



Синтез біологічно активних сполук
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЧАСОПИС

<http://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/pharm-chas>



УДК 615.31:547.792'741'856.1'29'05:615.276.015.11
DOI <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.3.10468>

ЗАМІЩЕНІ 3-R-7,8-ДИГІДРО-2H-ПІРОЛО[1,2-a][1,2,4]ТРИАЗИНО[2,3-c]ХІНАЗОЛІН-5a(6H)-АЛКІЛКАРБОНОВІ КИСЛОТИ – ПЕРСПЕКТИВНИЙ КЛАС МАЛОТОКСИЧНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ АГЕНТІВ

**В. В. Ставицький¹, О. Ю. Воскобойнік¹, І. С. Носуленко¹, О. О. Клімова²,
О. А. Бражко², С. І. Коваленко¹**

Запорізький державний медичний університет¹

Запорізький національний університет²

v.v.stavytskyi@gmail.com

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції / Received:
05.09.2019

Після доопрацювання / Revised:
15.09.2019

Прийнято до друку / Accepted:
24.09.2019

Ключові слова:

3-R-7,8-дигідро-2H-піроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-5a(6H)-алкілкарбонів кислоти; гостра токсичність; карагеніновий набряк; протизапальна активність.

АНОТАЦІЯ

Мета роботи. Дослідження протизапальної активності та гострої токсичності оригінальних 3-R-7,8-дигідро-2H-піроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-5a(6H)-алкілкарбонівих кислот.

Матеріали і методи. Дослідження протизапальної активності проводили на моделі карагенінового набряку лапки білих щурів-самців лінії «Вістар» масою 140 – 220 г. Досліджувані речовини вводили перорально у вигляді водної суспензії (стабілізатор – Твін-80) за допомогою атравматичного зонда в дозі 25 мг/кг, натрію диклофенак – 10 мг/кг. Показники гострої токсичності досліджуваних сполук було спрогнозовано *in silico* (програмні пакети GUSAR і TEST) та встановлено *in vivo* на білих безпородних мишах обох статей масою 16 – 24 г. Синтезовані сполуки вводили одноразово внутрішньоочеревинно у вигляді тонкої суспензії у фізіологічному розчині, стабілізованій Твіном 80. Середньолетальні дози (LD_{50}) визначали за методом В. Прозоровського. Статистичну обробку даних проводили за загальноприйнятими підходами, використовуючи статистичний пакет програм «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc, № AXXR712D833214FAN5).

Результати й обговорення. Вивчення протизапальної дії похідних піроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хіназоліну показало, що досліджувані сполуки є високоактивними протизапальними агентами, які за рівнем дії конкурують або перевищують препарат порівняння натрію диклофенак. Найбільш активно виявилась 3-(3-метил-2,8-діоксо-7,8-дигідро-2H-піроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-5a(6H)-іл)пропанова кислота (5), яка за рівнем дії перевищує препарат порівняння більш ніж на 20 %. Результати вивчення гострої токсичності похідних піроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолінів, проведені методами *in silico* та *in vivo*, корелюють між собою. Внутрішньоочеревинне введення досліджуваних сполук білим безпородним мишам у дозах від 500 до 1500 мг/кг дозволило віднести їх до IV та V класу токсичності (малотоксичні та практично нетоксичні сполуки, згідно із класифікацією токсичності при парентеральних способах введення).

Висновки. Досліджено протизапальну активність та гостру токсичність серед оригінальних піроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолінів і встановлено, що більшість досліджуваних сполук мають виражену протизапальну дію при внутрішньошлунковому введенні та належать до практично нетоксичних

або малотоксичних сполук (IV-V клас). Обговорено взаємозв'язок «хімічна будова – протизапальна активність» і показано, що введення залишку пропанової кислоти в положення 5а зазначеної системи є виправданим у плані пошуку сполук з антиексудативною дією, а зазначені структури є перспективною групою для проведення подальшого спрямованого синтезу і фармакологічних досліджень із метою створення на їхній основі нових нестероїдних протизапальних засобів.

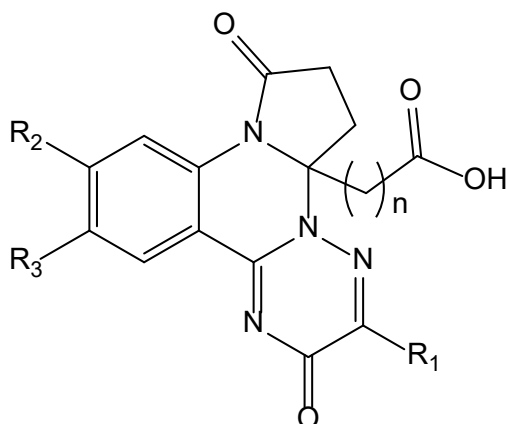
Вступ. На сьогодні нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) є однією з найбільш ефективних груп лікарських препаратів з характерною протизапальною, анальгетичною, антиревматоїдною та антипіретичною дією [1]. Поряд із запальними та ревматичними захворюваннями, НПЗЗ досить широко застосовуються практично у всіх галузях медицини, включно онкології і психіатрії [2]. Детальне вивчення молекулярних механізмів запалення і побічних ефектів НПЗЗ, а також розробка на цій основі нових препаратів, вважається одним з найбільш значущих досягнень фармакології кінця ХХ століття [1, 3]. Найбільш важливий механізм, який визначає ефективність і токсичність НПЗЗ, пов'язаний з пригніченням активності циклооксигенази (ЦОГ). На сьогодні найбільш відомі дві основні ізоформи ЦОГ: ЦОГ-1 і ЦОГ-2. У більшості тканин ЦОГ-1 у різній кількості присутня постійно і належить до категорії «структурних» ферментів, що регулюють фізіологічні ефекти простагландинів. ЦОГ-2 в нормі відсутня в більшості тканин, але її рівень істотно збільшується під час розвитку запалення. Ці дані дозволили створити концепцію, яка полягає в тому, що інгібування ЦОГ-2 розглядається як один з провідних механізмів протизапальної та анальгетичної дії НПЗЗ, тоді як пригнічення активності ЦОГ-1 веде до розвитку побічних реакцій [4]. Ось чому ефективність і токсичність більшості НПЗЗ, пов'язують насамперед із їхньою низькою селективністю, тобто здатністю однаковою мірою пригнічувати активність обох ізоформ ЦОГ. Однак, незважаючи на безперечну клінічну ефективність сучасних НПЗЗ, часом навіть короткочасний прийом

цих препаратів в терапевтичних дозах може призводити до розвитку ряду побічних реакцій [5], найпоширенішою серед яких є гастротоксичність [6]. Зазначене може бути пов'язано з тим фактом, що ЦОГ-2 бере участь не тільки в розвитку запальних реакцій, але і перебуває в якості «структурного» ферменту, який забезпечує нормальну функцію ряду органів. Отже, на сьогодні не існує абсолютно безпечних НПЗЗ, в тому числі і серед селективних інгібіторів ЦОГ-2, а синтезований уже понад 30 років тому натрію диклофенак все ще визнається «золотим» стандартом ефективності [7]. Таким чином, проблема створення нових препаратів, що мають високу протизапальну активність, селективність та кращі параметри безпеки, залишається актуальною.

Метою даної роботи є дослідження протизапальної активності та гострої токсичності оригінальних 3-R-7,8-дигідро-2H-піроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-5а(6H)-алкілкарбонових кислот як потенційних протизапальних агентів.

Матеріали і методи. Дослідження протизапальної дії та параметрів токсичності було проведено для ряду оригінальних піроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолінів **1-9** (рис. 1), які було синтезовано на кафедрі органічної і біоорганічної хімії Запорізького державного медичного університету (зав. кафедри – проф., д. фармацев. н. С. І. Коваленко). Будову сполук підтверджено даними елементного аналізу, ІЧ-, ¹H і ¹³C-ЯМР-, хромато-мас-спектрів [8].

Дослідження протизапальної активності проводилось на білих щурах-самцях лінії «Вістар» масою 140 – 220 г, які утримувалися в умовах віварію (з природ-



1. R₁=Me; R₂=H; R₃=H; n=0.
2. R₁=Ph; R₂=F; R₃=H; n=0.
3. R₁=Ph; R₂=H; R₃=F; n=0.
4. R₁=4-FC₆H₄; R₂=F; R₃=H; n=0.
5. R₁=Me; R₂=H; R₃=H; n=2.
6. R₁=Ph; R₂=H; R₃=H; n=2.
7. R₁=Ph; R₂=F; R₃=H; n=2.
8. R₁=4-FC₆H₄; R₂=H; R₃=H; n=2.
9. R₁=4-FC₆H₄; R₂=F; R₃=F; n=2.

Рис. 1. Структура 3-R-7,8-дигідро-2H-піроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін-5а(6H)-алкілкарбонових кислот.

ним режимом освітлення; при температурі 22 – 24 °C і відносній вологості повітря 40 – 50 %) на стандартному раціоні з вільним доступом до їжі та води. Всі дослідження відповідали умовам «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» [9, 10]. Експериментальну модель, а саме «карагеніновий» набряк лапки щурів, викликали субплантарним введенням 0,1 мл 1% водного розчину λ-карагеніну в тильну поверхню правої задньої кінцівки піддослідних та контрольних груп тварин [7, 11]. Досліджувані сполуки у вигляді суспензії вводили тваринам одноразово, внутрішньошлунково за допомогою голки з булавоподібним потовщенням у дозі 25 мг/кг маси (водна суспензія стабілізована Твіном 80), натщесерце за 1 год до введення флогогену. Препарат порівняння натрію диклофенак (ТМ «Диклак» SANDOZ, Словенія) вводили подібним чином у дозі 10 мг/кг маси. Контрольна група щурів отримувала еквівалентну кількість фізіологічного розчину з Твіном 80. Оцінку набряку проводили шляхом вимірювання об'єму стопи до введення флогогену, через дві, три та чотири години після його введення за допомогою плетизмометру згідно з описаними підходами [12]. Антиексудативна активність досліджуваних речовин визначається як здатність зменшувати розвиток набряку та обраховується за формулою:

$$A = 100\% - \frac{(M_{н.д.} - M_{з.д.}) \times 100}{M_{н.к.} - M_{з.к.}},$$

де А – антиексудативна активність, %; $M_{н.д.}$ – маса набряклої стопи в досліді; $M_{з.д.}$ – маса здорової стопи в досліді; $M_{н.к.}$ – маса набряклої стопи в контролі; $M_{з.к.}$ – маса здорової стопи в контролі.

Прогнозування гострої токсичності досліджуваних сполук проводилось *in silico* з використанням програмних пакетів (сервісів) GUSAR (General Unrestricted Structure-Activity Relationships) [13] і TEST [14, 15]. Експериментально гостра токсичність встановлена *in vivo* на білих безпородних мишах обох статей масою 16 – 24 г. Тварини утримувались на стандартному раціоні харчування віварію [9, 10]. Досліджувані сполуки вводили тваринам у вигляді суспензії (стабілізатор Твін-80) внутрішньоочеревинно у вигляді тонкої водної суспензії на фізіологічному розчині, в об'ємі не більше 1 мл. Контрольній групі тварин вводили фізіологічний розчин і з Твіном 80 в тому ж об'ємі, що і дослідним групам. Кожна група складалась з 8 тварин. Спостереження за тваринами проводили протягом 2 діб після одноразового введення речовин. Протягом цього часу спостерігали за поведінкою тварин, станом їхньої шкіри та слизових оболонок, нервовою збудливістю, кількістю живих і загиблих тварин. Середньолетальні дози (LD_{50}) визначали за методом В. Прозоровського [16].

Результати дослідження опрацьовували згідно із загальноприйнятими підходами за допомогою ста-

тистичного пакета програм «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc, №AXXR712D833214FAN5). Нормальність розподілу оцінювали за критерієм Kolmogorov – Smirnov (D) та Lilliefors, Shapiro-Wilk (W). У випадку розподілу відмінного від нормального чи аналізу порядкових змінних використовували Mann – Whitney U. Для двох непов'язаних вибірок і для більшого числа вибірок – критерій Kruskal – Wallis H із наступним порівнянням за Games – Howell. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при рівні значущості не менше ніж 0,05 [17].

Результати й обговорення. На етапі впровадження лікарських засобів одним із важливих критеріїв є встановлення порогу токсичності та нешкідливості, обґрунтування безпечних рівнів впливу на організм. Тобто, лікарські засоби повинні проявляти не тільки високу терапевтичну активність, але й не мати побічної дії. З врахуванням того, що такі експериментальні дослідження доволі дорогі, і крім того, їх постійно критикують з етичних міркувань, на сьогодні широко використовуються *in silico* методи визначення токсичності. Враховуючи зазначене, для попереднього встановлення параметрів безпеки нами проведено прогнозування токсичності з використанням програмного забезпечення GUSAR та TEST [13-15]. Результати розрахунків гострої токсичності з використанням зазначених сервісів показали, що нові похідні піроло[1,2-а][1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолінів можна віднести до малотоксичних речовин (табл. 1). Зазначене надало можливість вибрати безпечну дозу для попереднього скринінгу протизапальної активності.

Раніше нами показано, що сполуки, які містять триазино[2,3-с]хіназоліновий фрагмент, є носіями протизапальної активності. Так, для 3-(3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)алкілкарбонових кислот та їх похідних [18], а також 3'-R¹-спіро[(аза/окса/тіа)циклоалкіл-1(3,4),6'-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін]-2'(7H)-онів [19], описано антиексудативну дію, яка суттєво перевищувала ефект референс-препарату «Натрію диклофенаку». Отже, перспективним напрямком подальшого пошуку протизапальних агентів серед похідних зазначеної гетероциклічної системи є структурна модифікація, що спрямована на анелювання по ребру а піролідінового фрагменту з введенням до положення 5а ангулярної карбоксильної або карбоксиалкільної групи.

Для оцінки протизапальної активності досліджуваних сполук була обрана модель карагенінового набряку задньої лапи у щурів як класична модель для первинної оцінки протизапальної (антиексудативної) дії нових хімічних речовин. За результатами досліджень встановлено (табл. 2), що похідні піроло[1,2-а][1,2,4]триазино[2,3-с]хіназоліну (**1-9**) при введенні у дозі 25 мг/кг виявляють виражену протизапальну дію. Тобто, анелювання піролідінового циклу до триази-

Таблиця 1

Ймовірна токсичність досліджуваних сполук відповідно результатів дослідження *in silico*

Сполуки	Молекулярна маса	TEST		GUSAR			
		пероральне введення -lgLD ₅₀ [*] -lg (моль/кг)	пероральне введення LD ₅₀ [*] мг/кг	внутрішньо-очеревинне введення LD ₅₀ [*] мг/кг	внутрішньо-венне введення LD ₅₀ [*] мг/кг	пероральне введення LD ₅₀ [*] мг/кг	підшкірне введення LD ₅₀ [*] мг/кг
Натрію диклофенак	296,15	.*	.*	383,0	140,6	212,6	479,8
1	312,28	2,37	1338,8	1116,0	527,7	1941,0	824,0
2	374,35	2,88	497,0	447,9	461,6	2414,000	817,9
3	392,34	2,76	677,1	384,6	416,0	1344,000	995,8
4	410,33	2,43	1517,9	633,4	427,7	1775,000	540,8
5	340,33	2,38	1412,2	1025,0	215,2	1501,000	571,2
6	402,40	3,13	296,8	619,1	293,2	3094,000	666,7
7	420,39	2,83	625,1	804,7	352,5	895,700	605,5
8	420,39	2,62	1011,2	732,2	320,3	1382,000	651,9
9	456,37	2,69	929,2	728,2	420,3	1323,000	531,2

* – дослідження не проводилось.

нохіназолінової системи є виправданим у контексті пошуку сполук з протизапальною активністю. Проте введення ангулярної карбоксильної групи до положення 5а, не в усіх випадках приводить до високої активності. Зокрема встановлено, що 3-(3-метил-2,8-діоксо-7,8-дигідро-2H-піроло[1,2-а][1,2,4] триазино[2,3-с]хіназолін-5а(6H)-іл)карбонова кислота (**1**) у зазначеній дозі поступалась натрію диклофенаку. Заміна метильної групи у положення 2 (сполука **1**) на фенільну групу (**3**) та додаткове введення флуору у положення 11 гетероциклу приводить до незначного підвищення активності на 6,82% і зазначена сполука тільки конкурує з препаратом порівняння (табл. 2).

Найбільш виражена протизапальна дія спостерігалась при введенні ангулярної карбоксиетильної гру-

пи (сполуки **5**, **8**, **9**) до положення 5а гетероциклу. Так, 3-(3-метил-2,8-діоксо-7,8-дигідро-2H-піроло[1,2-а][1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-5а(6H)-іл)пропанова кислота (**5**) проявляла активність, яка перевищувала активність натрій диклофенаку на 20,16 %. Додаткова модифікація молекули шляхом заміни метильної групи (сполука **5**) положення 3 на 4-флуорофенільну (**8**, **9**) або додаткове введення флуору у положення 10, 11 (**9**) гетероциклу не приводить до посилення активності. Проте, сполуки **8** та **9** перевищують активність препарату порівняння на 9,06 % та 19,57 %, відповідно. Встановлено, що 3-R-7,8-дигідро-2H-піроло[1,2-а][1,2,4] триазино[2,3-с]хіназолін-5а(6H)-пропанові кислоти є перспективною групою протизапальних агентів для проведення подальшого спрямованого синтезу і

Таблиця 2

Протизапальна активність та гостра токсичність досліджуваних сполук *in vivo* (n=8)

Сполуки	Доза, мг/кг	A, %	LD ₅₀ [*] мг/кг	Клас токсичності	Ступінь токсичності
Натрію диклофенак	10,0	61,09	53*	III	Помірно токсичний
1	25,0	57,90	>1500	V	Практично нетоксичні
3	25,0	64,72	>1500	V	Практично нетоксичні
4	25,0	75,77	770±122	IV	Малотоксичні
5	25,0	81,25	>1500	V	Практично нетоксичні
8	25,0	69,15	714±56	IV	Малотоксичні
9	25,0	79,66	624±83	IV	Малотоксичні

* – згідно з даними літератури [21].

фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі нових НПЗЗ.

Результати експериментального дослідження гострої токсичності сполук **1-9** при внутрішньоочеревинному введенні мишам наведено в таблиці 2. Встановлено, що LD_{50} оригінальних піроло[1,2-а][1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолінів (1-9) знаходиться у інтервалах 624 – >1500 мг/кг. Одержані дані дозволяють віднести їх до практично нетоксичних або малотоксичних сполук (IV-V клас) [21]. Слід також зазначити, що різниця між показниками гострої токсичності, які розраховані як *in silico*, так і досліджені *in vivo* методами (табл. 1 та 2), корелюють між собою. Це вказує на перспективність використання комп'ютерного прогнозу гострої токсичності при подальших дослідженнях та дизайні нових біологічно активних сполук.

Аналіз даних взаємозв'язку «структура – гостра токсичність» показав, що заміна карбоксильної групи в положенні 5а на етилкарбоксильний фрагмент практично не впливає на показники гострої токсичності, хоча при цьому у ряді випадків веде до суттєвого підвищення протизапальної дії. Водночас показано, що сполуки, які містять в положенні 3 4-флуорофенільний фрагмент, проявляють значно вищу гостру токсичність порівняно з іншими речовинами.

Висновки. 1. Оцінка антиексудативної активності серед невідомих піроло[1,2-а][1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолінів на моделі карагенінового набряку стопи в щурів показала наявність суттєвої протизапальної активності. Найбільш виражену дію проявила 3-(3-метил-2,8-діоксо-7,8-дигідро-2H-піроло[1,2-а][1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-5а(6H)-іл)пропанова кислота (5), яка зменшувала експериментальний карагеніновий набряк на 81,25 % і за ефектом перевищувала дію натрію диклофенаку більш ніж на 20 %.

2. Комплекс проведених досліджень із вивчення гострої токсичності похідних піроло[1,2-а][1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолінів показав їхню невисоку токсичну дію при внутрішньоочеревинному шляху введення. Згідно із класифікацією речовин за токсичністю досліджувані сполуки належать до практично нетоксичних або малотоксичних сполук (IV-V клас).

3. Оргінальні 3-R-7,8-дигідро-2H-піроло[1,2-а][1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-5а(6H)-(алкіл-)пропанові кислоти є перспективною групою протизапальних агентів для проведення подальшого спрямованого синтезу і поглиблених фармакологічних досліджень з метою створення на їхній основі нових нестероїдних протизапальних засобів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

SUBSTITUTED 3-R-7,8-DIHYDRO-2H-PYRROLO[1,2-a][1,2,4]TRIAZINO[2,3-c]QUINAZOLIN-5a-(6H)-ALKYL-CARBOXYLIC ACIDS – PROMISING CLASS OF LOW-TOXIC ANTI-INFLAMMATORY AGENTS

V. V. Stavitskiy¹, O. Yu. Voskoboinik¹, I. S. Nosulenko¹, O. O. Klimova², O. A. Brazhko², S. I. Kovalenko¹

Zaporizhzhia State Medical University¹

Zaporizhzhia National University²

v.v.stavytskyi@gmail.com

The aim of the work. Evaluation of the anti-inflammatory activity and acute toxicity of new 3-R-7,8-dihydro-2H-pyrrolo[1,2-a][1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-5a (6H)-alkyl-carboxylic acids as potential anti-inflammatory agents.

Materials and Methods. The study of anti-inflammatory activity was conducted on a model of carrageenan-induced paw edema on white male Wistar rats weighing 140–220 g. The tested compounds were administered orally using an atraumatic probe at a dose of 25 mg/kg, sodium diclofenac was used as reference drug and was administered in dose 10 mg/kg. The acute toxicity of the studied compounds was predicted by *in silico* methods (GUSAR and TEST software packages), as well, as evaluated experimentally on outbred white mice of both sexes weighing 16–24 g. The synthesized compounds were administered intraperitoneally in the form of a fine suspension in physiological saline, which was stabilized by Tween 80. Median lethal doses (LD_{50}) were determined by the Prozorovsky method. Statistical processing was conducted by appropriate approaches using the STATISTICA® for Windows 6.0 software (StatSoft Inc, No. AXXR712D833214FAN5).

Results and Discussion. The study of the anti-inflammatory activity of pyrrolo[1,2-a][1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolines derivatives showed that the studied compounds are highly active anti-inflammatory agents, that compete or exceed activity of reference drug “Sodium diclofenac”. The most active was 3-(3-methyl-2,8-dioxo-7,8-dihydro-2H-pyrrolo[1,2-a][1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-5a(6H)-yl)propanoic acid (5) which by the level of pharmacological effect exceeded reference drug by more than 20 %. The results of *in silico* and *in vivo* study of the pyrrolo[1,2-a][1,2,4]triazino[2,3-c]quinazoline derivatives acute toxicity showed their mutual correlation. Intraperitoneal administration of the studied compounds to white mice at doses of 500 to 1500 mg/kg allowed assigning them to toxicity classes IV and V (low-toxic and practically non-toxic compounds, respectively, classification of toxicity with parenteral routes of administration).

Conclusions. The anti-inflammatory activity and acute toxicity of new pyrrolo[1,2-a][1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolines were studied. It was found that most of the studied compounds exhibit significant anti-inflammatory activity being low-

toxic or practically non-toxic (IV-V class). "Chemical structure – anti-inflammatory activity" relationship analysis showed, that the introduction of propanoic acid moiety in position 5a may be considered as rational approach for search for new anti-inflammatory agents. Described compounds are a promising group for further purposeful synthesis and in-depth pharmacological studies aimed at creating new non-steroidal anti-inflammatory drugs.

Key words: 3-R-7,8-dihydro-2H-pyrrolo[1,2-a][1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-5a(6H)-alkyl-carboxylic acids; acute toxicity; carrageenan-induced edema; anti-inflammatory activity.

ЗАМЕЩЕННЫЕ 3-R-7,8-ДИГИДРО-2H-ПИРРОЛО[1,2-a][1,2,4]ТРИАЗИНО[2,3-c]ХИНАЗОЛИН-5a(6H)-АЛКИЛКАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ КЛАСС МАЛОТОКСИЧНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ АГЕНТОВ

В. В. Ставицкий¹, О. Ю. Воскобойник¹, И. С. Носуленко¹, Е. А. Климова², А. А. Бражко², С. И. Коваленко¹

Запорожский государственный медицинский университет¹

Запорожский национальный университет²

v.v.stavytskyi@gmail.com

Цель работы. Исследование противовоспалительной активности и острой токсичности новых 3-R-7,8-дигидро-2H-пирроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хиназолин-5a(6H)-алкилкарбоновых кислот.

Материалы и методы. Исследование противовоспалительной активности проводили на модели каррагенинового отека лапки белых крыс-самцов линии «Вистар» массой 140 – 220 г. Исследуемые соединения вводили перорально в виде суспензии (стабилизатор – Твин 80) с помощью атравматического зонда в дозе 25 мг/кг, натрия диклофенака – 10 мг/кг. Показатели острой токсичности исследованных соединений спрогнозированы методами *in silico* (программные пакеты GUSAR и TEST), а также определены экспериментально на белых беспородных мышах обоих полов весом 16 – 24 г. Синтезированные соединения вводили внутривентриально в виде тонкой суспензии в физиологическом растворе, которая была стабилизирована Твином 80. Среднелетальные дозы (LD_{50}) определяли по методу В. Прозоровского. Статистическую обработку проводили в соответствии с общепринятыми подходами с помощью программ «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc, № AXXR712D833214FAN5).

Результаты и обсуждение. Исследование противовоспалительной активности производных пирроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хиназолинов показало, что исследуемые соединения являются высокоактивными противовоспалительными агентами, которые по уровню фармакологического эффекта конкурируют или превышают препарат сравнения натрия диклофенак. Наиболее активным соединением оказалась 3-(3-метил-2,8-диоксо-7,8-дигидро-2H-пирроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хиназолин-5a(6H)-ил)пропановая кислота (**5**), которая по уровню фармакологического эффекта превышала препарат сравнения более чем на 20 %. Результаты изучения острой токсичности производных пирроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хиназолина, проведенных методами *in silico* и *in vivo*, коррелируют между собой. Внутривентриальное введение исследуемых соединений белым беспородным мышам в дозах 500 до 1500 мг/кг позволило отнести их к IV и V классу токсичности (малотоксичные и практически нетоксичные соединения, соответственно классификации токсичности при парентеральных способах введения).

Выводы. Исследовано противовоспалительную активность и острую токсичность оригинальных пирроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хиназолинов и установлено, что большинство из исследуемых соединений проявляют выраженную противовоспалительную активность при внутрижелудочном введении и относятся к малотоксичным и практически нетоксичным соединениям (IV-V класс). В рамках анализа взаимосвязи «химическая структура-противовоспалительная активность» показано, что введение в положение 5a остатка пропановой кислоты до отмеченной системы является оправданным в контексте поиска новых противовоспалительных агентов, а описанные соединения являются перспективной группой для проведения дальнейшего направленного синтеза и фармакологического скрининга с целью создания новых нестероидных противовоспалительных средств.

Ключевые слова: 3-R-7,8-дигидро-2H-пирроло[1,2-a][1,2,4]триазино[2,3-c]хиназолин-5a(6H)-алкилкарбоновые кислоты; острая токсичность; каррагениновый отек; противовоспалительная активность.

Список літератури

1. Anti-Inflammatory Drug Discovery RSC Drug Discovery Series No. 26 / Edited by Jeremy I Levin and Stefan Laufer // Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2012. – P. 528.
2. Насонов Е. Л. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов и ингибиторов циклооксигеназы-2 в начале XXI века / Е. Л. Насонов // Русский медицинский журнал. – 2003. – Т.11. – № 7. – С. 375 – 378.

- Simon D. L. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition / D. L. Simon, R. M. Botting // *Pharmacol. Rev.* – 2004. – Vol. 56. – P. 387–437.
- Warner T. D. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic/ T. D. Warner, J. A. Mitchel // *FASEB J.* – 2004. – Vol. 18. – P. 790–804.
- Балабанова Р. М. Влияние селективных ингибиторов ЦОГ 2 на сердечно-сосудистую систему при ревматических заболеваниях / Р. М. Балабанова // *Современная ревматология.* – 2010. – № 2. – С. 88 – 93.
- Feuba D. A. Gastrointestinal safety and tolerability of non selective nonsteroidal antiinflammatory agents and cyclooxygenase 2 selective inhibitors / D. A. Feuba // *Cleveland Clinic J. Med.* – 2002. – Vol. 69. – P. 31–39.
- Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / ред. О. В. Стефанов. – Київ : Авіцена, 2001. – С. 528.
- Патент України на винахід № 118196 МПК (2009) C07D 253/00 (2006/01), C07D 253/10 (2006/01). Піроло[1,2-а][1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназоліни та ізоіндоло[2,1-а][1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназоліни / Воскобойник О. Ю., Коваленко С. І., Малкова Т. С., Ставицький В. В. (UA). – Заявл. 08.02.2016 ; опубл. 10.12.2018, Бюл. № 1.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. — Strasbourg: Council of Europe, 1986. – No. 123. – 51 p.
- Загальноетичні принципи експериментів на тваринах // *Ендокринологія.* – 2003. –Т. 8, № 1. – С. 142 – 145.
- Models of inflammation: Carrageenan- or Complete Freund's Adjuvant (CFA)-induced edema and hypersensitivity in the rat / J. C. Fehrenbacher, M. R. Vasko, D. B. Duarte // *Current Protocols in Pharmacology.* – 2012. – Vol. 56 (1). – P. 5.4.1–5.4.4. doi:10.1002/0471141755.ph0504s56.
- A simple, sensitive and accurate method for rat paw volume measurement and its expediency in preclinical animal studies / N. Shejawal, S. Menon, S. Shailajan // *Human and Experimental Toxicology.* – 2014. – Vol. 33 (2). – P. 123–129.
- Веб-сервіс для прогнозування гострої токсичності сполук для ссавців [Електронний ресурс]. – URL : <http://www.pharmaexpert.ru/GUSAR/acutoxpredict.html>
- Molecular informatics / A. Lagunin, A. Zakharov, D. Filimonov, V. Poroikov. – 2011. – Vol. 30. – P. 241–250.
- PaDEL-Descriptor: An open source software to calculate molecular descriptors and fingerprints / C. W. Yap // *J. Comput. Chem.* – 2011. – Vol. 32. – P. 1466–1474.
- Прозоровский В. Б. Экспресс-метод определения средней эффеkтивной дозы и ее ошибки / В. Б. Прозоровский, М. П. Прозоровская, В. М. Демченко // *Фармакология и токсикология.* – 1978. – № 4. – С. 497.
- Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. – М. : МедиаСфера, 2006. – 312 с.
- Дослідження та характеристика протизапальної активності натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)алкілкарбоксилатів та їх галогеновмісних аналогів / В. В. Якубовська, Н. М. Серединська, О. Ю. Воскобойник [та ін.] // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2016. – № 1(20). – С. 60 – 66. DOI: 10.14739/2409-2932.2016.1.62036.
- Desing, synthesis and anti-inflammatory activity of derivatives 10-*R*-3-aryl-6,7-dihydro-2*H*-[1,2,4]тріазино[2,3-с]quinazolin-2-ones of spiro-fused cyclic frameworks / O. Kolomoets, O. Voskoboynik, O. Antypenko [et al.] // *Acta Chim. Slov.* – 2017. – Vol. 64, No. 4. – P. 902–910. DOI: 10.17344/acsi.2017.3575.
- Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К. К. Сидоров // *Токсикология новых промышленных химических веществ.* – М., 1973. – Вып. 13. – С. 47–57.
- British Pharmacopeia / Safety data sheet according to 1907/2006/EC, Article 31, Printing date 01.05.2013

References

- Levin JI, Laufer, editors. *Anti-Inflammatory Drug Discovery RSC Drug Discovery Series No. 26.* Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2012.
- Nasonov EL. Application of non-steroid anti-inflammatory drugs and inhibitors of COX-2 in the beginning of 21 century. *Russky medycynsky zhurnal.* 2003;11(7): 375-8. Russian.
- Simon DL, Botting RM. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev.* 2004;56: 387-437.
- Warner TD, Mitchel JA Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J.* 2004;18: 790-804.
- Balabanova RM. Effect of selective COX-2 inhibitors on cardio-vascular system at reumathoic diseases. *Sovremennaya revmatologiya.* 2010;2; 88-93. Russian.
- Feuba DA. Gastrointestinal safety and tolerability of non selective nonsteroidal antiinflammatory agents and cyclooxygenase 2 selective inhibitors. *Cleveland Clinic J Med.* 2002; 69№: 31-9.
- Stefanov OV., editor. Pre-clinical study of drugs (methodical recommendation). [Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації)] Київ: Avitsena; 2001. Ukrainian.
- Voskoboynik OY, Kovalenko SI, Malkova TS, Stavitskiy VV. inventors; ZSMU, assignee. Pyrrolo[1,2-а][1,2,4]тріазино[2,3-с]quinazolines and isoindolo[2,1-а][1,2,4]тріазино[2,3-с]quinazolines. Ukraine patent 118196; 2018 Dec 10.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe, Act of 1986, Pub.

- No 123, 51.
- Principles of general ethics for experiments on animals. *Endokrynolohiia*. 2003;8(1): 142-5. Ukrainian.
 - Fehrenbacher JC, Vasko MR, Duarte DB. Models of Inflammation: Carrageenan- or Complete Freund's Adjuvant (CFA)-Induced Edema and Hypersensitivity in the Rat. *Current Protocols in Pharmacology*. 2012;56(1): 5.4.1–5.4.4. doi:10.1002/0471141755.ph0504s56.
 - Shejawal N, Menon S, Shailajan S. A simple, sensitive and accurate method for rat paw volume measurement and its expediency in preclinical animal studies. *Human and Experimental Toxicology*. 2014;33(2): 123- 9.
 - Pharmaexpert.ru [Internet]. Service for prediction of acute toxicity. Available from: www.pharmaexpert.ru
 - Lagunin A, Zakharov A, Filimonov D, Poroikov V. *Molecular Informatics*; 2011;
 - Yap CW. PaDEL-Descriptor: An open source software to calculate molecular descriptors and fingerprints. *J. Comput. Chem*. 2011;32: 1466-74.
 - Prozorovskiy VB, Prozorovskaya MP, Demchenko VM. Express-method for evaluation of maen effective dose and it deviation. *Farmakologiya i toksykologiya*. 1978;4: 497. Russian.
 - Rebrova OYu. Statistical analysis of medical data. Application of Statistica software. [Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica] Moscow: MediaSfera; 2006. Russian.
 - Yakubovska VV, Seredynska NM, Voskoboinik OY, Stepaniuk HI, Kovalenko SI. Evaluation and characteristic of sodium (3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)alkylcarboxylates and their halogen-containing analogues. *Aktualni pytannia farmatsevtichnoi i medychnoi nauky ta praktyky*. 2016;1(20): 60-6. DOI: 10.14739/2409-2932.2016.1.62036.
 - Kolomoets O, Voskoboinik O, Antypenko O, Berest G, Nosulenko I, Palchikov V, Karpenko O, Kovalenko S. Desing, synthesis and anti-inflammatory activity of derivatives 10-R-3-aryl-6,7-dihydro-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-2-ones of spiro-fused cyclic frameworks. *Acta Chim. Slov*. 2017; 64(4): 902-10. DOI: 10.17344/acsi.2017.3575.
 - Sydorov KK. About classification of toxic compounds toxicity at parenteral administration. *Toksykologiya novykh promyshlennykh khymycheskykh veshchestv*. 1973;13: 47-57. Russian.
 - British Pharmacopeia Safety data sheet according to 1907/2006/EC Act of 2013

Відомості про авторів:

Ставицький В. В. – аспірант кафедри органічної і біоорганічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна, E-mail: v.v.stavytskyi@gmail.com, ORCID 0000-0001-5897-5845

Воскобойнік О. Ю. – д. фармац. н., доцент кафедри органічної і біоорганічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна, E-mail: a.yu.voskoboinik@gmail.com, ORCID 0000-0002-5790-3564

Носулєнко І. С. – канд. фармац. н., старший викладач кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна, E-mail: nosulinna@mail.ru, ORCID 0000-0002-8725-7321

Клімова О. О. – канд. біол. н., старший викладач кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини, Запорізький національний університет, Запоріжжя, Україна, E-mail: hellen.brazhko@gmail.com, ORCID 0000-0003-3568-9103

Бражко О. А. – д. біол. н., професор, завідувач кафедри хімії, завідувач лабораторії біотехнології фізіологічно активних речовин, Запорізький національний університет, Запоріжжя, Україна, E-mail: hellen.brazhko@gmail.com, ORCID 0000-0002-5212-2689

Коваленко С. І. – д. фармац. н., професор, завідувач кафедри органічної і біоорганічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна, E-mail: kovalenkosergiy@gmail.com, ORCID 0000-0001-8017-9108

Information about the authors:

Stavytskyi V. V. – PhD-student of the Department of Organic and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine, E-mail: v.v.stavytskyi@gmail.com, ORCID 0000-0001-5897-5845

Voskoboinik O. Yu. – DS (Pharmacy), Associate Professor of the Department of Organic and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine, E-mail: a.yu.voskoboinik@gmail.com, ORCID 0000-0002-5790-3564

Nosulenko I. S. – PhD (Pharmacy), Senior Lecturer of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine, E-mail: nosulinna@gmail.ru, ORCID 0000-0002-8725-7321

Klimova O. O. – PhD (Biology), Senior Lecturer of the Department of Physiology, Immunology and Biology, with a course of Civil Medicine, Zaporizhzhia National University, Zaporizhzhia, Ukraine, E-mail: hellen.brazhko@gmail.com, ORCID 0000-0003-3568-9103

Brazhko O. A. – DS (Biology), Professor, Head of the Department of Chemistry, Head of the Laboratory for Biotechnology of Physiologically Active Substances, Zaporizhzhia National University, Zaporizhzhia, Ukraine, E-mail: hellen.brazhko@gmail.com, ORCID 0000-0002-5212-2689

Kovalenko S. I. – DS (Pharmacy), Professor, Head of the Department of Organic and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine, E-mail: kovalenkosergiy@gmail.com, ORCID 0000-0001-8017-9108