутні дані про біологічну активність гетероциклічних похідних камфорної кислоти.

Робота продовжує пошук антидіабетичних засобів у ряду похідних камфорної кислоти. Синтезовані нами сполуки у структурі містять фрагмент хіназолін-4-ону. Хіназолін-4-они – відомий клас гетероциклічних сполук,

представники якого виявляють протиракову, антиконвульсивну [8], протівірусну [9] та інші види біологічної активності [10]. Антигіперглікемічну дію цього класу сполук майже не вивчали [11].

#### Мета роботи

Скринінгове дослідження гіпоглікемічної активності похідних камфорної кислоти, що містять фрагмент хіназолону-4, та встановлення зв'язку між структурою молекули і фармакологічною дією.

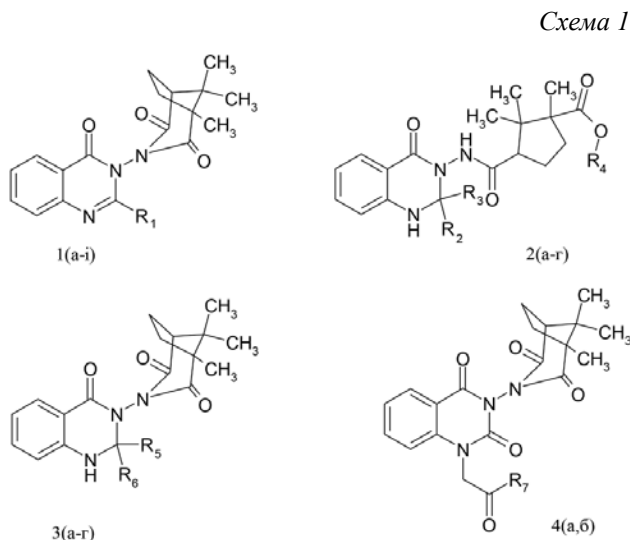
#### Матеріали і методи дослідження

Об'єкт дослідження – хіназолін-4(3Н)-они 1, 1,2,3,4-тетрагідрохіназолін-4-они 2,3 і 1,2,3,4-тетрагідрохіназолін-2,4-діони 4, що у третьому положенні гетероциклу містять амідний або імідний залишки камфорної кислоти (схема 1).

Зазначені сполуки синтезовано на основі N-антраноїл- $\alpha$ -гідразиду ( $\pm$ )-камфорної кислоти за описаними методиками [12–14].

Гіпоглікемічну активність досліджували на білих безпородних щурах масою 220–250 г. Тварин розподілили на дві групи: контрольну і тих, що отримували досліджувані речовини. Рівень глюкози у крові визначали до введення речовини і через три години у тварин, яких задалегідь не годували. Досліджувані речовини вводили у дозі 0,1 ммоль/кг, нерозчинні у воді речовини вводили із твіном-80.

Кожну речовину випробовували на шістьох тваринах. Глюкозу у крові визначали тест-набором фірми «Філісіт-Діагностика» з використанням проточної кювети в мікродозах на біохімічному аналізаторі «PRIME» ВРС BIOSEP (Італія). Як препарат порівняння використовували глібенкламід у дозі 25 мг/кг, котрий рекомендований для дослідів на тваринах [15].



Скринінгові дослідження виконали для 19 сполук. Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали методами варіаційної статистики із застосуванням t-критерію Стюдента. Розходження вважали статистично значущими при  $P < 0,05$ . Результати отриманих експериментальних даних наведено в таблиці 1.

Гостру токсичність вивчали з використанням експрес-методу Т.В. Пастушенко [16]. Гостру токсичність досліджували на білих мишах вагою 18–20 г при одnorазовому внутрішньошлунковому введенні. Спостереження тривали протягом двох тижнів і складались із двох етапів: попереднього і підсумкового. У попередніх дослідженнях кожену дозу об'єкта, що вивчали, випро-

бували на двох тваринах, а в підсумкових – на трьох. Максимальна введена доза становила 5000 мг/кг, відповідно до методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України «Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів».

Дослідження виконали згідно з правилами «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються з експериментальною та іншими науковими цілями» [17].

### Результати та їх обговорення

За результатами експерименту (табл. 1), гіпоглікемічну активність виявили хіназолін-4(3Н)-они 1, що містять замісник у другому положенні гетероциклу. В ряду 2-алкілпохідних найвищу гіпоглікемічну дію зафіксували для сполуки 1в з етильним радикалом. На рівні препарату порівняння діяла сполука 1з із бромтєнільним радикалом. Хіназолін-4(3Н)-они 1є, 1і з нітрогрупою в радикалі діяли на рівні контролю або підвищували рівень глюкози в крові.

Фармакологічна дія більшості випробуваних 1,2,3,4-тетрагідрохіназолін-4-онів 2 і 3 є близькою до рівня контролю. Лідерами в цій групі є нагрєва сіль 2в і спіросполука 3в із N-метилпіперидильним фрагментом.

Сполуки 2а, 2б і 3а, 3б, що мають однакові замісники у другому положенні хіназолінового циклу, виявили близький рівень активності. Отже, замикання амідного циклу камфороної кислоти в імідний під час переходу від сполук 2 до 3 суттєво не впливає на рівень гіперглікемічної активності. Слід відзначити, що сполуки 2 мають додатковий потенціал у разі використання їх у вигляді солей. Так, рівень активності сполуки 2в, що є

Таблиця 1

Вплив похідних камфороної кислоти на рівень глюкози у крові щурів

Сполука	R	Рівень глюкози в крові (ммоль/л) *		Зміна рівня глюкози на (%)
		вихідний	через 3 год	
1а	$R_1 = H$	4,90±0,28	5,60±0,26	+14,3
1б	$R_1 = CH_3$	4,53±0,14	3,1±0,14 †	-31,6
1в	$R_1 = C_2H_5$	5,10±0,15	1,36±0,31 †	-73,3
1г	$R_1 = C_3H_7$	4,2±0,03	2,60±0,05 †	-38,1
1д	$R_1 = 2-CH_3C_6H_4$	4,43±0,12	2,40±0,08 †	-45,8
1є	$R_1 = 4-NO_2$ стирил	4,30±0,08	4,00±0,28	-7,0
1ж	$R_1 = 4-BrC_6H_4COCH_2S$	4,40±0,30	3,53±0,14 ‡	-19,8
1з	$R_1 = 2-(5-Brтєніл)COCH_2S$	4,70±0,37	0,36±0,14 †	-92,3
1і	$R_1 = 3-NO_2C_6H_4COCH_2S$	4,7±0,15	9,20±0,40 †	+95,7
2а	$R_2 = CH_3, R_3 = C_2H_5, R_4 = H$	4,36±0,12	4,00±0,28	-8,4
2б	$R_2 = R_4 = H, R_3 = \text{фурил}$	4,46±0,37	3,40±0,19 ‡	-23,8
2в	$R_2 = H, R_3 = \text{фурил}, R_4 = Na$	4,46±0,37	0,83±0,24 †	-84,1
2г	$R_2 = R_4 = H, R_3 = CH_3$	4,46±0,37	3,30±0,20 §	-26,0
3а	$R_5 = CH_3, R_6 = C_2H_5$	4,40±0,20	4,2±0,17	-4,5
3б	$R_5 = H, R_6 = \text{фурил}$	4,00±0,09	3,40±0,60	-15,0
3в	$R_5-C-R_6 = 4-(N\text{-метилпіпериденіл})$	4,40±0,46	1,60±0,40 †	-63,6
3г	$R_5-C-R_6 = 3\text{-}(індоліден)$	4,50±0,28	3,66±0,09 ‡	-18,7
4а	$R_7 = 3-BrC_6H_4$	4,10±0,44	8,10±0,44 †	+97,5
4б	$R_7 = 4-FC_6H_4$	5,00±0,57	7,30±0,30 †	+46
Контроль		6,60±0,08	5,5±0,18 †	-16,7
Глібенкламід		5,00±0,33	0,43±0,09 †	-91,4

Примітки: \* – «середні  $\pm$  похибка середньої»; ‡ –  $p < 0,05$ ; § –  $p < 0,01$ ; † –  $p < 0,001$  щодо контролю.

натрієвою сіллю сполуки 2б, у кілька разів вищий. Цей факт можна пояснити біодоступністю солі 2в, оскільки вона розчинна у воді, на відміну від кислоти 2б.

Хіназоліндіони 4а,б, що містять 4-фторо- і 3-бромофенацильні залишки при атомі нітрогену хіназоліндіонового циклу, виявили гіперглікемічну дію; сполука 4а підвищувала рівень глюкози у крові на 97,5%. Очевидно, сполуки 4а,б впливають на системи енергетичного забезпечення, ініціюючи глікогеноліз, що призводить до підвищення рівня глюкози у крові тварин, які голодують.

Аналізуючи структури сполук-лідерів серед 2-*R*-хіназолінонів (1в, 1з, 2в, 3в), можна відзначити, що три з них – це речовини з гетерильним (тієнільним, фурильним, піперидильним) фрагментом у радикалі.

Гостру токсичність вивчали для сполук 1в, 1з, 2в, 3в, що виявили найвищий рівень гіпоглікемічної активності. За результатами експерименту загибель тварин не спостерігали, не виявили і клінічних проявів інтоксикації при максимальному введеному дозі (5000 мг/кг). Про відсутність токсичного впливу на організм тварин свідчить аналіз масових коефіцієнтів внутрішніх органів (МКВО): значення цього показника для дослідних тварин – на рівні відповідних у інтактних. МКВО розраховували після ви-

ведення тварин з експерименту, макроскопічного огляду внутрішніх органів та визначення їхньої маси. Наведені результати засвідчують, що сполуки 1в, 1з, 2в, 3в є нешкідливими і їхня величина  $LD_{50}$  – за межами 5100 мг/кг.

#### Висновки

Похідні камфорної кислоти із фрагментом хіназолін-4(3Н)-ону та 1,2,3,4-тетрагідрохіназолін-4(3Н)-ону є перспективним класом сполук для створення низькотоксичних антигіперглікемічних засобів.

Важливим чинником для гіпоглікемічної активності похідних хіназолін-4(3Н)-ону та 1,2,3,4-тетрагідрохіназолін-4(3Н)-ону із фрагментом камфорної кислоти у третьому положенні гетероциклу є наявність замісника у другому положенні хіназолону.

Наявність нітрогрупи у 2-радикалі хіназолону не сприяє прояву гіпоглікемічної активності.

Перспективним напрямом для подальшої синтетичної модифікації цього класу сполук для підвищення гіпоглікемічної активності є введення гетероциклічних залишків у 2-радикал хіназолін-4-онів та отримання водорозчинних солей у вільній карбоксильній групі камфорної кислоти.

#### Список літератури

- International Diabetes Federation, Diabetes Atlas. – 5th ed. – International Diabetes Federation, 2011.
- Nyenwe E.A. Management of type 2 diabetes: evolving strategies for the treatment of patients with type 2 diabetes / E.A. Nyenwe, T.W. Jerkins, G.E. Umpierrez, A.E. Kitabchi // Metabolism. – 2011. – Vol. 60, №1. – P. 1–23.
- Tahrani A.A. Glycemic control in type 2 diabetes: Targets and new therapies / A.A. Tahrani, M.K. Piya, A. Kennedy, A.H. Barnett // Pharmacology & Therapeutics. – 2010. – Vol. 125, №2. – P. 328–361.
- Ovalle F. Cardiovascular implications of antihyperglycemic therapies for type 2 diabetes / F. Ovalle // Clinical Therapeutics. – 2011. – Vol. 33, №4. – P. 393–407.
- Кириченко О.М. Гіпоглікемічна активність похідних (±)-камфорної та бурштинової кислот / О.М. Кириченко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2008. – Т. 3, №3. – С. 69–73.
- Пат. на корисну модель № 39780 Україна, МПК С07D 235/00, А61К 31/4164, А61Р 3/00. Застосування (±)-цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонової кислоти як засобу, що підвищує чутливість тканин до інсуліну та виявляє антиагерогенну, нефротоксичну, церебропротекторну, ноотропну, антидепресивну та репаративну дію / С.І. Мерзлікін, С.Ю. Штриголь, Д.Г. Подгайний та ін. – Заявка № 4 2008 12308; заявл. 20.10.2008; опубл. 10.03.2009. – Бюл. № 5. – С. 14.
- Соколюк Т.В. Дослідження антигіперглікемічних та антиагерогенних властивостей діакамфу на кролях за умов експериментального цукрового діабету 2 типу / Т.В. Соколюк, Н.І. Горбенко, Д.Г. Подгайний, С.І. Мерзлікін // Фармаком. – 2009. – №2. – С. 114–117.
- El-Azab A.S. Design and synthesis of novel 7-aminoquinazoline derivatives: Antitumor and anticonvulsant activities / A.S. El-Azab, K.E.H. ElTahir // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2012. – Vol. 22, №5. – P. 1879–1885.
- Wang Z. Design, synthesis and antiviral activity of novel quinazolinones / Z. Wang, M. Wang, X. Yao et al. // Eur. J. Med. Chem. – 2012. – Vol. 53. – P. 275–282.
- Mhaske S.B. The chemistry of recently isolated naturally occurring quinazolinone alkaloids / S.B. Mhaske, N.P. Argade // Tetrahedron. – 2006. – Vol. 62, №42. – P. 9787–9826.
- Ram V.J. Synthesis and antihyperglycemic activity of suitably functionalized 3H-quinazolin-4-ones / V.J. Ram, Farhanullah, B. Tripathi, A. Srivastava // Bioorg. Med. Chem. – 2003. – Vol. 11, №11. – P. 2439–2444.
- Гриценко І.С. Синтез похідних (±)1,2,2-триметилциклопентан-1,3-дикарбонової кислоти з хіназолін-4-оновим фрагментом / І.С. Гриценко, Є.О. Цапко // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2005. – Т. 3, вип. 1 (9). – С. 12–16.
- Гриценко І.С. Синтез, фізико-хімічні властивості 2-тіоксо та 2-оксо-1,2,3,4-тетрагідрохіназолін-4-онових похідних 1,2,2-триметилциклопентан-1,3-дикарбонової кислоти / І.С.Гриценко, Є.О. Цапко // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – 2006. – Вип. XV, Т. 1. – С. 76–82.
- Цапко Є.О. Синтез та діуретична активність похідних (±)1,2,2-триметил-3-(2-*R*-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідрохіназолін-3-іл-карбамоїл)-циклопентан-1-карбонової кислоти / Є.О. Цапко, І.С. Гриценко, О.А. Красильнікова, Н.Е. Бушля // Вісник фармації. – 2007. – Вип. 3 (51). – С. 12–17.
- Полторак В.В. Экспериментальное моделирование сахарного диабета для изучения специфического эффекта новых антидиабетических веществ: метод. рек. / В.В.Полторак, К.О.Блох, А.М. Малашенко. – Х., 1991. – 20 с.
- Пастушенко Т.В. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ / Т.В. Пастушенко, Л.Б. Маруший, А.А. Жуков, Ю.А. Пилипенко // Гигиена и санитария. – 1985. – №6. – С. 46–48.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – 52 p.

#### Відомості про авторів:

Цапко Є.О., к. фарм. н., асистент каф. неорганічної хімії НФаУ.  
Гриценко І.С., д. хім. н., професор, зав. каф. медичної хімії НФаУ.  
Малоштан Л.М., д. біол. н., професор, зав. каф. фізіології НФаУ.  
Тимошина І.О., асистент каф. фізіології НФаУ.  
Ситнік К.М., к. фарм. н., доцент каф. органічної хімії НФаУ.  
Яковлева Л.В., д. біол. н., зав. ЦНДЛ НФаУ.  
Шаповал О.М., к. біол. н., ст. наук. співробітник ЦНДЛ НФаУ.

Надійшла в редакцію 07.06.2013 р.