

ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА АНАЛГЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ СПІРОЦИКЛІЧНИХ ПОХІДНИХ ПІРАЗОЛІДИН-3,5-ДІОНУ

В.М. Головатюк¹, О.А. Бражко², В.І. Кашковський¹

¹ Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України

² Запорізький національний університет

В роботі наведено дослідження гострої токсичності та аналгетичної активності нових спіроциклічних похідних піразолідин-3,5-діону. Гостру токсичність спіродіазолідинів було вивчено позаекспериментальним методом QSAR-аналізу за методологією комп'ютерної розробки QuS, а також експериментальним шляхом на ссавцях (мишах). Встановлено, що сполуки цього класу є малотоксичними, при чому показники токсичності зменшуються із введенням метильного замісника в циклопентеновий цикл, а також замісників у ядро арильних фрагментів. Слід зазначити, що різниця між показниками гострої токсичності, одержаних як позаекспериментальним, так і експериментальним методами, є незначною, що надає перспективи використання комп'ютерного прогнозування у подальших дослідженнях та дизайні нових біоактивних сполук. Експериментальним шляхом проведено дослідження аналгетичної активності нових спіроциклічних похідних піразолідиндіонів. Показано, що деякі сполуки досліджуваного ряду мають досить виражену аналгетичну дію, що за ефектом конкурсу з відомим піразолоновмісним референс-препаратом «Анальгін».

Ключові слова: піразолідиндіони, гостра токсичність, аналгетична активність

THE ACUTE TOXICITY AND ANALGESIC ACTIVITY INVESTIGATION OF NEW SPIROCYCLIC PYRAZOLIDINE-3,5-DIONE DERIVATIVES

V.M. Holovatiuk, O.A. Brazhko, V.I. Kashkovsky

¹Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, The National Academy of Sciences of Ukraine.

Kiev, Ukraine. E-mail: vladimir_xpu@rambler.ru

²Zaporizhzhya National University. Zaporizhzhya, Ukraine

We presented the results of acute toxicity and analgesic activity research of the new spirocyclic pyrazolidine-3,5-dione derivatives. We studied the acute toxicity of spirodiazolidines with QSAR analysis by QuS computer design and experimentally on mammalian (mice). These compounds had low toxicity and toxic values that decreased with introduction of methyl substituent in cyclopentenic ring and other substituents in compound aromatic fragments. The acute toxicity values that were obtained by nonexperimental and experimental methods had similar magnitudes, and this will allow to apply the computer prognosis in further investigations and design of new bioactive molecules. We also carried out the research of analgesic activity of new spirocyclic pyrazolidinedione derivatives. We proved that some compounds of the studied range have significant analgesic activity to be competed with well-known pyrazolone containing drug 'Analgin'.

Key words: pyrazolidinedione, acute toxicity, analgesic activity

Citation:

Holovatiuk, V.M., Brazhko, O.A., Kashkovsky, V.I. (2016). The acute toxicity and analgesic activity investigation of new spirocyclic Pyrazolidine-3,5-dione derivatives.

Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University, 6 (3), 149–153.

Поступило в редакцію / Submitted: 01.10.2016

Принято к публикации / Accepted: 03.11.2016

crossref <http://dx.doi.org/10.15421/201681>

© Holovatiuk, Brazhko, Kashkovsky, 2016

Users are permitted to copy, use, distribute, transmit, and display the work publicly and to make and distribute derivative works, in any digital medium for any responsible purpose, subject to proper attribution of authorship.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0. License

ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ СПИРОЦИКЛИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРАЗОЛИДИН-3,5-ДИОНА

В.Н. Головатюк¹, А.А. Бражко², В.И. Кашковский¹

¹Институт биоорганической химии и нефтехимии Национальной академии наук Украины.

Киев, Украина. E-mail: vladimir_xpu@rambler.ru

²Запорожский национальный университет. Запорожье, Украина

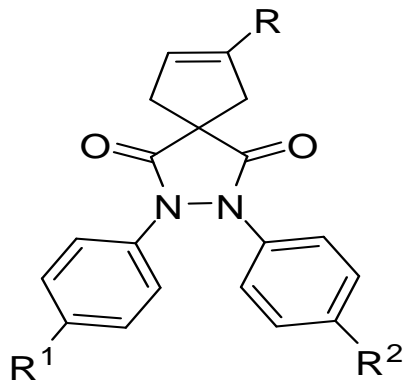
В работе приведены исследования острой токсичности и анальгетической активности новых спироциклических производных пирозолидин-3,5-диона. Острая токсичность спироидиазолидинов была изучена неэкспериментальным методом QSAR-анализа по методологии компьютерной разработки QuS, а также экспериментальным путем на млекопитающих (мышах). Установлено, что соединения данного класса относятся к малотоксичным веществам, причем показатели токсичности уменьшаются с введением метильного заместителя в циклопентеновый цикл, а также заместителей в ядро арильных фрагментов. Следует отметить, что разница между показателями острой токсичности, полученных как виртуальным, так и экспериментальным методами, является незначительной, что открывает перспективы использования компьютерного прогнозирования в дальнейших исследованиях и дизайне новых биоактивных соединений. Экспериментальным методом проведены исследования анальгетической активности новых спироциклических производных пирозолидин-дионов. Показано, что некоторые соединения исследуемого ряда имеют достаточно выраженное анальгетическое действие, которое по эффективности конкурирует с известным пиразолоносодержащим референс-препаратом «Анальгин».

Ключевые слова: пирозолидиндионы, острая токсичность, анальгетическая активность

ВСТУП

Піразолідиндіони, як відомо, є одним з важливих класів серед п'ятичленних нітрогеновмісних гетероциклічних сполук, які проявляють низку біологічних активностей, і, відповідно, використовуються досить широко в біології, медицині, ветеринарії тощо (Marella et al., 2013). Незважаючи на те, що діазольне ядро в природі зустрічається досить рідко, наявність цієї гетероциклічної системи в синтетичних речовинах надає їм цінних властивостей. Так, похідні піразолідинів широко використовуються в медицині як протизапальні, жарознижуючі та анальгетичні лікарські засоби. Біологічна активність пояснюється їх здатністю неселективно пригнічувати тканинні ферменти циклооксигенази 1 і 2 типу, які беруть участь у біоконверсії арахідонової кислоти в простагландіни, що власне і ескалує запальні процеси в організмі (Lees & Higgins, 1985).

Крім того, піразолідиновмісні сполуки проявляють протитуберкульозну, протівірусну, антиоксидантну, заспокійливу, антибактеріальну, протидіабетичну та протипухлинну активності, а також застосовуються при лікуванні хвороби Бехтерева, ревматоїдного артрити і синдрому Рейтера (Kumar & Jain, 2013). Тому створення нових біологічно активних сполук шляхом модифікації піразолідиндіонового циклу є актуальним і перспективним напрямком сучасних досліджень в галузях біоорганічної хімії, біології та медицини. Раніше було зроблено повідомлення про синтез реакцією метатезису із закриттям циклу (RCM) нових 4,4-спіроциклоалкенільних похідних 1,2-діарилпіразолідин-3,5-діонів (Головатюк та др., 2014) (рис. 1).



1-8

- | | |
|--|--|
| 1- R, R ¹ , R ² =H | 5- R=H; R ¹ =CH ₃ , R ² =Cl |
| 2- R=H; R ¹ , R ² =CH ₃ | 6- R=CH ₃ ; R ¹ , R ² =H |
| 3- R=H; R ¹ , R ² =Cl | 7- R=CH ₃ ; R ¹ , R ² =Cl |
| 4- R=H; R ¹ , R ² =Br | 8- R=CH ₃ ; R ¹ , R ² =Br |

Рис. 1. Спіроциклічні похідні піразолідин-3,5-діонів

На теперішній час позаекспериментальні дослідження *in silico* набувають все більшого використання (Уліщенко та ін., 2012; Бражко та ін., 2014; Brazhko at al., 2015; Zavgorodniy at al., 2015) . Вони дають можливість економити час досліджень, акцентувати напрями експериментальних випробувань та виявити оптимальні шляхи досягнення поставлених завдань.

Метою цієї роботи є вивчення токсичності та біологічної активності нових діарилпіразолідин-3,5-діонів як потенційних біорегуляторів за допомогою методу комп'ютерного QSAR-аналізу та експериментальних досліджень.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження токсичності нових діарилпіразолідин-3,5-діонів здійснювали віртуально та експериментально. Віртуальне оцінювання проводили комп'ютерним QSAR-аналізом за методологією комп'ютерної розробки QuS, яка розроблена і випробувана в лабораторії біотехнології фізіологічно активних речовин біологічного факультету Запорізького національного університету (Brazhko at al., 2015; Zavgorodniy at al., 2015). Дана програма написана на мові програмування Object Pascal (веб-сервер) та JavaScript (інтерфейс користувача) з використанням готових класів та бібліотек (Ararat Synapse, LCLBase, SynEdit) з відкритим вихідним кодом. Для виконання окремих етапів QSAR аналізу було використано ряд програмних засобів, таких як: фреймворк JSDraw, OpenBabel, PaDEL-Descriptor, McQSAR, Pandoc (Vainio & Johnson, 2005). Умовно дану програмну розробку можна розділити на дві частини: інтерфейс користувача у вигляді веб-сторінки та веб-сервер. Управління програмою (веб-сервером) здійснюється через веб-сторінку, на якій розміщено необхідний інструментарій та на яку виводяться результати аналізу. Також було використано сторонні програмні рішення для побудови моделей «структура – токсичність» та прогнозування LD₅₀ за допомогою вже створених моделей GUSAR (ФРН), TEST (США) (Yap, 2011).

Експериментальні дослідження було проведено на 64 білих безпородних мишах обох родів вагою 16-24 г, що отримані з розплідника інституту фармакології та токсикології АМН України (м. Київ). Тварини утримувались на стандартному раціоні харчування віварію (Кожемякін та ін., 2002). Речовини вводили внутрішньоочеревино (в/о) у вигляді тонкої водної суспензії, яку стабілізували фізіологічним розчином в об'ємі не більше 1 мл. Контрольній групі тварин вводили також фізіологічний розчин і «Твін 80» в тому ж об'ємі, що і досліджувані групи. 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 їх шкіри та слизових оболонок, нервовою збудливістю, кількістю живих і загиблих тварин. Середньолетальні дози (LD₅₀) визначали за методом В. Прозоровського (Прозоровский, 1998).

Анальгетичну активність визначали на 50 білих безпородних щурах-самцях вагою 200-240 г по 5 тварин у кожній групі на моделі "оцтвовокислих корчів", які викликали в/о введенням розчину 0,75%-ної оцтвової кислоти в об'ємі 1 мл на 100 г ваги тварини (контрольна група). Іншій групі тварин вводили сполуки в дозі 0,05 LD₅₀ за 30 хвилин до введення оцтвової кислоти. За еталон порівняння був використаний відомий анальгетик - структурний аналог синтезованих сполук - «Анальпін», який вводили в/о 3-й групі тварин за 30 хвилин до введення оцтвової кислоти в дозі 50 мг/кг. Підрахунок кількості "корчів" проводили через 15 хвилин після введення оцтвової кислоти протягом 20 хвилин. За показник анальгетичної дії брали зниження кількості корчів по відношенню до контролю (Стефанова, 2001).

Статистичну обробку даних проводили з використанням параметричного критерію t-Ст'юдента. Достовірними вважали відмінності з рівнем значущості понад 95% (p<0,05). Утримання та робота з тваринами проводилася відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших дослідних цілях» (Страсбург, Франція, 1985) (Кожемякін та ін., 2002).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Внаслідок вивчення токсичності похідних піразолідин-3,5-діону позаекспериментальним шляхом за допомогою моделей GUSAR (ФРН), TEST (США) встановлено, що досліджувані сполуки можна віднести до малотоксичних речовин (табл. 1). Результати експериментального дослідження гострої токсичності (або середньої летальної дози (LD₅₀, мг/кг) сполук (1-8) подано у табл. 1. Було вивчено залежність гострої токсичності від наявності у фрагментах досліджуваних молекул алкільного та/або галогенового замісників.

Встановлено, що токсичність сполук зменшується при введенні як метильного замісника в циклопентеновий цикл (у 1.5 рази), так і замісників у ядра арильних фрагментів. Результати проведених випробувань свідчать про те, що досліджувані речовини суттєво не відрізнялись за токсичністю, яка визначається у першу чергу піразолідиндіоновим фрагментом сполуки. Слід зазначити, що різниця між показниками гострої токсичності, які одержано як позаекспериментальним, так і експериментальним

методами, була незначною. Це надає перспективи використання комп'ютерного методу QSAR-аналізу при подальших дослідженнях та дизайні нових біологічно активних сполук.

Таблиця 1. Токсичність досліджуваних сполук

Сполука	Прогнозована токсичність (LD ₅₀ (mg/kg))				Експериментальні дані: в/о введення, LD ₅₀ (mg/kg)
	В/о введення (GUSAR)	Внутрішньовенне введення (GUSAR)	Оральне введення (GUSAR)	(TEST)	
1	307,10	213,20	1622,0	1082,82	225±18
2	609,30	184,60	2555,0	1145,81	357±28
3	709,90	250,80	2247,0	1275,02	566±45
4	727,80	361,10	1477,0	1902,55	450±35
5	866,20	138,60	1978,0	1778,99	306±42
6	379,70	181,90	1123,0	1203,89	306±42
7	646,30	167,0	1563,0	1470,36	525±51
8	950,10	227,40	1297,0	2173,23	551±11

Результати експериментальних досліджень спіроциклічних похідних піразолідин-3,5-діону (**сполуки 1-8**) (табл. 2) свідчать про помірну аналгетичну дію більшості досліджених сполук. Слід зазначити, що сполуки **1, 2, 5** та **8** мали виражену аналгетичну активність і за ефектом конкурують з відомим із групи піразолонів референс-препаратом «Анальгін». Ці сполуки є структурними аналогами цього препарату, що дає підставу свідчити про схожість механізмів їх біологічної дії.

Таблиця 2. Аналгетична активність сполук

№ з/п	Сполука	В/о введення, 1/20 LD ₅₀ (mg/kg)	Кількість «корчів»	Аналгетична активність, %
1	1	10	4,0±1,2	81
2	2	18	7,0±2,1	67
3	3	28	14,1±2,7	33
4	4	22	13,0±1,8	38
5	5	15	9,0±2,7	57
6	6	15	12,1±3,4	43
7	7	26	12,2±1,4	42
8	8	28	9,1±2,7	56
9	Анальгін	50	9,0±1,5	57
10	Контроль	–	21,0±2,7	0

ВИСНОВКИ

Таким чином, в рамках цієї роботи було досліджено на гостру токсичність та аналгетичну активність нових спіроциклічних похідних піразолідин-3,5-діонів. При визначенні гострої токсичності комп'ютерним QSAR-аналізом за методологією комп'ютерної розробки QuS, а також експериментальним шляхом, було встановлено, що досліджувані піразолідиндіони можна віднести до малотоксичних сполук. Токсичність сполук зменшувалась при введенні метильного замісника в циклопентеновий цикл та замісників у ядра арильних фрагментів. Результати проведених випробувань свідчать, що досліджувані речовини суттєво не відрізнялись за токсичністю, яка визначається у першу чергу базовою структурою речовини.

Внаслідок експериментальних досліджень аналгетичної активності нових піразолідиндіонів встановлено, що деякі з них мали досить виражену знеболювальну дію і за ефектом конкурують з відомим піразолоновмісним референс-препаратом «Анальгін». Це припускає перспективність подальшого дизайну та синтезу нових спіроциклічних похідних діарилпіразолідин-3,5-діону з метою одержання потенційних малотоксичних аналгетичних засобів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Бражко, Е.А. (2015). Биологическая активность диалкоксизамещенных (хинолин-4-илсульфанил)карбоновых кислот. Весник БГУ. Серия 2, №3, 26–30.

- Бражко, О.О., Омелянчик, Л.О., Лабенська, І.Б., Завгородній, М.П. (2014). Синтез і біологічна активність нових похідних 6-бромо-2-метил-4-сульфанілхінолінів. *Ukrainica Bioorganica Acta*, 2, 15–22.
- Головатюк, В.М., Безутлий, Ю.В., Кашковський, В.І. (2014). Синтез нових 4,4-спіроциклоалкенільних похідних 1,2-дифенілпіразолідин-3,5-діонів реакціями метатезису із закриттям циклу. *Журн. Орг. Фарм. Хім.*, 12 (3), 33–37.
- Кожемякін Ю.М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожемякін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова. – К.: Авіцена, 2002. – С. 155.
- Прозоровский, В.Б. (1998). Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты. *Токс. вестник*, 1, 28–32.
- Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С. 528.
- Уліщенко, Є.О., Бражко, О.А., Омелянчик, Л.О., Генчева, В.І., Бражко, О.А. (2012). Віртуальний скринінг та синтез нових N-ацильних похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну як потенційних біорегуляторів направленої дії. *Медична хімія*, 14 (3), 94–99.
- Brazhko, O.O., Zavgorodny, M.P., Kruglyak, O.S., Omeljanchik, L.O., Shapoval, G.A. (2015). Antioxidant activity of alkoxy derivatives of (quinoline-4-ylthio)carboxylic acids. *Ukr. Biochem. J.*, 87 (2), 95–102.
- Kumar, H., Jain, S. (2013). Synthesis and antimicrobial evaluation of 4-benzylidenepyrazolidine-3,5-dione derivatives. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 4(1), 453–457.
- Lees, P., Higgins, A. (1985). Clinical pharmacology in therapeutic uses of non-steroidal antiinflammatory drugs in the horse. *Equine Vet. J.*, 17 (2), 83–96.
- Marella, A., Ali, M., Alam, M., Saha, R., Tanwar, O., Akhter, M., Shaquiquzzaman, M. (2013). Pyrazolines: a biological review. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 13, 921–931.
- Vainio, M.J., Johnson, M.S. (2005). McQSAR: A Multiconformational Quantitative Structure–Activity Relationship Engine Driven by Genetic Algorithms. *J. Chem. Inf. Model*, 45, 1953 – 1961.
- Yap, C.W. (2011) PaDEL-Descriptor: An open source software to calculate molecular descriptors and fingerprints. *J. Comput. Chem.*, 32, 1466–1474.
- Zavgorodniy, M.P., Brazhko, A.A., Veselkov, A.V., Derevianko, N.P. (2015). QuS: A Software for Automated QSAR analysis of Biologically Active Compounds. *Chemistry of nitrogen containing heterocycles*, VII Int. Conf. Kharkiv (in Ukrainian).

REFERENCES

- Brazhko, E.A. (2015). Biological activity of dialkoxysubstituted (quinolin-4-ylsulfonyl)-carboxylic acids. *Vestnik Beloruskogo Gosudarstvennogo Universiteta*, 3, 26–30.
- Brazhko, O.O., Omelyanchik, L.O., Labenska, I.B., Zavgorodniy, M.P. (2014). Synthesis and biological activity of new 6-bromo-2-methyl-4-sulfonylquinoline derivatives. *Ukrainica Bioorganica Acta*, 2, 15–22.
- Brazhko, O.O., Zavgorodny, M.P., Kruglyak, O.S., Omeljanchik, L.O., Shapoval, G.A. (2015). Antioxidant activity of alkoxy derivatives of (quinoline-4-ylthio)carboxylic acids. *Ukr. Biochem. J.*, 87 (2), 95–102.
- Holovatiuk, V.M., Bezugly, Yu.V., Kashkovsky, V.I. (2014). Synthesis of new 4,4-spirocycloalkenic 1,2-diphenylpyrazolidine-3,5-dione derivatives. *Zh Org Farm Khim*, 12(3), 33–37.
- Kozemyakin, Yu.M., Khromov, O.S., Philonenko, M.A., Saifetdinova, G.A. (2002). Scientific and practical recommendations toward laboratory animals keeping and working with it. *Kyiv: Avitsena* (in Ukrainian).
- Kumar, H., Jain, S. (2013). Synthesis and antimicrobial evaluation of 4-benzylidenepyrazolidine-3,5-dione derivatives. *Int J Pharm Sci Res*, 4(1), 453–457.
- Lees, P., Higgins, A. (1985). Clinical pharmacology in therapeutic uses of non-steroidal antiinflammatory drugs in the horse. *Equine Vet J*, 17(2), 83–96.
- Marella, A., Ali, M., Alam, M., Saha, R., Tanwar, O., Akhter, M., Shaquiquzzaman, M. (2013). Pyrazolines: a biological review. *Mini-Rev Med Chem*, 13, 921–931.
- Prozorovsky, V.B. (1998). Tabular determination express-method of the average effective measures of action on biological objects. *Tox Bull*, 1, 28–32.
- Stefanov O.V. (2001). Pre-clinical investigation of the drugs. *Kyiv: Avitsena* (in Ukrainian).
- Ulishenko, E.O., Brazhko, O.A., Omelyanchik, L.O., Genchenko, V.I., Brazhko O. A. (2012). Virtual screening and synthesis of new N-acylic S-(2-methylquinolin-4-yl)-L-cysteine derivatives as a potential bioregulators with directional effect. *Med Chem*, 14 (3), 94–99.
- Vainio, M. J., Johnson, M. S. (2005). McQSAR: A Multiconformational Quantitative Structure–Activity Relationship Engine Driven by Genetic Algorithms. *J Chem Inf Model*, 45, 1953–1961.
- Yap, C.W. (2011) PaDEL-Descriptor: An open source software to calculate molecular descriptors and fingerprints. *J Comput Chem*, 32, 1466–1474.

Zavgorodniy, M.P., Brazhko, A.A., Veselkov, A.V., Derevianko, N.P. (2015). QuS: A Software for Automated QSAR analysis of Biologically Active Compounds. Chemistry of nitrogen containing heterocycles, VII Int. Conf. Kharkiv (in Ukrainian).