



УКРАЇНА

(19) UA (11) 37105 (13) U

(51) МПК (2006)

A61K 31/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ КАЛІЄВОЇ СОЛІ 2,4-ДИХЛОРБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ

1

2

(21) u200811199

(22) 16.09.2008

(24) 10.11.2008

(46) 10.11.2008, Бюл.№ 21, 2008 р.

(72) НЕБЕСНА ТЕТЯНА ЮРІЇВНА, UA, СИРОВА
ГАННА ОЛЕГІВНА, UA, ЗВЯГІНЦЕВА ТЕТЯНА
ВОЛОДИМИРІВНА, UA, ЧЕКМАН ІВАН СЕРГІЙО-
ВИЧ, UA(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, UA(57) Спосіб визначення фармакологічної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти, що здійснюють шляхом проведення експериментальних досліджень, який **відрізняється** тим, що за допомогою комп'ютерної програми проводять прогнозування спектра фармакологічної активності, відбирають ті види активності, для яких вірогідність наявності $P_a > 0,3$, і перевіряють їх наявність в дослідках на тваринах.

Корисна модель, що заявляється, належить до медицини, а саме до експериментальної медицини, точніше до фармакології, і може використовуватися для покращення результатів дослідження фармакологічної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти.

Оригінальний лікарський засіб калієву сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти (анальбен) синтезували вчені Національного фармацевтичного університету [1]. Після проведення доклінічних і клінічних досліджень анальбену, виявилось, що це препарат з протизапальними, анальгетичними, жарознижувальними, гепатопротекторними, антиоксидантними властивостями, який не має алергізуючої, ульцерогенної, гепатотоксичної дії [2-9]. Найбільш близьким за технічним вирішенням до способу, що заявляється, є спосіб визначення фармакологічної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти в експериментальних дослідженнях на тваринах [4], який прийнято як аналог (прототип). Цим способом встановлюють анальгетичні та протизапальні властивості калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти в дослідках на щурах.

Однак цей спосіб має недоліки: дослідження спрямовані на встановлення окремих фармакологічних властивостей калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти, потребують тривалого виконання і не дозволяють оцінити весь спектр активності даної лікарської речовини.

Задача корисної моделі, що заявляється, полягає у підвищенні швидкості та ефективності ви-

значення фармакологічної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти (анальбену).

Технічний результат, який досягається, полягає в підвищенні швидкості та ефективності, зниженні собівартості та тривалості визначення всього спектра фармакологічної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти (анальбену), який може бути використаний у виробництві препаратів з анальгезуючою та протизапальною дією.

Поставлена задача досягається тим, що спочатку проводять комп'ютерний прогноз всіх можливих видів фармакологічної активності, відбирають ті види активності для яких вірогідність наявності $P_a > 0,3$, і перевіряють їх наявність в дослідках на тваринах.

Переваги цього метода: програма PASS Inet прогнозує 2468 видів біологічної активності, включаючи фармакологічні ефекти, мутагенність, канцерогенність, тератогенність та ембріотоксичність [16]. Точність прогнозу в 85% достатня для практичного використання системи PASS з метою прогнозу спектра біологічної активності оригінальних лікарських засобів. Використання комп'ютерного прогнозу забезпечує високу інформативність, швидкість, дозволяє зменшити кількість досліджень на тваринах [10-16].

Спосіб здійснювався таким чином: для комп'ютерного прогнозування використовували програму PASS Inet. Результати прогнозу виводять програмою у вигляді списку назв можливих видів активності з розрахованими оцінками вірогідності наяв-

(13) U

(11) 37105

(19) UA

ності (P_a) та відсутності (P_i) кожного виду активності, які мають значення від 0 до 1. Чим більше для конкретної активності величина P_a і чим менше величина P_i , тим більше шанс підтвердити дану активність в експерименті. Програма PASS дає можливість обирати бажану точність прогнозу, але ця характеристика тісно пов'язана з повнотою прогнозу. Якщо при аналізі прогнозованого списку активностей для дослідження обираються ті види активності, для яких $P_a > 90\%$, то існує можливість виявити близько 90% дійсно активних сполук, при цьому вірогідність ложнопозитивних прогнозів при цьому дуже низька; для $P_a > 80\%$ - ця можливість знижується до 80% активних сполук, разом з тим вірогідність ложнопозитивних прогнозів підвищується; для умови $P_a > P_i$ вірогідності помилок першого і другого роду однакові. Оскільки в даній роботі прогнозували активність нового компоненту лікарського засобу, враховували також критерій новизни. Тому для більш повного виявлення видів активності встановлювали критерій $P_a > 30\%$. Експериментальні дослідження для підтвердження прогнозованих видів активності проведено на статевозрілих щурах лінії WAG популяції Вістар обох статей вагою 170-250 (протизапальна, жарознижуюча дія). Дослідження проводилися згідно методичних рекомендацій Державного Фармакологічного Центру МОЗ України [17]. Антиексудативна протизапальна активність була вивчена на моделі формалінового набряку. Жарознижувальна - на фоні лихоманки, що викликана внутрішньом'язовим введенням молока, як пірогена. Піддослідні тварини були розподілені на 4 групи: тварини 1 групи одержували калієву сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти (0,075г/кг) однократно внутрішньошлунково у вигляді 1,5% завісу на 3% крохмальному слизу. Тварини 2 групи одержували комбінацію калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїна і карбамазепіна (0,6г/кг) в аналогічних умовах. В якості препарату порівняння використовували диклофенак-натрію (8мг/кг), який вводили тваринам 3-ої групи, а в якості контролю - 3% крохмальний слиз, який вводили тваринам 4-ої групи.

За допомогою комп'ютерного моделювання структура калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти була проаналізована по 21 субструктурним дескрипторам, знайдено 1 новий дескриптор. Наявність лише одного нового дескриптору вказує на значну подібність структури молекули до інших відомих лікарських засобів та біологічно активних речовин, що складають навчальну вибірку PASS, а отже на високу точність прогнозу. Отримано 127

видів можливої активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти з $P_a > 0,3$. Відібрані для подальших експериментальних досліджень види активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти наведені в табл.1.

Експериментальні дослідження на лабораторних тваринах підтвердили наявність антиексудативної протизапальної активності у калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти та комбінації, що містить сіль (табл.2). В контролі набряк лапки досягає $25,3 \pm 2,3$ у.о. проти $15,7 \pm 0,4$ у.о. Об'єм лапки щурів через 4 години після субплантарного введення формаліну на фоні калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти складає $17,5 \pm 0,7$ у.о. проти $15,7 \pm 0,2$ у.о. похідного об'єму. В аналогічних умовах дослідів об'єм лапки щурів на фоні комбінації складає - $17,0 \pm 2,1$ у.о. проти $14,8 \pm 0,8$ у.о. (похідний об'єм), а при застосуванні диклофенак-натрію - $23,3 \pm 1,3$ у.о. проти $14,3 \pm 0,4$ у.о. похідного об'єму.

Під впливом калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти відмічається пригнічення набряку на 18,7%, що значно більше, ніж від препарату порівняння (9,4%). Більш значне пригнічення набряку відмічається під впливом дослідної комбінації (на 22,9%). Антиексудативну протизапальну дію комбінації забезпечує калієва сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти.

Молочна лихоманка у щурів проявляється підвищенням температури тіла в середньому до $38,1 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ($37,8-38,3^\circ\text{C}$) і зберігається у контрольній групі на цьому рівні протягом двох годин спостереження (наприкінці дослідів - через 20 годин вона знижується до $37,1 \pm 0,3^\circ\text{C}$) (табл.3). Зниження температури тіла в дослідів з калієвою сіллю 2,4-дихлорбензойної кислоти до $37,6 \pm 0,1^\circ\text{C}$ відмічається через 2 години після введення, в дослідів з комбінацією теж через 2 години ($37,6 \pm 0,6^\circ\text{C}$), а під впливом диклофенак-натрію - до $37,5 \pm 0,7^\circ\text{C}$ через 1 годину після введення. Наприкінці строку спостереження (через 20 годин) калієва сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти, дослідна комбінація і диклофенак-натрію нормалізували температуру щурів відповідно до $36,9 \pm 0,1^\circ\text{C}$, $36,4 \pm 0,3^\circ\text{C}$, $36,9 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

Таким чином, прогнозовані протизапальна та жарознижувальна активності підтвердилися в експериментальних дослідженнях калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти. Запропонований метод комп'ютерного прогнозування досить точний для визначення фармакологічної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти і може бути рекомендованим для впровадження в експериментальну фармакологію.

Таблиця 1

Можливі види фармакологічної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти

Показники		Вид фармакологічної активності
Pa	Pi	
0,783	0,006	I. Протизапальна: Інгібітор секологанінсинтети
0,657	0,007	Інгібітор 7-деоксикоганін-7-гідроксилази
0,507	0,090	Інгібітор гістидінолдегідрогенази
0,489	0,005	Інгібітор неспецифічної серінових-протеаз
0,448	0,009	Інгібітор шікімат-5-дегідрогенази
0,441	0,078	Антагоніст простагландинів
0,348	0,256	Нейротрофічний фактор
0,326	0,217	Інгібітор гістидін-трансамінази
0,711	0,015	II. Жарознижувальна: Інгібітор індол-3-ацетальдегідоксидази
0,313	0,037	III. Протибольова. Терапія остеоартриту
0,428	0,161	Інгібітор індол-2,3-діоксигенази
0,482	0,015	IV. Антигіперліпопротеїнемічна: Антигіперхолестеринемічна
0,341	0,073	Інгібітор синтезу холестеролу
0,510	0,098	
0,801	0,075	V. Антисеборейна
0,568	0,070	VI. Антипротозойна
0,659	0,017	VII. Ембріонотоксичність
0,407	0,019	VIII. Антіамілоїдогенетична (антинефропатична)
0,381	0,056	IX. Антиінфекційна
0,305	0,063	X. Інсектицидна

Таблиця 2

Вивчення антиексудативної протизапальної активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти в експерименті

Умови дослідів	Похідний об'єм лапки шурів, у.о.	Об'єм лапки шурів через 4 години після субплантарного введення формаліну, у.о.	Пригнічення запалення, %
1 група Калієва сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти	15,7±0,2	17,5±0,7***	18,7
2 групи Комбінація	14,8±0,8	17,0±2,1***	22,9
3 група Диклофенак-натрію	14,3±0,4	23,3±1,3***	9,4
4 група Контроль	15,7±0,4	25,3±2,3***	0

Примітка: * - різниця, статистично вірогідна з контролем (P<0,05);

** - різниця, статистично вірогідна з диклофенак-натрію (P<0,05);

*** - різниця, статистично вірогідна з похідним об'ємом (P<0,05).

Таблиця 3

Вивчення жарознижуючої активності калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти в експерименті

Умови дослідів	Температура тіла через 4 години після введення молока (похідний фон)	Температура тіла через 1 годину після введення препарату	Температура тіла через 2 години після введення препарату	Температура тіла наприкінці досліду
1 група Калієва сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти	38,0±0,2	38,0±0,2	37,6±0,1	36,9±0,1**
2 групи Комбінація	37,8±0,8	38,1±0,3	37,6±0,6	36,4±0,3*
3 група Диклофенак-натрію	38,1±0,4	37,5±0,7	37,6±0,6	36,9±0,1**
4 група Контроль	38,3±0,3	38,2±0,3	38,3±0,5	37,1±0,3**

Примітка: * - різниця, статистично вірогідна з контролем (P<0,05);

** - різниця, статистично вірогідна з похідним фоном (P<0,05).

Джерела інформації:

1. Пат. №2101011 Российская Федерация, МКИ 6А61К31/19, 9/20. Средство, обладающее анальгетическим действием / Е.Я. Левитин, В.И. Кабачный, Л.В. Яковлева, В.П. Черных (Украина) - №94004615/4; заявлено 11.02.94; опубл. 10.01.98. Бюл. №1.

2. Безугла Н.П. Клініко-фармакологічне обґрунтування застосування нового ненаркотичного анальгетика анальбену для лікування ревматоїдного артриту та деформуючого остеоартрозу. Автореф. дис... к.м.н. - Київ, 2002. - 16 с.

3. Камаль Туфик Эль-Дилати. Экспериментальное обоснование использования геля анальбена при воспалительных заболеваниях суставов. Автореф. дис... к.фарм.н. - Куявна, 2005. - 18 с.

4. Яковлева Л.В., Ель Ділаті Камаль Туфік. Фармакологічне вивчення нових лікарських форм анальбену // Вісник фармації. - 2004. - 4(40). - С.53-55.

5. Яковлева Л.В., Неврозов В.П., Карпенко О.Я., Шаповал О.М. Вивчення впливу нового протизапального засобу анальбену на протікання хронічного аутоімунного запалення // Вісник фармації. - 1995. - №3-4. - С.81-85.

6. Яковлева Л.В., Шаповал О.М. Аналіз результатів клінічних випробувань лікарських препаратів, розроблених у НФаУ // Клінічна фармація. - 2000. - т.4., №2. - С.41-45.

7. Яковлева Л.В., Шаповал О.М., Левітін Е.Я. Вивчення впливу нового препарату анальбену на функціональний стан шлунково-кишкового тракту // Лекарства - человеку. Харьков, 2001. - С.590-593.

8. Герчиков А.Я., Хайриллина В.Р., Мухаметов А.Д., Гарифиллина Г.Г. и др. Разработка новых противовоспалительных лекарственных препаратов с помощью теории распознавания образов. Материалы III съезда фармакологов России «Фармакология - практическому здравоохранению». Психофармакология. Биология. Наркология. 2007. т.7 ч.1. с.1657.

9. Зауэр Е.А. Применение квантово-химических методов для расчетов сульфаниламидных препаратов. Материалы III съезда фармакологов России «Фармакология - практическому здравоохранению». Психофармакология. Биология. Наркология. 2007. т.7 ч.1. с.1701.

10. Шульгин С.В., Кузнецов П.Е., Кузнецова Н.Б., Шантроха А.В. и др. Поиск и конструирование высокоактивных аналогов тетрапептида холецистокинина ССК-4 с помощью компьютерных методов молекулярного моделирования. Материалы III съезда фармакологов России «Фармакология - практическому здравоохранению». Психофармакология. Биология. Наркология. 2007. т.7 ч.2. с. 2020.

11. Geronikaki A., Poroikov V., Litina D.H., Filimonov D. Computer Aided Predicting the Biological Activity Spectra and Experimental Testing of New Thiazole Derivatives // Wiley Inter Science. J. - Vol.18, №1. - P.16-25.

12. Glorizova T.A., Filimonov D.A., Lagunin A.A., Poroikov V.V. Testing of computer system for prediction of biological activity spectra PASS on the set of new chemical compounds // Chem. and Pharmaceut. J. (Rus). - 1996, In press.

13. Filimonov D.A., Poroikov V.V., Karaicheva E. I. (1995). Computer-aided prediction of biological activity spectra of chemical substances on the basis of their structural formulae: computerized system PASS // *Experimental and Clinical Pharmacology (Rus)*. - 1995. - Vol. 58, №2. - P.56-62.

14. Filimonov D.A., Poroikov V.V. PASS: Computerized prediction of biological activity spectra for chemical substances. *Bioactive Compound Design: Possibilities for Industrial Use*. - Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1996. - p.47-56.

15. Poroikov V.V., Filimonov D.A. Computerized prediction of biological activity spectra for chemical

substance - new approach to effective drug design. In: *QSAR and Molecular Modelling Concepts, Computational Tools and Biological Applications*. - Barcelona: Prous Science Publishers, 1996. - p.49-50.

16. Sadym A.V., Laguntn A.A., Filimonov D.A., Poroikov V.V. Internet-system for prediction of biological activity spectra of chemical substances // *Chim. - Pharm. J.* - 2002. - Vol.36, №10. - P.21-26.

17. Стефанов О.В. (ред.). Доклінічне дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. Київ, 2001, - 528 с.