

## Острая токсичность и диуретическая активность сульфамойльных производных бензойной кислоты

В.Е.Кашута

Национальный фармацевтический университет, кафедра фармакотерапии  
Харьков, Украина

Проведено экспериментальное исследование острой токсичности и влияния на выделительную функцию почек семнадцати впервые синтезированных соединений в ряду сульфамойльных производных бензойной кислоты.

В опытах на крысах линии Вистар установлено, что за 4 часа наблюдения большинство соединений увеличивали у крыс диурез на 14,6-108,8%. Наибольшую диуретическую активность проявило соединение № 16, которое увеличивало количество выделяемой мочи на 108,8% ( $p < 0,05$ ).

Сульфамойльные производные бензойной кислоты являются перспективной группой для дальнейшего проведения синтеза и фармакологического скрининга с целью создания на их основе высокоактивных фармакологических веществ.

**Ключевые слова:** сульфамойльные производные бензойной кислоты, острая токсичность, диуретическая активность.

### ВВЕДЕНИЕ

Важной проблемой современной нефрологии является лечение нарушений общей гемодинамики и водно-электролитного баланса в организме. Повышение уровня натрия в крови и межклеточном пространстве приводит к повышению осмотического давления, задержке воды в тканях организма и образованию отеков [2]. Отеки наблюдаются при заболеваниях различного генеза: артериальной гипертензии, хронической сердечной недостаточности, нефротическом синдроме, хронической почечной недостаточности, задержке жидкости при

ожирении, несахарном диабете [7]. При лечении артериальной гипертензии используют комбинированную фармакотерапию: блокаторы ангиотензина II (валсартан, ирбесартан) и тиазидные диуретики (гидрохлортиазид) [8, 9]. Они способствуют снижению реабсорбции ионов натрия в проксимальных канальцах почек, выведению ионов магния, кальция и мочевой кислоты [10-13].

При лечении нарушений водно-электролитного баланса проводится фармакологическая коррекция экскреторной функции почек с помощью диуретических средств [4]. Наряду с выраженным диуретическим эффектом мочегонные средства проявляют нежелательное побочное действие: гипокалиемию, гипохлоремический алкалоз, метаболический ацидоз, гиперлипидемию, гипергликемию, азотемию, нарушения белкового обмена и др., что ограничивает их применение в практической медицине [14-16].

Поиск новых фармакологических веществ, улучшающих выделительную функцию почек, проводится среди различных классов органических веществ. Наше внимание привлекли производные бензойной кислоты, которые играют важную роль в жизнедеятельности организма.

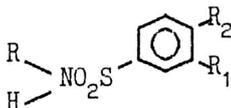
Целью настоящего исследования явилось изучение зависимости химической структуры в ряду сульфамойльных производных бензойной кислоты на выделительную функцию почек.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования выбраны 17 впервые синтезированных веществ в ряду сульфамойльных производных бензойной кислоты. Структура веществ подтверждена с помощью современных физико-химических методов элементного анализа, УФ-, ИК-, ПМР- и масс-спектрометрических методов исследования, встречным синтезом. Чистота контролирова-

ТАБЛИЦА 1

Острая токсичность сульфамойльных производных бензойной кислоты



| № п/п | Радикалы           |                     |                                      | ЛД <sub>16</sub> | ЛД <sub>50</sub><br>(M±m) | ЛД <sub>84</sub> |
|-------|--------------------|---------------------|--------------------------------------|------------------|---------------------------|------------------|
|       | R                  | R <sub>1</sub>      | R <sub>2</sub>                       |                  |                           |                  |
| 1     | водород            | хлор                | карбоксии                            | 10,0             | 28,0±5,2                  | 37,5             |
| 2     | водород            | хлор                | метоксикарбонил                      | 24,0             | 45,0±3,9                  | 51,0             |
| 3     | водород            | хлор                | β-оксиэтилаид                        | 31,0             | 40,5±1,8                  | 42,0             |
| 4     | водород            | анилин              | карбоксии                            | 14,0             | 33,0±3,9                  | 41,0             |
| 5     | фенил              | хлор                | метил                                | 26,0             | 30,0±6,7                  | 66,0             |
| 6     | (3,5-диметилфенил) | хлор                | метил                                | 17,0             | 43,5±6,0                  | 59,0             |
| 7     | водород            | (2,4-диметиланилин) | карбоксии                            | 20,0             | 52,0±7,9                  | 75,0             |
| 8     | водород            | (2-хлор)анилин      | карбоксии                            | 23,0             | 49,0±9,1                  | 84,0             |
| 9     | водород            | (3-нитроанилин)     | карбоксии                            | 14,0             | 27,0±3,9                  | 41,0             |
| 10    | водород            | хлор                | β-(2-оксибензилен) гидразин          | 26,0             | 42,0±6,8                  | 67,0             |
| 11    | водород            | хлор                | бензоилгидразон коричнеого альдегида | 16,0             | 41,5±7,0                  | 59,0             |
| 12    | водород            | хлор                | (4-диметиламинобензилен) гидразид    | 11,0             | 37,0±7,0                  | 54,0             |
| 13    | водород            | хлор                | (5-нитробензилен) гидразид           | 14,0             | 35,0±3,9                  | 41,5             |
| 14    | водород            | хлор                | (2,4-дихлорбензилен) гидразид        | 27,0             | 32,0±1,8                  | 58,0             |
| 15    | (2,5-диметилфенил) | карбоксии           | бром                                 | 14,0             | 25,0±3,9                  | 41,0             |
| 16    | (2-метоксифенил)   | карбоксии           | бром                                 | 28,0             | 58,0±7,9                  | 84,0             |
| 17    | (3-метилфенил)     | карбоксии           | бром                                 | 22,0             | 61,0±9,4                  | 86,0             |

лась методом тонкослойной хроматографии. Острую токсичность сульфамойльных производных бензойной кислоты изучили в опытах на интактных белых мышах массой 18-23 г. ЛД<sub>50</sub> вычисляли по методу Кёрбера [5]. Исследование диуретической активности соединений проводили на белых крысах линии Вистар массой 145-185 г по методу Е.Б.Берхина [1, 3]. При изучении водного диуреза крыс выдерживали на постоянном рационе при свободном доступе к воде. Перед водной нагрузкой крыс выдерживали в течение 2 часов без пищи и воды. Исследуемые вещества вводили крысам внутривенно с помощью специального металлического зонда в дозе 0,05 ЛД<sub>50</sub> в виде 3-5% тонкодисперсной водной суспензии, стабилизированной твином-80. Мочу собирали через каждый час в течение 4 часов. В качестве эталонных препаратов сравнения был использован гипотиазид и адиурекрин [4].

При проведении экспериментальных исследований животные находились в стандартных условиях согласно с нормами и принципами Директивы Совета ЕС по вопросам защиты позвоночных животных, которых использовали для экспериментальных и научных целей [3].

Полученные результаты обработаны общепринятыми методами вариационной статистики по критерию t Стьюдента с использованием программного обеспечения «Windows-2000», электронных таблиц Excel.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Анализ результатов изучения острой токсичности сульфамойльных производных бензойной кислоты (соед. 1-17), показал, что ЛД<sub>50</sub> исследуемых веществ находится в интервале от 25 мг/кг до 61 мг/кг (табл. 1). Наиболее токсичным оказалось соединение 15, содержащее два диметилфенильных радикала в сульфамойльном фрагменте молекулы бензойной кислоты. ЛД<sub>50</sub> данного вещества составляет 25 мг/кг. Замена в 1-м положении молекулы бензойной кислоты карбоксигруппы на атом хлора, а во 2-м положении атома брома на метильный радикал (соед. 6) приводит к снижению острой токсичности. Введение в 5-е положение сульфамойльного остатка молекулы бензойной кислоты вместо 2,5-диметилфенильного радикала (соед. 15) 2-метоксифенильного (соед. 16), 3-метилфенильного (соед. 17) приводит к уменьшению ЛД<sub>50</sub> в 2,4 раза. Наименее токсичным оказалось соединение 17, ЛД<sub>50</sub> которого равно 61 мг/кг. Замена в 1-м положении молекулы бензойной кислоты 3-метилфенильного радикала (соед. 17) на атом водорода, карбоксигруппы — на атом хлора, а атома брома — на β-(2-оксибензилен)гидразин (соед. 10), бензоилгидразон коричнеого альдегида (соед. 11), (4-диметиламинобензилен)гидразид (соед. 12), (5-нитробензилен) гидразид (соед. 13) и (2,4-дихлорбензилен)гидразид (соед. 14) приводит к повышению острой токсичности. В соответствии с классификацией К.К.Сидорова [6] все

ТАБЛИЦА 2

## Влияние сульфамонильных производных бензойной кислоты на выделительную функцию почек у крыс (n=7)

| Соединение<br>№№ | Доза,<br>мг/кг | Диурез через |                |           |                |
|------------------|----------------|--------------|----------------|-----------|----------------|
|                  |                | 2 часа       |                | 4 часа    |                |
|                  |                | М±m, мл      | в % к контролю | М±m, мл   | в % к контролю |
| 1                | 1,40           | 1,34±0,07    | 95,0           | 2,6±0,21  | 102,9          |
| 2                | 2,25           | 1,36±0,08    | 96,4           | 2,9±0,19  | 114,6          |
| 3                | 2,02           | 0,75±0,07    | 53,2           | 1,8±0,11  | 71,1           |
| 4                | 1,65           | 1,68±0,12    | 119,1          | 3,4±0,13  | 134,4          |
| 5                | 1,50           | 0,62±0,09    | 44,0           | 1,9±0,23  | 75,1           |
| 6                | 2,07           | 1,22±0,11    | 86,5           | 2,3±0,12  | 90,9           |
| 7                | 2,60           | 1,43±0,08    | 101,4          | 2,6±0,14  | 102,8          |
| Контроль         |                | 1,41±0,09    | 100            | 2,53±0,17 | 100            |
| 8                | 2,45           | 0,64±0,05    | 46,4           | 1,91±0,09 | 76,4           |
| 9                | 1,35           | 1,58±0,02    | 114,5          | 4,2±0,22  | 168,0          |
| 10               | 2,10           | 2,25±0,03    | 163,0          | 4,0±0,11  | 160,0          |
| 11               | 2,07           | 1,19±0,02    | 86,2           | 3,16±0,23 | 126,4          |
| 12               | 1,35           | 1,43±0,05    | 103,6          | 3,2±0,19  | 128,0          |
| 13               | 1,75           | 1,37±0,02    | 99,3           | 3,8±0,24  | 152,0          |
| 14               | 1,60           | 1,26±0,03    | 91,3           | 2,3±0,17  | 92,0           |
| 15               | 1,25           | 1,23±0,05    | 89,1           | 2,58±0,09 | 103,2          |
| 16               | 2,90           | 2,37±0,02    | 171,7          | 5,22±0,21 | 208,8          |
| 17               | 3,05           | 1,56±0,03    | 113,0          | 3,6±0,12  | 144,0          |
| Адиурекрин       | 10,0           | 0,28±0,02    | 20,3           | 1,28±0,04 | 51,2           |
| Гипотиазид       | 50,0           | 2,12±0,02    | 153,6          | 4,23±0,26 | 169,2          |
| Контроль         |                | 1,38±0,05    | 100            | 2,50±0,09 | 100            |

Примечание: \* – при  $p < 0,05$  по отношению к контролю.

соединения относятся к умеренно токсичным веществам.

Анализ результатов изучения диуретической активности показал, что в ряду сульфамонильных производных бензойной кислоты (соед. 1-17) выраженный диуретический эффект проявили соединения 9, 10, 12, 13, 16 и 17 (табл. 2). Они вызывали увеличение количества выделяемой мочи на 28-108,8%. Наибольший диуретический эффект оказывало соединение 16. В дозе 2,9 мг/кг оно вызывало увеличение водного диуреза на 108,8%. Замена в сульфамонильном фрагменте находящегося в 5-м положении молекулы бензойной кислоты 2-метоксифенильного радикала (соед. 16) на атом водорода (соед. 9), карбоксильной группы (соед. 16) на 3-нитроанилиновый заместитель (соед. 9) и атома брома (соед. 16) на карбоксигруппу (соед. 9) приводит к уменьшению диуреза на 40,8%. При введении атома хлора в 1-е положение фенильного ядра молекулы бензойной кислоты (соед. 10, 13) вместо 3-нитроанилинового радикала (соед. 9), а также замена во 2-м положении карбоксигруппы (соед. 9) на  $\beta$ -(2-оксибензил)гидразиновый

й (соед. 10) и (5-нитробензил)гидразидный (соед. 13) заместители приводит к уменьшению диуретического эффекта данных веществ.

Антидиуретический эффект проявили вещества, содержащие в 1-м положении молекулы бензойной кислоты атом хлора (соед. 3, 5) и (2-хлор)анилин (соед. 8). Содержание во 2-м положении  $\beta$ -оксиэтиламинного (соед. 3), метильного (соед. 5) и карбоксильного заместителей привело к уменьшению количества выделяемой мочи на 23,6-28,9%. Наибольший антидиуретический эффект вызывало соединение 3, которое в дозе 2,02 мг/кг уменьшало водный диурез на 28,9%. По угнетению выделительной функции почек соединение 3 уступает антидиуретическому эффекту адиурекрина.

## ВЫВОДЫ

1. Исследование острой токсичности сульфамонильных производных бензойной кислоты показало, что изученные соединения относятся к умеренно токсичным веществам.

2. Соединение 16, содержащее 2-метоксифенильный, карбоксильный заместители и атом

брома, збільшує діурез на 108,8% і по активності перевищує дію гіпотіазиду.

3. Соединение 16 оказывает выраженное диуретическое действие, что делает его перспективным для дальнейшего изучения в качестве фармакологического вещества, обладающего диуретической активностью.

4. Сульфамойльные производные бензойной кислоты являются перспективной группой веществ для проведения синтеза и фармакологического скрининга с целью отбора высокоактивных фармакологических веществ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Берхин Е.Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек // Хим.-фарм. журн. — 1977. — Т. 11. — №5. — С. 3-11.
2. Глезер Г.А. Диуретики. Руководство для врачей. — М.: Интербук-бизнес, 1993. — 352 с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В.Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — 528 с.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — 15-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: РИА «Новая волна», 2008. — 1206 с.
5. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Элементы экспериментальной фармакологии. — М.: Медицина, 2000. — 352 с.
6. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // Токсикол. новых пром. хим. в-в. — М., 1973. — Вып. 13. — С. 47-60.
7. Шейман Д.А. Патология почек. — Пер. с англ. — 2-е изд., испр. — М.-СПб.: БИНОМ — Невский Диалект, 1999. — 206 с.
8. A double-blind, randomized study evaluating losartan potassium monotherapy or in combination with hydrochlorothiazide versus placebo in obese patients with hypertension / S.Oparil, N.Abate, E.Chen et al. // Curr. Med. Res. Opin. — 2008. — Vol. 24. — №4. — P. 1101-1114.
9. Application of derivative spectrophotometry for determination of enalapril, hydrochlorothiazide and valsartan in complex pharmaceutical preparations / M.Stolarczyk, A.Ma lanka, J.Krzek, J.Milczarek // Acta Pol. Pharm. — 2008. — Vol. 65. — №3. — P. 275-281.
10. Combination therapy with valsartan/hydrochlorothiazide at doses up to 320/25 mg improves blood pressure levels in patients with hypertension inadequately controlled by valsartan 320 mg monotherapy / J.Tuomilehto, A.Tykarski, P.Baumgart et al. // Blood Press. Suppl. — 2008. — №1. — P. 15-23.
11. Miura S., Saku K. Angiotensin II type 1 receptor blocker combined with hydrochlorothiazide for the treatment of hypertension // Intern. Med. — 2008. — Vol. 47. — №13. — P. 1163-1164.
12. Neldam S., Edwards C. Results of increasing doses of hydrochlorothiazide in combination with an Angiotensin receptor blocker in patients with uncontrolled hypertension // J. Clin. Hypertens. — 2008. — №8. — P. 612-618.
13. Plosker G.L., White W.B. Telmisartan/Hydrochlorothiazide: a review of its use as fixed-dose combinations in essential hypertension // Drugs. — 2008. — Vol. 68. — №13. — P. 1877-1899.
14. Randomized, double-blinded trial evaluation of valsartan/hydrochlorothiazide combination therapy in mild to moderate essential hypertension in north-east China / S.Zhang, B.Yu, L.Li et al. // J. Int. Med. Res. — 2008. — Vol. 36. — №4. — P. 630-637.
15. The efficacy and safety of initial use of irbesartan/hydrochlorothiazide fixed-dose combination in hypertensive patients with and without high cardiovascular risk / M.R.Weir, J.M.Neutel, A.Bhaumik et al. // J. Clin. Hypertens. — 2007. — Vol. 9. — №12. — P. 23-30.
16. White W.B., Cleveland J.M., Rolleri R.L. Utility of semi-automatic clinic and 24-h ambulatory blood pressure measurements to evaluate combination therapy: the Ramipril-Hydrochlorothiazide Hypertension trial // J. Hum. Hypertens. — 2008. — Vol. 22. — №8. — P. 559-568.

**В.Е.Кашута. Гостра токсичність і діуретична активність сульфамойльних похідних бензойної кислоти. Харків, Україна.**

**Ключові слова:** сульфамойльні похідні бензойної кислоти, гостра токсичність, діуретична активність.

Проведено експериментальне дослідження гострої токсичності та впливу на видільну функцію нирок 17-ті вперше синтезованих сполук у ряду сульфамойльних похідних бензойної кислоти. У досліджах на щурах лінії Вістар встановлено, що більшість сполук збільшує діурез за 4 години спостереження на 14,6-108,8%. Найбільшу діуретичну активність проявило з'єднання №16, яке збільшувало кількість сечі на 108,8% ( $p < 0,05$ ). Сульфамойльні похідні бензойної кислоти є перспективною групою для подальшого проведення синтезу та фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі високоактивних фармакологічних речовин.

**V.E.Kashuta. Acute toxicity and diuretic activity sulfamoyl derivatives benzoic acid. Kharkiv, Ukraine.**

**Key words:** sulfamoyl derivatives of benzoic acid, acute toxicity, diuretic activity.

An experimental study of acute toxicity and effects on renal excretory function of 17 newly synthesized substances sulfamoyl in a number of derivatives of benzoic acid. In experiments on Wistar rats revealed that the majority of compounds increased diuresis in rats for 4 hours of observation at 14,6-108,8%. The greatest diuretic activity has shown a connection №16, which increased the amount of urine released at 108,8% ( $p < 0,05$ ). Sulfamoyl derivatives of benzoic acid is a promising team for the continuation of the synthesis and pharmacological screening in order to establish on the basis of highly active pharmacological substances.

Надійшла до редакції 30.08.2009 р.