УДК 615. 21:547. 831+547. 856.1

ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ, АНТИОКСИДАНТНА І РАНОЗАГОЮЮЧА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ ХІНАЗОЛІНУ ТА ХІНОЛІНУ

Бєленічев І.Ф., к.фарм.н.,ст. викладач, Коваленко С.І., к.фарм.н, доцент, *Бражко О.А., к.фарм.н, доцент, Карпенко О.В., студент, Стець В.Р., д.мед.н., професор, Синяк Р.С., д.фарм.н., професор

**Запорізький державний університет*
Запорізький державний медичний університет

Відомо, що результатом пошкоджень тканин є виникнення запального процесу в рані. Цей процес супроводжується активацією перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), накопиченням продуктів його метаболізму і, у подальшому, призводить до руйнування клітинних мембран. Вищенаведені фактори не тільки подовжують запальну стадію, але й гальмують процеси фібрилогенезу і проліферації фібропластів, тобто запобігають процесу регенерації. Виходячи з цього, раціональним у вищенаведених випадках є застосування антиоксидантів [1, 2, 3, 4].

Таким чином, пошук сполук з ранозагоюючою активністю поміж похідних хіназоліну та хіноліну, серед яких виявлені високоефективні антиоксиданти [5, 6, 7, 8], є актуальним.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження гострої токсичності синтезованих сполук проводили на інтактних дорослих двостатевих мишах вагою 18-24 г. Сполуки, розчинені у фізіологічному розчині або у вигляді 3-5% водної суспензії, стабілізованої твіном-80, вводили внутрішньочеревинно. Контрольній групі тварин вводили фізіологічний розчин або твін-80 у тій же кількості, що й основній групі. Спостереження за тваринами проводили протягом 14 днів після одноразового введення речовин. Протягом всього періоду введення спостерігали за поведінкою тварин, станом їх шкіри та слизистих оболонок, нервовою збудливістю. Кількість живих і загиблих тварин рахувалась кожні 24 години. Середню летальну дозу ($ЛД_{50}$) визначали за методом Прозоровського [9, 10].

Дослідження ранозагоюючої активності проводили на двостатевих щурах вагою 140-200 г. Після депіляції ділянки шкіри на спині щура її обробляли 70% спиртом. На цю ділянку наносили дві лінійні рани на глибину близьколежачих м'язів. Синтезовані сполуки вводили один раз на добу в дозі 1/20 $ЛД_{50}$. Еталонами порівняння служили калію оротат, метилурацил, які вводили в дозах 100, 25 мг/кг ваги тварин відповідно. Контрольна група щурів отримувала фізіологічний розчин. Вивчення міцності рубця проводили на 5-й день ранотензіометрично [11].

Антиоксиданту активність синтезованих сполук визначали в умовах ініціювання вільно-радикальних процесів in vitro. Оцінку антиоксидантної активності (АОА) сполук у дослідах in vitro проводили на моделі ферментативного ініціювання ПОЛ. Ініціювання ПОЛ проводили в гомогенаті мозкової тканини білих щурів лінії Вістар, у який додавали надлишок нікотинамідаденіндинуклеотиду фосфату відновленого (НАДФ×Н) [12,13].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз результатів дослідження, наведених у таблиці 1, показав, що гостра токсичність синтезованих сполук знаходиться в межах 171-3290 мг/кг.

Нами встановлено, що на величину гострої токсичності впливає характер замісників у хіназоліновому та хіноліновому ядрі. Так, 3-(п-R-фенацил)хіназолін-(3Н)-4-они (1.1-1.2) малотоксичні сполуки. Їх $ЛД_{50}$ знаходиться в межах 560-590 мг/кг. Введення нітрогрупи в положення шість хіназолонового ядра призводить до незначного підвищення токсичності сполук 1.3, 1.4 (табл. 1).

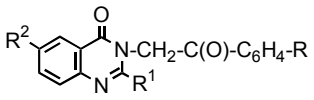
3Н-Хіназолон-4-іл-3-оцтова кислота (2.1) – практично не токсична сполука, її $ЛД_{50}$ - 2180 мг/кг. Введення нітрогрупи в положення шість анельованого бензольного кільця підвищує токсичність у 3 рази. Так, 6-нітро-(3Н)-хіназолон-4-іл-3-оцтова кислота (2.6) малотоксична сполука, її $ЛД_{50}$ - 865 мг/кг (табл. 1).

Гостра токсичність солей (3Н)-хіназолон-4-іл-3-карбонових кислот загалом визначається наявністю того чи іншого катіону (табл. 1). До малотоксичних речовин відносяться натрієві (2.2, 2.7) солі

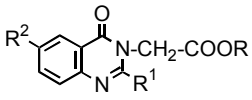
вищезазначених кислот. Необхідно відмітити, що токсичність амонійних солей залежить від будови аміну. Так, солі аліфатичних амінів (моноетаноламін) (3Н)-хіназолон-4-іл-3-карбонових кислот (2.3, 2.8) відносно нешкідливі речовини (табл. 1). Одержання солей з гетероциклічними амінами (морфолін, піперидин) приводить до підвищення токсичності сполук 2.4, 2.5 у 4-10 разів, тобто вони відносяться до малотоксичних речовин.

Необхідно відмітити, що гостра токсичність відповідних S-фенацильних похідних 4-тіохіназоліну (3.1-3.3) значно менша у порівнянні з такою в 3-(п-R-фенацил)хіназолін-(3Н)-4-онів (1.1-1.4). Їх $ЛД_{50}$ дорівнює 1410-1780 мг/кг ваги щурів. Крім цього, S-фенацильні похідні 4-тіохіназоліну (3.1-3.3) менш токсичні за відповідні 4-(п-R-фенацил)тіохіноліни (3.4, 3.5; $ЛД_{50}$ - 171-185 мг/кг) Тобто, введення до гетероциклічної системи хіноліну атому азоту замість вуглецю в положення 3 (хіназолін) призводить до значного зниження токсичності (практично нетоксичні). Замісники у пара-положенні фенацильного залишку значно не впливають на зміну токсичності (1.1-1.4, 3.4, 3.5).

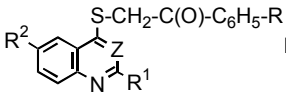
Таблиця 1 – Гостра токсичність похідних хіназоліну та хіноліну



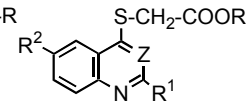
1.1-1.4



2.1-2.8



3.1-3.5



4.1-4.8

№№ сполук	R	R^1	R^2	Z	Гостра токсичність
1.1	Br	H	H	–	560
1.2	NO_2	H	H	–	590
1.3	Br	H	NO_2	-	480
1.4	NO_2	H	NO_2	-	395
2.1	H	H	H	-	2180
2.2	Na	H	H	–	379
2.3	моноетаноламоній	H	H	–	3290
2.4	піперидиній	H	H	–	815
2.5	морфоліній	H	H	–	282
2.6	H	H	NO_2	-	865
2.7	Na	H	NO_2	-	890
2.8	моноетаноламоній	H	NO_2	-	2800
3.1	H	H	H	N	1780
3.2	Br	H	H	N	1410
3.3	NO_2	H	H	N	1540
3.4	H	CH_3	OCH_3	CH	171
3.5	NO_2	CH_3	OCH_3	CH	185
4.1	H	H	H	N	410
4.2	Na	H	H	N	547
4.3	піперидиній	H	H	N	515
4.4	морфоліній	H	H	N	410
4.5	H	CH_3	OCH_3	CH	810
4.6	Na	CH_3	OCH_3	CH	815
4.7	піперидиній	CH_3	OCH_3	CH	652
4.8	морфоліній	CH_3	OCH_3	CH	395

Хіназоліл-4-тіооцтова кислота (2.1) - малотоксична сполука, її $ЛД_{50}$ - 410 мг/кг. Але її токсичність значно вища, ніж у відповідних фенацильних похідних хіназолінтіону-4 (1.1-1.3). Для 2-метил-6-метоксихіноліл-4-тіоцтової кислоти (2.5) характерна протилежна залежність, тобто введення залишку тіогліколівої кислоти в положення 4 хіноліну призводити до пониження токсичності в порівнянні з самими фенацильними похідними (3.4, 3.5).

Для гострої токсичності солей хіназоліл-4-тіооцтової кислоти (2.2-2.4) та 2-метил-6-метоксихіноліл-4-тіоцтової кислоти (2.6-2.8) характерна подібна залежність, що й у випадку токсичності солей (3Н)-хіназолон-4-іл-3-карбонових кислот (2.1-2.8). Тобто, гостра токсичність також визначається наявністю того чи іншого катіону (табл. 1). До малотоксичних речовин відносяться натрієві (2.2, 2.6) та піперидинієві (2.3, 2.7) солі вищенаведених кислот. Необхідно відмітити, що токсичність амонійних

солей залежить від будови аміну. Так, солі некисневмісних амінів (піперидин) (2.3, 2.7) хіназоліл-4-(хіноліл-4)-тіооцтових кислот практично нетоксичні та відносно нешкідливі речовини. Одержання солей з морфоліном призводить до підвищення токсичності сполук 2.4, 2.8 у 1,25-1,65 разу (табл. 1).

Дослідження похідних хіназоліну та хіноліну на антиоксиданту і ранозагоюючу активність показали, що всі синтезовані сполуки впливають на процеси ферментативного ініціювання ПОЛ та тією чи іншою мірою стимулюють процеси репаративної регенерації (табл. 2).

Встановлено, що 3-(п-R-фенацил)хіназолін-(3Н)-4-они (1.1-1.4) на цій моделі ініціювання є малоактивними: їх АОА значно нижче ніж в еталонів порівняння (метіонін, унітіол). S-фенацильні похідні хіназоліну (3.1-3.3) також малоактивні сполуки. Вони практично (сполука 3.2) або незначно (3.1, 3.3) впливають на процеси перекисного окислення ліпідів. Винятком є похідні тіохіноліну (3.4, 3.5), які перевищують активність унітіолу на 5,6-7,9% (табл. 2). Крім того, результати дослідження ранозагоюючої активності сполуки 3.3 показали, що вона практично не впливає на процеси репарації. Тобто її ранозагоююча активність нижче еталонів порівняння (калія оротат, метилурацил) (табл. 2).

Таблиця 2 – Антиоксидантна і ранозагоююча активність похідних хіназоліну та хіноліну

№№ сполук	Антиоксидантна активність у дослідах in vitro при НАДФ×Н-залежному ПОЛ (ферментативне ініціювання)*		Ранозагоююча активність	%
	МДА, ммоль/мл	АОА,%		
Контроль	1,32±0,01	–	320±14,8	100
Інтакт	0,26±0,03	–	–	–
1.1	1,17±0,05	11,4	–*–	–
1.2	1,13±0,04	14,4	–*–	–
1.3	1,13±0,02	14,4	–*–	–
1.4	1,11±0,04	15,9	–*–	–
2.1	1,22±0,03	7,6	345±12,3	107,8
2.2	0,90±0,01	31,8	506±21,3	158,1
2.3	0,84±0,005	36,4	601±21,0	187,8
2.4	1,02±0,02	22,7	–*–	–
2.5	1,10±0,01	16,6	346±13,5	108,1
2.6	0,90±0,03	31,8	423±8,0	132,2
2.7	0,72±0,01	45,4		
2.8	0,60±0,01	54,5	454±11,6	142,1
3.1	1,24±0,01	6,1	–*–	–
3.2	1,32±0,02	0	–*–	–
3.3	1,19±0,006	9,8	345±23,3	107,8
3.4	1,00±0,05	24,2	–*–	–
3.5	0,97±0,05	26,5	–*–	–
4.1	0,21±0,03	84,1	449±46,5	140,3
4.2	–*–	–	460±25,1	143,8
4.3	0,18±0,04	86,4	–*–	–
4.4	0,43±0,05	67,4	–*–	–
4.5	0,73±0,05	46,1	346±11	108,1
4.6	0,93±0,05	29,5	346±11	108,1
4.7	–*–	–	397±10	124,1
4.8	–*–	–	341±14	106,6
Метіонін	1,03±0,042	16,2	–*–	–
Унітіол	1,00±0,066	18,6	–*–	–
Контроль	1,23±0,04	–	–	–
Калія оротат	–*–	–	393±12,6	122,8
Метилурацил	–*–	–	426±28	133,2

Примітка: * – досліджені сполуки при ферментативному ініціюванні ПОЛ визначали в дозах 0,38 мкмоль/мл; метіонін, унітіол – у дозах 0,76; 0,76; 0,15 мкг/мл відповідно;
–*– сполуки 1.1-1.4, 2.4, 3.1, 3.2, 3.4, 3.5, 4.3, 4.4 на даний вид активностей не вивчались.

Введення в положення 3 4(3Н)-хіназолону залишку оцтової кислоти (2.1) приводить до появи незначної АОА. Тоді як АОА 6-нітро-(3Н)-хіназолон-4-іл-3-оцтової кислоти (2.6) на моделі ферментативного ініціювання ПОЛ більш виражена. Так, 6-нітро-(3Н)-хіназолон-4-іл-3-оцтова кислота (2.6) за своєю ефективністю перевищує АОА сполук 1.1-1.4, 2.1, а також метіонін на 15,6% (табл. 2). Але необхідно зазначити, що хіназоліл-4-(хіноліл-4)-тіооцтові кислоти (4.1, 4.5) проявляють більш виражену АОА, в порівнянні з сполуками 3.1-3.5 та своїми кисневмісними аналогами (2.1). Так, сполука 4.1 перевищує активність унітіолу на 65,5% (табл. 2). Відповідна залежність характерна також для ранозагоюючої активності, тобто більш виражено стимулюють процеси регенерації сполуки 2.6, 4.2, активність яких значно вища від сполук 2.1, 4.5 та еталонів порівняння (калію оротат, метіонін). Дане ствердження узгоджується з даними літератури [14].

Серед похідних хіназоліну та хіноліну, які досліджувались на антиоксидантну та ранозагоюючу активність, найбільш ефективними виявились водорозчинні солі (3Н)-хіназолон-4-іл-3-оцтових (2.2-2.5, 2.7, 2.8) і хіназоліл-4-(хіноліл-4)тіооцтових кислот (4.2-4.4, 4.6-4.8). Антиоксидантна і ранозагоююча активність більшості із них (2.2, 2.3, 2.8, 4.2, 4.3, 4.7) перевищує активність еталонів порівняння (табл. 2). Доведено, що значно кращу як антиоксидантну, так і ранозагоюючу активність мають солі (2.3, 2.8), для отримання яких використана алкіламонійна катіонна компонента (моноетаноламін). Солі з гетероциклічними (піперидін, морфолін) катіонними компонентами (2.4, 2.5, 4.3, 4.4, 4.7, 4.8) проявляють активність у 1,1-1,5 разу нижчу у порівнянні з вищенаведеними солями. Виражено стимулюють процеси регенерації також натрієві солі (2.2, 4.2) відповідних кислот, збільшуючи міцність рубця на 43,8-58,1% у порівнянні з міцністю ран нелікованих тварин.

Крім того, для похідних хіназоліну (2.2, 2.3, 2.6, 2.8, 4.1, 4.2) характерна більш виражена ранозагоююча та антиоксидантна активність у порівнянні з активністю похідних хіноліну. Цей факт можливо пояснити, по-перше, здатністю самого ядра хіназоліну посилювати регенерацію тканин за рахунок знаходження в його молекулі гетероциклічної системи піримідину, стимулююча дія котрої на процеси регенерації загальновідома (метилурацил) [15], по-друге, високою антиоксидантною активністю досліджуваних сполук, які, активуючи антиоксидантну систему захисту та пригнічуючи накопичення продуктів ПОЛ, прискорюють процес загоєння ран.

Виходячи з вищенаведеного, необхідно зазначити, що найбільш суттєво прискорюють процеси фібрилогенезу і проліферації фібропластів водорозчинні солі (3Н)-хіназолон-4-іл-3-карбонових та хіназоліл-4-тіокарбонових кислот, які згідно з класифікацією Сидорова, відносяться до малотоксичних, практично нетоксичних та відносно нешкідливих речовин і, крім цього, у більшості випадків є високоефективними антиоксидантами.

ВИСНОВКИ

Похідні хіназоліну та хіноліну, згідно з класифікацією Сидорова, відносяться до малотоксичних, практично нетоксичних та відносно нешкідливих речовин.

Ранозагоююча активність синтезованих сполук значною мірою корелює з антиоксидантною активністю. Зазначене вище дозволяє зробити висновок про те, що антиоксидантна терапія при лікуванні різноманітних пошкоджень тканин є необхідною.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кажаев М.Ф. Лечение ран антиоксидантами // Хирургия.– 1975.– № 4.– С. 52-55.
2. Сюбаев Р.С., Машковский М.Д., Шварц Г.Я. Сравнительная фармакологическая активность современних нестероидных противовоспалительных препаратов // Хим.-фарм. журн.– 1986.– Т.20, № 1.– С. 33-39.
3. Тринус Ф.П., Клебанов Б.М., Ганджа И.М. Фармакологическая регуляция воспаления.– К.: Здоров'я, 1987.– 144 с.
4. Дегтяров И.А., Зайков Г.Е. Ионол, распределение в организме, метаболизм и биологическое действие. II. Биологическое действие ионола (обзор) // Хим.- фарм. журн.– 1985.– Т.48, № 10.– С.1160-1168.
5. Мазур І.А., Дунаєв В.В., Синяк Р.С. Антиоксидантна активність похідних (3,4-дигідрохіназоліл-3-он-4)-карбонових кислот. // Фармац. журн.– 1995.– №1.– С. 80-82.
6. Беленичев И.Ф., Коваленко С.И., Мазур И.А. Поиск веществ с антиоксидантной активностью среди производных 2-R^1-6-R^2-(3Н)-хиназолон-4-ил-3-α-карбоновых кислот. //Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики.– Запоріжжя, 1998.– Випуск 2.– Т.1.– С. 34-41.
7. Мазур И.А., Коваленко С.И., Синяк Р.С. Моноэтаноламмониевая соль 6-нитро-3Н-хиназолон-4-ил-3-уксусной кислоты, проявляющая антиоксидантную и противоишемическую активности. //Патент

на изобретение № 2145960 Российской федерации, С1 С 07 Д 239/88 // А 61 К 31/522, А 61 Р 9/10.– (UA).– № 97104830/04(004889); Заявлено 25.03.97; Опубл. 27.02.2000, Бюл. №6.

8. Мазур И.А., Коваленко С.И., Синяк Р.С. Натриевая соль 6-нитро-3Н-хиназолон-4-ил-3-уксусной кислоты, проявляющая антиоксидантную и противоишемическую активности // Патент на изобретение № 2146249 Российской Федерации, С1 С 07 Д 239/88, А 61 К 31/522, А 61 Р 9/10.– (UA).– № 97104830/04(004889); Заявлено 25.03.97; Опубл. 10.03.2000, Бюл. №7.

9. Прозоровский В.Б., Прозоровский М.Н., Демченко В.М. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки. //Фармакол. и токсикол.– 1987.– Т.41, № 4.– С.497-502.

10. Прозоровский В.Б., Фрумин Г.Н. Расчет стандартной ошибки отношения эффективности доз // Фармакол. и токсикол.– 1991.– Т.54, № 1.– С. 69-70.

11. Тринус Ф.П., Клебанов Б.М., Кондратюк В.И. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению нестероидных противовоспалительных фармакологических веществ. // МЗ СССР.– М., 1983.– 16 с.

12. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб.дело.–1988.–№11.– С.41-46.

13. Беленичев И.Ф., Мазур И.А., Коваленко С.И. Комплексная оценка антиоксидантной активности in vitro производных (3,4-дигидрохиназолон-4-ил-3)-α,β-карбоновых кислот. // Фармаком. – 1995.– № 5-6.– С. 40-43.

14. Мартыновский А.А., Бражко А.А., Стец В.Р. Пиперидиновая соль 2-метил-6-метоксихинолил-4-меркаптоуксусной кислоты, обладающая ранозаживляющей активность // А.с. 1790177 СССР, МКИ^4 С07Д 215/36, А61К 31/47.– № 4210750/28-04; Заявлено 16.03.87.– (Не подлежит публ.).

15. Машковський М.Д. Лекарственные средства: В 2 т.– Харьков: Торсинг, 1998.– Т.1.– 560 с; Т.2.– 592 с.