

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри молекулярної
біотехнології та біоінформатики
к.б.н, доц. О. Ю. Нипорко
Протокол №____ засідання кафедри
від “ ____ ” _____ 20__ р.

**ГІПОГЛІКЕМІЧНА АКТИВНІСТЬ ТІАКАЛІКС[4]АРЕНІВ,
ФУНКЦІОНАЛІЗОВАНИХ СУЛЬФОНІЛСЕЧОВИННИМИ ГРУПАМИ**

Випускна кваліфікаційна робота бакалавра
студента спеціальності
091 Біологія
ОП «Біологія (високі технології)»
Форися Іллі Сергійовича
Науковий керівник від кафедри
доцент кафедри молекулярної
біотехнології та біоінформатики
д.б.н. **Цимбалюк Ольга Володимирівна**

Робота виконана у лабораторії медико-біологічних досліджень відділу
хімії макроциклічних сполук Інституту органічної хімії НАН України
під керівництвом к.х.н. **Р. В. Родіка**

Оцінка захисту роботи

Київ – 2022 р.

АНОТАЦІЯ

Форись І. С. Гіпоглікемічна активність тіакалікс[4]аренів, функціоналізованих сульфонілсечовинними групами. – Випускна кваліфікаційна робота бакалавра за спеціальністю 091 Біологія ОП «Біологія (високі технології)».

У роботі досліджується здатність функціоналізованих макроциклічних сполук – тіакалікс[4]аренів впливати на вуглеводний обмін та знижувати концентрацію глюкози в крові здорових мишей та мишей зі штучно створеним станом цукрового діабету. Макромолекули досліджуваних тіакалікс[4]аренів функціоналізовані по верхньому вінцю двома або чотирма сульфонілсечовинними групами. Сполуки, що містять такі фрагменти, зарекомендували себе як ефективний клас пероральних цукрознижувальних лікарських засобів у терапії цукрового діабету II типу.

У теоретичній частині роботи представлена актуальна інформація про цукровий діабет та терапію пероральними цукрознижувальними засобами. Розглянуто сучасний стан знань про калікс[n]арени та їхні біомедичні перспективи застосування.

Практичні результати роботи свідчать про те, що тіакалікс[4]арени, модифіковані сульфонілсечовинними групами, здатні ефективно знижувати концентрацію глюкози в крові лабораторних тварин. В окремих дозах вони відзначаються значним гіпоглікемічним ефектом та пролонгованою дією.

Результати можуть бути використані для подальших досліджень (тіа)калікс[n]аренів та інших супрамолекулярних макроциклічних сполук з метою створення нових вискоефективних антидіабетичних лікарських засобів.

Ключові слова: тіакалікс[4]арени; цукровий діабет; глікемія; гіпоглікемічний ефект; калікс[n]арени; похідні сульфонілсечовини; стрептозоточин.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	5
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1.....	9
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	9
1.1. Глікемія та її регуляція, гіпо- ті гіперглікемія.....	9
1.2. Цукровий діабет: типи, причини, лікування, патогенез.....	12
1.2.1. Загальні принципи лікування цукрового діабету	14
1.2.2. Патогенез цукрового діабету II типу.....	15
1.3. Лікарські засоби для боротьби з цукровим діабетом II типу.....	16
1.3.1. Метформін – представник класу похідних бігуаніду.....	16
1.3.2. Гліфлозини – інгібітори SGLT-2	17
1.3.3. Стимулятори активності гормонів-інкретинів (інкретиноміметики) ...	18
1.3.4. Тіазолідиндіони (глітазони).....	20
1.3.5. Інгібітори α -глюкозидази.....	21
1.4. Похідні сульфонілсечовини у терапії цукрового діабету II типу	22
1.4.1. Механізм дії похідних сульфонілсечовини	24
1.4.2. Особливості терапії похідними сульфонілсечовини	25
1.5. Калікс[n]арени – перспективна молекулярна платформа для дизайну лікарських сполук	26
1.5.1. Синтез та хімічна модифікація калікс[n]аренів	28
1.5.2. Калікс[n]арени з гетероатомними фрагментами. Тіакалікс[n]арени	29
1.5.3. Біомедичні перспективи застосування калікс[n]аренів.....	32
1.5.4. Протидіабетична активність калікс[4]аренів	33
1.6. Експериментальна стрептозотоцинова модель цукрового діабету	36
РОЗДІЛ 2.....	40
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	40

2.1. Сполуки з гіпоглікемічною активністю, що використовувалися в експериментах	40
2.1.1. Тіакаліксарен 1	40
2.1.2. Тіакаліксарен 2	43
2.1.3. Глібенкламід	47
2.2. Опис методу дослідження гіпоглікемічної активності	47
2.3. Метод створення стрептозотоцин-індукованої моделі цукрового діабету	49
РОЗДІЛ 3.....	50
РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	50
3.1. Дослідження нормоглікемії мишей	50
3.2. Дослідження гіпоглікемічної активності тіакаліксарену 1	51
3.3. Дослідження гіпоглікемічної активності тіакаліксарену 2	53
3.4. Стрептозотоцин-індукований цукровий діабет у мишей	57
3.5. Дослідження гіпоглікемічної активності тіакаліксарену 2 на стрептозотоциновій моделі цукрового діабету	59
ВИСНОВКИ	62
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	64

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

STZ – стрептозотоцин

ГПП-1 – глюкагоноподібний пептид-1

ДМФА – диметилформаїд

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ДПП-4 – дипептидилпептидаза-4

Каліксарен **1** – 5,17-ди(4-сульфонілтолуол)уреїдо-11,23-ди-*трет*-бутил-26,28-дигідрокси-25,27-дипропоксикалікс[4]арен

Каліксарен **2** – 5,11,17,23-тетра(4-сульфонілтолуол)уреїдо-25,26,27,28-тетрапропоксикалікс[4]арен

ЛЗ – лікарський засіб (лікарські засоби)

МТБЕ – метил-*трет*-бутиловий етер

ПЗ – підшлункова залоза

ПС – похідні сульфонілсечовини

Тіакаліксарен **1** – 5,17-ди(4-сульфонілтолуол)уреїдо-26,28-дигексилокси-25,27-дигідрокситіакалікс[4]арен

Тіакаліксарен **2** – 5,11,17,23-тетракіс(4-сульфонілтолуол)уреїдо-25,27-дигексилокси-26,28-дигідрокситіакалікс[4]арен

ЦД – цукровий діабет

ВСТУП

На сьогодні у світі на цукровий діабет (ЦД) хворіє більше 420 мільйонів людей, а до 2030 року кількість хворих може сягнути 600 мільйонів. При цьому зростає не тільки кількість випадків захворювання, а й відсоток поширеності діабету в структурі хвороб. ЦД характеризується недостатністю гормону інсуліну, виникненням інсулінорезистентності, і, як наслідок, стійкою гіперглікемією та порушенням усіх видів обміну речовин. Супутні хвороби та смертність пов'язані з ускладненнями від ЦД, серед яких кардіоваскулярні захворювання, печінкова та ниркова недостатність, нефро-, нейро- та ретинопатії тощо [1, 2].

У боротьбі з ЦД основною метою є нормалізація рівня глікемії в організмі, яка досягається за рахунок інсулінотерапії та/або прийому пероральних цукрознижувальних засобів. І хоча їх арсенал постійно розширюється, контроль глікемії часто залишається важким завданням, а ускладнення значно погіршують ситуацію. Основними класами пероральних цукрознижувальних препаратів є бігуаніди (метформін), похідні сульфонілсечовини (глібенкламід, глімепірид), тiazолідиндіони (піоглітазон), інгібітори α -глюкозидази (акарбоза), гліфлозини (інгібітори натрій-глюкозного котранспортера 2 типу) та гліптини (інгібітори дипептидилпептидази-4) [3].

Калікс[n]арени – макроциклічні сполуки чашоподібної будови, які широко використовуються в якості молекулярних платформ для дизайну специфічних біологічно активних сполук [4-8]. Калікс[n]арени з сульфідними містковими групами замість метиленових отримали назву тіакалікс[n]арени. Враховуючи більший розмір ліпофільної порожнини макроциклу тіакалікс[n]аренів та дещо інші особливості їх геометрії, вони в деякому сенсі є більш привабливими структурами для створення біологічно активних сполук, ніж калікс[n]арени [9, 10]. Розміщення на калікс[4]ареновій або

тіакалікс[4]ареновій платформі спільнонапрямлених у просторі функціональних груп з дослідженою протидіабетичною активністю, зокрема сульфонілсечовинних, значно збільшує локальну концентрацію фармакофорів у молекулі, а кооперативний ефект макроциклу та функціональних груп також підвищує біоактивність молекули [4]. Беручи до уваги фармакокінетичні особливості та механізм дії ЛЗ (лікарських засобів) класу похідних сульфонілсечовини, можна передбачити, що калікс[4]арени або тіакалікс[4]арени, модифіковані сульфонілкарбамідними функціональними групами, також будуть впливати на процеси обміну глюкози.

З огляду на проблему поширення ЦД як світової неінфекційної пандемії, на сьогодні є **актуальним** розширення арсеналу ЛЗ для боротьби з ЦД, так як це дасть змогу розширити підходи до лікування, комбінування препаратів для покращення контролю глікемії та перебігу хвороби загалом.

Таким чином, **метою** роботи є дослідження гіпоглікемічної активності тіакалікс[4]аренів, функціоналізованих фармакофорними сульфонілсечовинними групами, що потенційно могло б сприяти розвитку наших знань про механізми лікування ЦД та створенню нового ефективного класу ЛЗ у боротьбі з ЦД II типу. Відповідно було сформовано наступні **завдання**:

1) дослідити глюкозознижувальну активність тіакалікс[4]аренів, модифікованих фармакофорними сульфонілсечовинними (сульфонілкарбамідними) групами у порівнянні з референс-препаратом глібенкламідом;

2) створити штучну модель цукрового діабету у лабораторних тварин та дослідити в цих умовах гіпоглікемічну активність найбільш ефективних доз сульфонілкарбамідотіакалікс[4]аренів, порівняти результат з активністю референс-препарату глібенкламід.

Оскільки ми аналізуємо активність сполук, синтезованих вперше, то результати є абсолютно унікальними з точки зору **наукової новизни**. Відповідно, відомі методи дослідження та аналізу гіпоглікемічних властивостей сполук, а також метод створення штучної моделі цукрового діабету дістали подальший розвиток та були певною мірою оптимізовані.

Отримані в роботі результати є певним внеском до масового пошуку та дослідження нових класів ЛЗ для боротьби з ЦД II типу. Ці результати можуть бути використані для подальших досліджень (тіа)калікс[*n*]аренів та інших супрамолекулярних сполук з метою створення нових високоефективних антидіабетичних ЛЗ.

В оглядовій частині роботи представлена актуальна інформація про типи, причини та патогенез цукрового діабету. Описані класи цукрознижувальних ЛЗ, що використовуються у терапії цукрового діабету II типу, особливу увагу приділено класу похідних сульфонілсечовини через їх безпосередній зв'язок з досліджуваними у роботі сполуками. Розглянуто сучасний стан знань про калікс[*n*]арени та їхні біомедичні перспективи застосування.

У практичній частині роботи представлена інформація про використані методи та матеріали, продемонстровані результати досліджень гіпоглікемічної активності тіакалікс[4]аренів, модифікованих сульфонілкарбамідними групами, проаналізовано ефективність досліджуваних сполук, в тому числі на штучно створеній моделі цукрового діабету у лабораторних тварин.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Глікемія та її регуляція, гіпо- ті гіперглікемія

Глюкоза – найбільш використовуване універсальне джерело енергії в організмі людини. Тому одним з найважливіших гомеостазів організму є постійний вміст глюкози (у певному діапазоні концентрацій) у крові – явище, яке отримало назву глікемія.

Концентрація глюкози різна в капілярній і венозній крові та коливається залежно від прийому їжі. У нормі при вимірюванні натще в капілярній крові вміст глюкози складає 3.3 – 5.5 ммоль/л, у венозній 3.3 – 6.1 ммоль/л. Через дві години після прийому їжі концентрація глюкози не повинна перевищувати 7.8 ммоль/л як для капілярної, так і для венозної крові [2].

Нормоглікемія підтримується за рахунок рівноваги між надходженням глюкози в кров та процесами її обміну в тканинах (у печінці, м'язах, мозку тощо). До гормональної регуляції залучені інсулін, глюкагон, адреналін, соматотропін, глюкостероїди [11, 12].

Підвищення концентрації глюкози стимулює секрецію β -клітинами підшлункової залози (ПЗ) інсуліну, який підвищує проникність клітинних мембран скелетних м'язів, жирової тканини для глюкози, яка дифундує за допомогою білка-переносника GLUT4 (ГЛЮТ-4, глюкозний транспортер 4 типу) [13, 14]. Як тільки глюкоза потрапляє в клітину, вона фосфорилується в глюкозо-6-фосфат за допомогою ензимів гексокінази або глюкостероїди для збереження градієнту концентрації з метою продовження надходження глюкози в клітину [15]. У клітинах інсулін контролює концентрацію глюкози різними шляхами. По-перше, гормон блокує метаболічні шляхи, кінцевим продуктом яких є глюкоза (глюкостероїди та глюкостероїди) [16]. По-друге, у печінці та

м'язах інсулін стимулює гліколіз, у якому глюкоза перетворюється на піруват, а той в свою чергу декарбоксилюється з утворенням ацетил-КоА, необхідного для забезпечення енергетичних процесів [17]. По-третє, інсулін стимулює посилення синтезу глікогену шляхом підвищення експресії глюкокінази печінки та активації гексокінази та глікогенсинтази у м'язах [18]. Крім того, інсулін стимулює перетворення у жировій тканині й печінці глюкози в жирні кислоти, які утворюють тканинні резерви у вигляді тригліцеридів жирової клітковини [19, 20]. У м'язовій тканині інсулін стимулює захоплення амінокислот і синтез білків. Залишок амінокислот перетворюється у печінці до пірувату та ацетил-КоА і використовується для синтезу жирів [12, 21].

Усі інші гормони, що залучені до метаболізму глюкози та підтримання нормоглікемії, є контрінсуліновими. Так, глюкагон, гормон α -клітин ПЗ, є основним антагоністом інсуліну та відповідає за вивільнення глюкози з глікогену печінки шляхом глікогенолізу та сприяє глюконеогенезу [22]. Глюкагон також сприяє зменшенню синтезу жирних кислот у печінці та жировій тканині й сприяє ліполізу в цих тканинах, що змушує їх вивільняти жирні кислоти, які далі катаболізуються для виробництва енергії в скелетних м'язах [23].

Зв'язування адреналіну з α -адренергічними рецепторами пригнічує секрецію інсуліну підшлунковою залозою, стимулює глікогеноліз у печінці та м'язах [24], а також стимулює гліколіз та інгібує інсулін-опосередкований глікогенез у м'язах [25, 26]. Зв'язування з β -адренергічними рецепторами викликає секрецію глюкагону підшлунковою залозою, посилення секреції адренкортикотропного гормону гіпофізом і посилення ліполізу жировою тканиною. Разом ці ефекти приводять до підвищення в крові концентрації глюкози та жирних кислот, забезпечуючи субстрати для виробництва енергії в клітинах всього організму [26]. Глюкокортикоїди, зокрема кортизол, стимулюють глюконеогенез у печінці, в тому числі шляхом посилення експресії

ферментів, що беруть участь у глюконеогенезі, та пригнічують поглинання глюкози м'язами та жировою тканиною [27]. Соматотропний гормон стимулює глюконеогенез та посилює утилізацію глюкози в тканинах [28].

Таким чином, лише інсулін здатний знижувати концентрацію глюкози в крові, натомість цілий ряд гормонів її підвищує. Така надійна система регуляції свідчить про те, що для організму наслідки гіпоглікемії є більш небезпечними, ніж гіперглікемії. За рахунок злагодженої дії гормонів досягається досконалість регуляції нормоглікемії та забезпечується пристосування обміну вуглеводів до змін фізіологічних умов.

Гіпоглікемічним називають стан, коли постійна концентрація глюкози в плазмі крові нижча за норму, тобто нижче за 3.5 ммоль/л [29]. Причини глікемії [30, 31] наведені у **таблиці 1.1**. Серед симптомів, які зазвичай настають майже одразу, виділяють: почуття сильного голоду, головний біль, слабкість, сонливість, пітливість, важке дихання, судоми, тахікардія, нудота, блідуватість, порушення координації та когнітивних здібностей тощо [29-33]. Повторювана гіпоглікемія здатна викликати захворювання головного мозку. Також до її хронічних наслідків відносять порушення роботи серця, органів дихання, зору, м'язів, судоми, втрату свідомості і навіть смерть [33].

Гіперглікемія – це стан, при якому в плазмі крові спостерігається підвищена кількість глюкози [34], що зумовлено переважанням швидкості надходження її у кров над швидкістю її утилізації. Гіперглікемію розрізняють за ступенем тяжкості. Причини [35-38] наведені у **таблиці 1.1**. Серед симптомів, якими супроводжується гіперглікемія, виділяють: сухість в роті та відчуття негамовної спраги (полідипсія), підвищений апетит (поліфагія), збільшення об'єму сечовиділення (поліурія), озноб, свербіж шкіри, слабкість, стрес, порушення ваги, повільне заживлення ран та порізів. Гіперглікемія може виникнути як гостро, так і мати хронічний перебіг.

Таблиця 1.1. Найбільш поширені причини гіпо- та гіперглікемії

Причини гіпоглікемії	Причини гіперглікемії
Зневоднення, голодування	Стрес, біль, наркоз, емоційні напруження
Зловживання алкоголем	Абсолютна/відносна недостатність інсулярного апарату (цукровий діабет)
Під час вагітності, лактації	Під час вагітності
Надмірне введення інсуліну або пероральних цукрознижувальних засобів у хворих на діабет	Внаслідок прийому епінефрину, кофеїну, морфіну, нікотинової кислоти, тиреоїдних гормонів тощо
Хвороби ПЗ, печінки, нирок, надниркових залоз	Хвороби ПЗ, ендокринної системи, нирок, печінки
Гормональна недостатність кортизолу, глюкагону, адреналіну	Надлишкова секреція кортизолу, глюкагону тощо
Неякісний раціон з нестачею білків, вуглеводів, клітковини	Вживання їжі з високим вмістом вуглеводів, що легко засвоюються
Надмірне фізичне навантаження	Інфаркт міокарда

1.2. Цукровий діабет: типи, причини, лікування, патогенез

Цукровий діабет (ЦД) – це група хронічних ендокринних захворювань, що супроводжуються стійким тривалим підвищеним вмістом глюкози в крові – гіперглікемією. Характеризується порушенням усіх видів обміну речовин: вуглеводного, жирового, білкового, мінерального і водно-сольового [1, 39]. Обов’язковими симптомами є невгамовна спрага, порушення харчової поведінки (підвищений апетит) та збільшення об’єму сечовиділення [34].

Існує багато класифікацій ЦД за різними ознаками, проте найбільш тривіальною і традиційною є етіологічна класифікація, що включає цукровий діабет I та II типів, гестаційний ЦД (розвивається під час вагітності) та деякі інші форми [40, 41]. У таблиці 1.2 подано порівняння ЦД I та II типів [42].

Таблиця 1.2 Порівняння цукрового діабету I та II типу за основними ознаками

Критерій	I тип (інсулінозалежний)	II тип (інсулінонезалежний)
1. Основна причина	недостатнє виробництво інсуліну β -клітинами ПЗ	порушення взаємодії інсуліну з клітинами тканин організму (інсулінорезистентність)
2. Вік на початку	Частіше до 25-30 років	Звичайно понад 35-40 років
3. Частка хворих	5-10%	90-95%
4. Характер початку	Раптовий, швидкий розвиток симптомів	Непомітний та поступовий розвиток симптомів
5. Статура	Худа або нормальна	Ожиріння у 60-80% випадків
6. Спадкова схильність	Не завжди виявляють	Частіше присутня
7. Зв'язок з аутоімунними захворюваннями	Частий	Немає
8. Антитіла до β -клітин	Визначаються	Не визначаються
9. Основні методи лікування	Інсулінотерапія, дієта, здоровий спосіб життя	Пероральні цукрознижувальні засоби, дієта, фізична активність
10. Потреба в інсулінотерапії	Є	Переважно немає

Причини появи ЦД I типу загалом обумовлені аутоімунними процесами (гломерулонефрит, тиреоїдит, вовчак), при цьому кількість інсуліну значно зменшується аж до повного припинення секреції [43, 44]. Часто внаслідок вірусних інфекцій (мононуклеозу, епідемічного паротиту, гострого або хронічного гепатиту) у хворого реєструють ЦД. На тлі інфекції після пошкодження β -клітин ПЗ спостерігається утворення антитіл до останніх [45-47]. Підвищена активність кілерних Т-клітин також сприяє розвитку ЦД I типу [44].

1.2.1. Загальні принципи лікування цукрового діабету

Навчання пацієнтів є найнеобхіднішим фактором безпеки – людина повинна знати, як самостійно контролювати необхідну концентрацію глюкози в крові, як уникати випадки гіпо- та гіперглікемії та як поводитися, якщо вони настають [48, 49]. Ключовим у подоланні або стримуванні хвороби є здоровий спосіб життя, який включає певну дієту, регулярну фізичну активність, уникнення шкідливих звичок, стресу та забезпечення оптимальної тривалості сну [50-53]. Фармакологічне лікування залежить від типу ЦД: у випадку I типу, в першу чергу, призначається інсулінотерапія, у випадку II типу – пероральні цукрознижувальні ЛЗ.

Таким чином забезпечується нормалізація вуглеводного обміну, що досягається одночасно забезпеченням клітин інсуліном (різними шляхами залежно від типу діабету) та забезпеченням рівномірного надходження вуглеводів (за рахунок дієти).

1.2.2. Патогенез цукрового діабету II типу

Оскільки дана робота базується на ідеї пошуку та розробки нових ефективних пероральних цукрознижувальних ЛЗ у боротьбі з ЦД II типу, то вважаємо за необхідне детально розглянути патогенез цього захворювання.

ЦД II типу характеризується стійкою гіперглікемією та порушенням усіх видів обміну речовин (насамперед, вуглеводного) на тлі відносної недостатності інсуліну та порушень взаємодії інсуліну з клітинами тканин організму (інсулінорезистентність) [54]. Ожиріння є найчастішим фактором ризику захворювання, і поширене майже у 80% хворих на ЦД II типу [42, 55].

Патогенез ЦД II типу включає два ведучих фактори: інсулінорезистентність (або ожиріння, яке до неї призводить) та знижену секреторну активність β -клітин ПЗ або їх нечутливість до гіперглікемії [3].

Досить часто у хворих спостерігається гіперінсулінемія, яку можна розглядати як компенсаторну у відповідь на інсулінорезистентність (нечутливість тканин до інсуліну). Гіперінсулінемія зменшує число рецепторів до інсуліну на клітинах-мішенях та сприяє ожирінню. Організм може тривалий час підтримувати баланс між інсулінорезистентністю та гіперінсулінемією, але зрештою, за кілька років, β -клітини ПЗ виснажуються, стають неспроможні виробляти необхідну для подолання інсулінорезистентності кількість інсуліну, у результаті чого виникає вже дефіцит інсуліну, через який знижується утилізація глюкози в тканинах і посилюються процеси глікогенолізу та глюконеогенезу в печінці, що підвищує продукцію глюкози і збільшує гіперглікемію [3].

Крім вуглеводного, спостерігаються значні порушення усіх видів обміну речовин. Зниження секреції інсуліну порушує рівноважну взаємодію гормонів, що призводить до гіперпродукції контрінсулінових гормонів і посилення метаболічних розладів [56].

1.3. Лікарські засоби для боротьби з цукровим діабетом II типу

На сьогодні існує декілька основних класів пероральних цукрознижувальних ЛЗ для боротьби з діабетом II типу. Вони мають різні механізми дії, впливаючи на окремі ланцюги біохімічних процесів в організмі. Зазвичай ЛЗ різних класів комбінують, чергують між собою, враховуючи індивідуальні протипоказання, побічні дії та інше. Нижче подано основні терапевтичні аспекти, переваги кожного класу, описано механізм дії, наведено основних представників тощо. Клас похідних сульфонілсечовини буде розглянуто детальніше через його безпосередній зв'язок з досліджуваними сполуками за механізмом дії, структурними та фармакокінетичними особливостями.

1.3.1. Метформін – представник класу похідних бігуаніду

Найбільш універсальним і широко використовуваним препаратом вже досить довгий час є Метформін (**рис 1.1**), який належить до класу похідних бігуаніду [57, 58]. Метформін попереджає підвищення рівня глюкози в крові, не впливаючи на синтез інсуліну β -клітинами ПЗ. До переваг цього засобу також можна віднести позитивний вплив на масу тіла, низький ризик гіпоглікемії, сприяння зниженню рівня холестерину, тригліцеридів та ліпопротеїнів низької щільності [59, 60]. Метформін не слід застосовувати пацієнтам зі значними проблемами з нирками або з печінкою [61]. Побічні ефекти (шлунково-кишкові розлади) трапляються нечасто. Механізм дії полягає у гальмуванні транспорту електронів дихального ланцюга в оболонці мітохондрій, що приводить до зниження концентрації внутрішньоклітинної АТФ і посилення безкисневого гліколізу. Внаслідок цього посилюється надходження глюкози з позаклітинного простору в клітини, зменшуються запаси глікогену в печінці та збільшується

виділення пірувату й лактату в кишечнику, печінці, м'язовій та жировій тканинах [62-64].

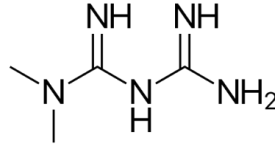


Рис. 1.1 Молекулярна структура Метформіну

1.3.2. Гліфлозини – інгібітори SGLT-2

Серед класу гліфлозинів – інгібіторів SGLT-2 (sodium/glucose cotransporter 2, натрій-глюкозний котранспортер 2 типу) зареєстровано чимало ЛЗ у різних країнах світу протягом останніх 10 років [65-73], наприклад, канагліфлозин (**рис. 1.2**), дапагліфлозин, емпагліфлозин та ертугліфлозин. Механізм дії цих ЛЗ реалізується через обмеження реабсорбції глюкози в проксимальному каналці нефрону і, таким чином, підвищення екскреції її надлишку з сечею [74]. Крім того, гліфлозини сприяють схудненню, покращують деякі метаболічні параметри, знижують артеріальний тиск [75, 76] та мають досить низький ризик гіпоглікемії внаслідок прийому [77].

У терапії гліфлозини використовуються як препарати другого або третього ряду, особливо часто у комбінації з метформіном та/або похідними сульфонілсечовини [78]. Серед побічних ефектів відзначають гіпотензії та зневоднення, підвищений ризик інфекцій сечової системи, пієлонефриту та діабетичного кетоацидозу, симптомами якого є біль у животі, нудота, втома та проблеми з диханням [79].

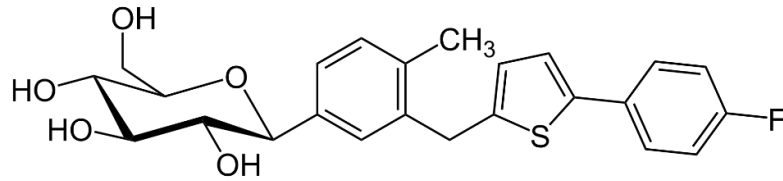


Рис. 1.2 Молекулярна структура канагліфлозину

1.3.3. Стимулятори активності гормонів-інкретинів (інкретиноміметики)

Інкретини – це гормони, що секретуються клітинами тонкого кишечника у відповідь на прийом їжі та викликають стимуляцію секреції інсуліну [80, 81]. Існують два фізіологічних інкретини: глюкозозалежний інсулінотропний поліпептид (ГПП), що секретується К-клітинами дванадцятипалої та тонкої кишок, та глюкагоноподібний пептид-1 (ГПП-1), що секретується L-клітинами тонкої, товстої, дванадцятипалої та клубової кишок [82]. Окрім стимуляції секреції інсуліну, інкретини виконують ряд інших важливих функцій, зокрема пригнічують надлишковий глюкозозалежний синтез глюкагону [83, 84]; регулюють вплив на моторику шлунково-кишкового тракту [85]; здійснюють стимулюючу дію на ядра гіпоталамусу, залучені у процес регуляції відчуття насичення їжею [82, 84]. Крім того, активація рецепторів ГПП-1 сприяє збільшенню маси та проліферації β-клітин ПЗ та запобігає їхньому апоптозу [84, 86]. Однак ГПП-1 швидко (впродовж 2 хвилин) руйнується ензимом дипептидилпептидазою-4 (ДПП-4), що експресується в кишківнику та на поверхні епітеліальних, ендотеліальних та імунних клітин [87].

Тому для лікування діабету II типу розроблено дві терапевтичні стратегії, спрямовані на інкретинову систему і ЛЗ об'єднали у 2 підкласи:

- 1) агоністи глюкагоноподібного пептиду-1 (ГПП-1);
- 2) інгібітори дипептидилпептидази-4 (ДПП-4) – діють як пролонгатори дії ендогенного ГПП-1.

Механізм дії ЛЗ обох підкласів так чи інакше полягає у прямій чи опосередкованій активації рецепторів ГПП-1, яка приводить до підвищення рівня цАМФ (циклічного аденозинмонофосфату), стимуляції протеїнкінази А та екзоцитозу інсулінових гранул із β -клітин ПЗ у відповідь на підвищення концентрації глюкози в крові [88]. У випадку розвитку гіпоглікемії відповідно знижується секреція інсуліну, але секреція глюкагону не порушується [89]. Таким чином, поліпшення глікемічного контролю при застосуванні інкретиноміметиків полягає у зниженні загального рівня глюкози, зменшенні постпрандіальної глікемії [82] та поліпшенні показника глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) [88].

До агоністів ГПП-1 відносять амідопептиди, які є частковими чи майже повними аналогами людського ГПП-1 [91]. Представниками є ексенатид (**рис. 1.3**), ліраглутид, дулаглутид, семаглутид тощо. Оскільки їх форма випуску у вигляді розчину для парентерального (підшкірного) введення ускладнює можливості використання, альтернативою у вигляді пероральних препаратів виступають інгібітори ДПП-4 (гліптини), що опосередковано підвищують рівень ГПП-1 у 4-5 разів [92, 93]. Представниками є ситагліптин (**рис. 1.4**), вілдагліптин, саксагліптин, лінагліптин та інші.

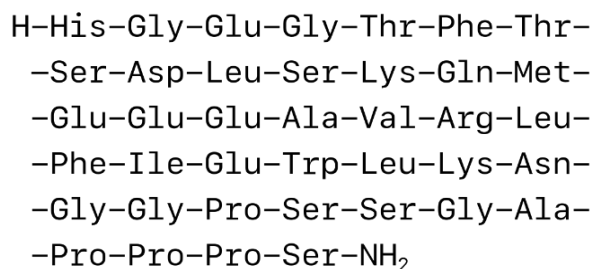


Рис. 1.3 Формула ексенатиду, який складається з 39 амінокислот

Інкретиноміметики досить рідко застосовують у монотерапії, лише у випадках протипоказань пацієнтів до метформіну. Традиційно їх приймають у

комбінації с метформіном, похідними сульфонілсечовини або тiazолідиндіоном [90]. Не рекомендуються ці препарати для пацієнтів з нирковою або печінковою недостатністю. Серед побічних ефектів може спостерігатися головний біль, розлади шлунково-кишкового тракту, запаморочення, артралгії, периферичні набряки [94, 95].

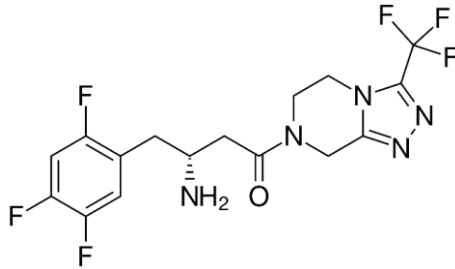


Рис. 1.4 Молекулярна структура ситагліптину

1.3.4. Тіазолідиндіони (глітазони)

Вже більше 20 років тіазолідиндіони використовуються як препарати другого ряду в лікуванні ЦД II типу [96]. Найвідомішим представником класу є піоглітазон (рис. 1.5). Він поступається метформіну та похідним сульфонілсечовини за цукрознижувальною активністю, проте впливає безпосередньо на механізми розвитку резистентності до інсуліну та сприяє збереженню функції β -клітин ПЗ [97].

Піоглітазон є агоністом ядерних гормональних рецепторів PPAR- γ (γ -рецептори, що активуються пероксисомним проліфератором), які наявні у клітинах-мішенях інсуліну в жировій тканині, скелетних м'язах та в печінці. Зв'язування піоглітазону з цими рецепторами вибірково активує експресію генів, які беруть участь у регуляції метаболізму глюкози у клітинах м'язів, печінці та адипоцитах, зокрема, генів фосфоенолпіруваткарбоксікінази, ліпопротеїдліпази, глюкозного транспортера (особливо четвертого типу) [97,

98]. Таким чином, піоглітазон знижує резистентність та стимулює чутливість клітин, зокрема адипоцитів, до інсуліну та їхню спроможність до захоплення глюкози, збільшує запаси глюкози в скелетних м'язах та жировій тканині, зменшує вихід глюкози з печінки, що позитивно впливає на рівень глікемії [99].

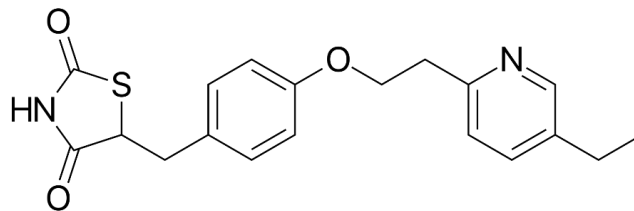


Рис. 1.5 Молекулярна структура піоглітазону

Серед побічних ефектів піоглітазону відзначають головний та м'язовий біль, збільшення маси тіла та набряки через затримку води в організмі, зменшення щільності кісток. Тому застосування препарату обмежують у пацієнтів із низькою щільністю кісткової тканини та високим ризиком переломів, а також у осіб із серцевою та/або печінковою недостатністю [100]. Крім того, існує ризик розвитку раку сечового міхура у осіб, які приймали максимальні дози піоглітазону впродовж тривалого часу [101].

У монотерапії піоглітазон можуть приймати при протипоказаннях до метформіну, але частіше за все його комбінують з метформіном, похідними сульфонілсечовини або інкретиноміметиками [90].

1.3.5. Інгібітори α -глюкозидази

Інгібітори α -глюкозидази – це сахариди, які діють як конкурентні інгібітори ферментів, необхідних для перетравлення (гідролізу) оліго-, ди- та полісахаридів до глюкози та інших моносахаридів у тонкому кишечнику. Препарат акарбоза (**рис. 1.6**) також на додаток блокує панкреатичну α -амілазу,

яка гідролізує складні крохмалі до олігосахаридів у просвіті тонкої кишки [102-104]. Пригнічення цих ферментних систем знижує швидкість перетравлення вуглеводів до глюкози, внаслідок чого її засвоюється значно менше, що знижує також рівень постпрандіальної гіперглікемії [105].

Представниками класу є акарбоза, міглітол та воглібоз. Їх призначають у комбінації з похідними сульфонілсечовини, метформіном та/або інсуліном [106, 107]. Застосування цих ЛЗ обмежено у пацієнтів, що мають хронічні захворювання шлунково-кишкового тракту та печінкову недостатність. Побічними ефектами при застосуванні високих доз виступали шлунково-кишкові розлади. Також існує ризик раптової гіпоглікемії, тому пацієнт завжди має мати при собі щось, що містить моносахариди, на які не поширюється дія препарату [106].

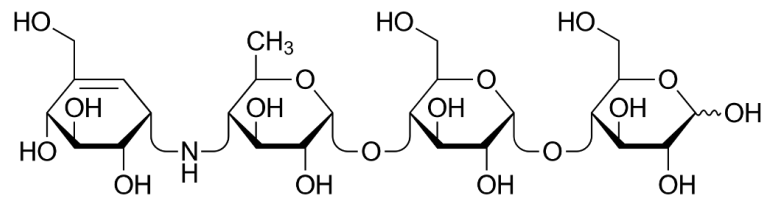


Рис. 1.6 Молекулярна структура акарбози

1.4. Похідні сульфонілсечовини у терапії цукрового діабету II типу

Незважаючи на велику різноманітність сучасних пероральних цукрознижувальних засобів, похідні сульфонілсечовини (ПС) вже понад 50 років залишаються одними з найбільш застосовуваних препаратів у терапії діабету II типу, що зумовлено їхньою невисокою вартістю та доступністю комбінованих із метформіном форм [108]. Механізм дії цих ЛЗ полягає у збільшенні вивільнення інсуліну з β -клітин ПЗ шляхом стимуляції специфічних рецепторів сульфонілсечовини, що знаходяться на мембрані β -клітин [109].

Виділяють два покоління препаратів на основі ПС. До першого належать толбутамід, хлорпропамід, карбутамід, толазамід тощо. До другого – глібенкламід (рис. 1.7), глімепірид, гліклазид, гліпізид, гліквідон та інші. Препарати першого покоління вже майже не використовуються через значно більший ризик гіпоглікемії та серцево-судинних захворювань з летальним кінцем [110, 111]. ПС другого покоління значно безпечніші, переважно завдяки зниженню кількості епізодів гіпоглікемії, у зв'язку з чим саме їм віддають перевагу у лікуванні. Вони однаково ефективні в зниженні концентрації глюкози в крові, проте відрізняються за фармакокінетикою та дозуванням [108].

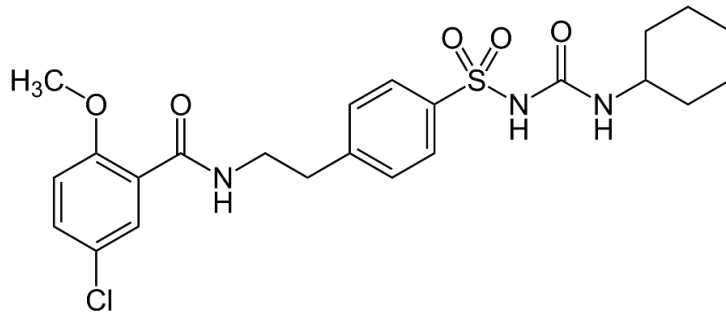


Рис. 1.7 Молекулярна структура глібенкламиду

Усі ПС містять центральну структуру S-арилсульфонілсечовини з *para*-замісником у фенільному кільці (R^1) та різноманітними групами (R^2), що знаходяться на N' -кінцевій групі сечовини (рис. 1.8).

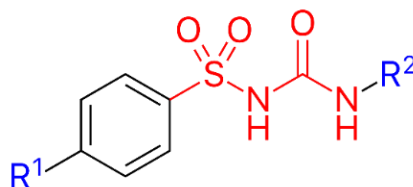


Рис. 1.8 Загальна формула ПС. Червоним позначено основу сульфонілсечовини, синім – функціональні групи, відмінні в кожній сполуці

1.4.1. Механізм дії похідних сульфонілсечовини

ПС ефективні лише за умови наявності функціонуючих β -клітин в ПЗ. Підвищення концентрації інсуліну в плазмі крові, що є головним ефектом, досягається двома шляхами: стимуляцією секреції інсуліну β -клітинами та зниженням кліренсу інсуліну в печінці [108]. У перший же місяць терапії відзначається швидке зростання рівня інсуліну у відповідь на підвищення концентрації глюкози, що призводить до зниження рівня глікемії.

Як вже було сказано вище, механізм дії ПС полягає у зв'язуванні зі специфічними рецепторами сульфонілсечовини, що знаходяться на мембрані β -клітин і регулюють активність АТФ-чутливих калієвих каналів (K_{ATP} -каналів). ПС блокують надходження іонів K^+ всередину клітини, що приводить до деполяризації клітинної мембрани, відкриття Ca^{2+} -каналів та надходження Ca^{2+} у цитозоль. Збільшення концентрації Ca^{2+} призводить до скорочення філаментів актоміозину, що відповідає за екзоцитоз інсуліну, внаслідок чого відбувається «перша фаза» інтенсивної секреції інсуліну у великих кількостях. Під час «другої фази», яка починається приблизно через 10 хвилин, коли гранули інсуліну переміщуються на мембрани β -клітин, відбувається утворення нових гранул інсуліну, але лише в функціонуючих β -клітинах [109].

ПС також впливають на інші клітини, зокрема, збільшують кількість рецепторів на інсулін в адипоцитах, моноцитах та еритроцитах у пацієнтів, які приймають ці ЛЗ тривалий час [112]. Серед інших ефектів спостерігалось збільшення периферичної утилізації глюкози шляхом як і стимуляції глюконеогенезу в печінці, так і підвищенням кількості і чутливості рецепторів до інсуліну [113].

1.4.2. Особливості терапії похідними сульфонілсечовини

ЛЗ на основі ПС знижують концентрацію глюкози в крові приблизно на 20% та рівень глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) на 1-2% [114]. Поєднання ПС з метформіном є дуже ефективним і може призвести до швидкого покращення перебігу захворювання [115-118]. Крім того, ПС можуть призначатися пацієнтам, для яких застосування метформіну протипоказане або не допомагає досягти належного контролю глікемії [119]. Згідно з останніми дослідженнями, ПС також можна комбінувати з тiazолідиндіонами [120-123], інкретиноміметиками [124] та препаратами інсуліну тривалої дії, якщо комбінування з метформіном не допомагає досягти належного контролю глікемії.

Протипоказаннями до прийому ПС можуть виступати: підвищена чутливість до сульфаніламідних препаратів, вагітність та лактація, прогресуюча втрата маси тіла, кетоз, кетоацидоз, цитопенічні стани (анемія, лейкопенія, тромбоцитопенія), захворювання серцево-судинної системи, шлунково-кишкового тракту, печінки та нирок [108, 125].

Найбільш поширений побічний ефект, який може спостерігатися при застосуванні ПС – гіпоглікемія. Особливо характерно це для препаратів тривалої дії. Ризик розвитку гіпоглікемії є вищим після фізичних навантажень та внаслідок пропуску прийомів їжі, а також у випадку передозування ЛЗ. Тому рекомендується розпочинати прийом ПС з низьких доз, поступово підвищуючи кожні 2-4 тижні до досягнення цільових показників глікемії [126].

Попри те, що застосування ПС дає можливість досягти кращого контролю глікемії протягом короткого терміну, перебіг захворювання може погіршитися у довготривалій перспективі. Через зниження кількості рецепторів сульфонілсечовини на поверхні β -клітин відбувається прогресування дисфункції клітин та погіршення секреції інсуліну. Пацієнти, які застосовували

високі дози ПС протягом тривалого часу, мають гіршу відповідь на інсулінотерапію у майбутньому [127].

Застосування ПС майже завжди супроводжується підвищенням маси тіла [128]. Так як контроль маси тіла є дуже важливим при лікуванні діабету, то такий побічний ефект може призвести до погіршення перебігу хвороби. Проте його можна нівелювати при одночасному застосуванні ПС з метформіном [115-118]. Згідно з результатами деяких досліджень, застосування ПС може негативно впливати на серцево-судинну систему, зокрема, після перенесеного інфаркту міокарда [129-131]. Це пояснюється особливостями взаємодії ПС та кардіоміоцитів. Кардіоміоцити та гладенька мускулатура судин містять як ізоформи рецепторів сульфонілсечовини, так і АТФ-залежні калієві канали. У випадку прийому ПС під час інфаркту міокарду може погіршитися коронарна вазодилатація, тим самим спричинивши збільшення зони ішемії [132].

1.5. Калікс[*n*]арени – перспективна молекулярна платформа для дизайну лікарських сполук

Калікс[*n*]арени – нанорозмірні макроциклічні сполуки чашоподібної будови, утворені фенольними фрагментами, з'єднаними між собою метиленовими містковими групами (рис 1.9).



Рис. 1.9 Молекулярна структура калікс[4]арену (у конформації «конус»)

Завдяки здатності до модифікації нижнього та/або верхнього вінця макроциклічної платформи різноманітними функціональними групами, ці сполуки широко використовуються для дизайну специфічних низькомолекулярних рецепторів із заданою формою та властивостями, здатних з високою селективністю розпізнавати та багатоцентрово зв'язувати в супрамолекулярні комплекси близькі за розмірами та властивостями частинки – різноманітними катіони, аніони та нейтральні молекули [5-8]. Саме тому калікс[*n*]арени широко досліджуються та поступово знаходять застосування в різних галузях хімії, фізики, біології, нанотехнологіях, зокрема у створенні супрамолекулярних каталізаторів, хемо- та біосенсорів, нових екстрактантів для переробки радіоактивних відходів тощо [133, 134].

В залежності від взаємного розташування ароматичних фрагментів по відношенню до головної площини макроциклу, що умовно проходить через метиленові місткові групи, похідні калікс[4]арену можуть існувати в чотирьох конформаціях (**рис. 1.10**): конус, частковий конус, 1,2-альтернат і 1,3-альтернат [135].

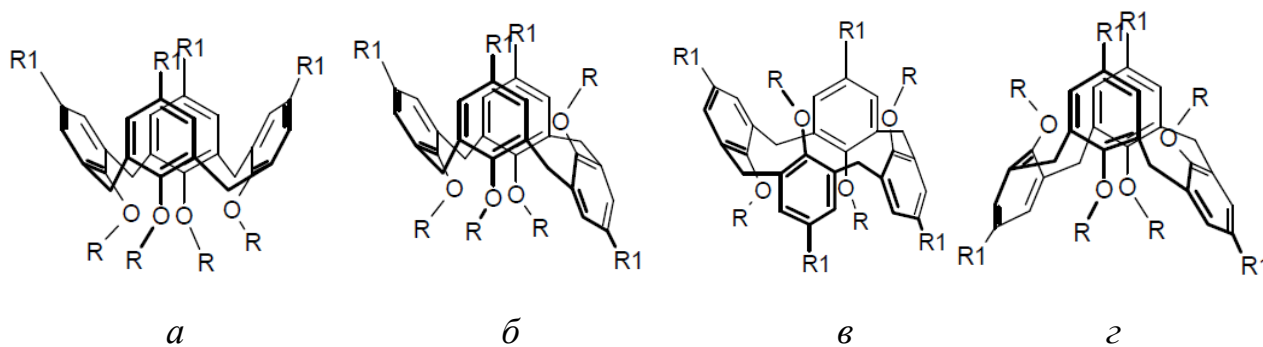


Рис. 1.10 Конформації похідних калікс[4]арену: конус (*a*), частковий конус (*б*), 1,2-альтернат (*в*), 1,3-альтернат (*г*)

Залежно від розмірів замісників біля атомів кисню на нижньому вінці, конформації можуть бути як стереохімічно жорсткими, так і мобільними за

рахунок вільного обертання ароматичних фрагментів всередині макроциклу навколо зв'язків Ar-CH₂. Жорсткі конформації можуть бути стабілізовані за допомогою внутрішньомолекулярних водневих зв'язків між фенольними OH-групами або об'ємними замісниками на нижньому вінці, які перешкоджають внутрішньому обертанню [135]. На відміну від калікс[4]аренів, де модифікування пропільними групами по нижньому вінцю вже повністю блокує інверсію ароматичних фрагментів, калікс[6]арени залишаються конформаційно мобільними навіть з октильними групами та можуть існувати вже у восьми різних конформаціях [136].

1.5.1. Синтез та хімічна модифікація калікс[n]аренів

Калікс[n]арени (n = 4, 6, 8) отримують з високими виходами (50–80 %) прецизійною циклоконденсацією *трет*-бутилфенолу з формальдегідом або параформом у присутності каталітичної кількості гідроксиду натрію або калію (рис. 1.11, а). Катіони натрію і калію відіграють роль темплатів, які направляють реакцію на формування макроциклів відповідного розміру [137-139].

Залежно від типу каталізатора, природи розчинника і температури, реакція може бути спрямована на формування *трет*-бутилкалікс[4]арену (продукт термодинамічного контролю), *трет*-бутилкалікс[6]арену (продукт темплатного контролю) або *трет*-бутилкалікс[8]арену (продукт кінетичного контролю). В процесі циклоконденсації також утворюється невелика кількість молекул з непарним числом ароматичних фрагментів в макроциклі [137-139].

Під дією безводного хлориду алюмінію *трет*-бутильні групи легко видаляються з утворенням незаміщених по верхньому вінцю тетрагідроксикалікс[4]арену, гексагідроксикалікс[6]арену або октагідроксикалікс[8]арену (рис. 1.11, б) [137-139]. Атоми водню в *пара*-

положеннях фенольних кілець та атоми водню в гідроксильних групах цих кілець за допомогою класичних методів органічної хімії заміщуються на різноманітні функціональні групи, які визначатимуть конформаційну поведінку, фізичні та хімічні властивості та здатність калікс[*n*]аренів до селективного утворення супрамолекулярних комплексів з молекулами субстратів [140].

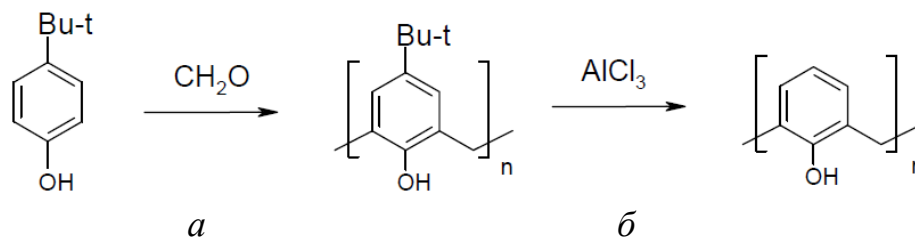


Рис. 1.11 Схема синтезу:

трет-бутилкалікс[*n*]арену з *трет*-бутилфенолу (*a*),
гідроксикалікс[*n*]арену з *трет*-бутилкалікс[*n*]арену (*б*),
де $n = 4, 6$ або 8

1.5.2. Калікс[*n*]арени з гетероатомними фрагментами. Тіакалікс[*n*]арени

Заміна метиленових місткових груп в структурі калікс[*n*]аренів на гетероатомні фрагменти (S, SO, SO₂, Si(R₂), N(R), O) приводить до отримання гетероциклічних аналогів калікс[*n*]аренів [10, 142]. Властивості більшості з них вивчені набагато менше через складнощі у синтезі, тому такі модифіковані сполуки не знайшли масового застосування. Проте вони викликають значний інтерес завдяки варіації розміру молекулярної порожнини та можливості додаткової функціоналізації гетероатомних містків.

Втім, синтез тіакалікс[*n*]аренів, у яких метиленовий місток заміщений сульфідним, вже понад 20 років як добре опрацьований і не викликає ніяких труднощів, тому тіакалікс[*n*]арени знайшли свої сфери застосування серед калікс[*n*]аренів і деякому сенсі вони є навіть більш ефективними

молекулярними платформами [10]. Модифікування макроциклічного остова чотирма атомами сірки приводить не лише до збільшення розміру порожнини, а й відображається певною мірою на геометрії молекули як в розчинах, так і в твердому стані. Крім того, наявність місткових атомів сірки також дає можливість провести хімічні модифікації сульфідних містків окисненням до сульфоксидних (SO) або сульфонових (SO₂) фрагментів з утворенням сульфінілта сульфонілкалікс[*n*]аренів відповідно [9, 141].

У 1997 році був описаний [142] простий одностадійний метод отримання *трет*-бутилтіакалікс[4]арену шляхом конденсації *пара-трет*-бутилфенолу з сіркою за присутності гідроксиду натрію в диметиловому етері тетраетиленгліколю при 230 °C (рис. 1.12). Катіон натрію бере на себе роль темплату при формуванні макроциклу. Серед побічних продуктів реакції були також зафіксовані невеликі кількості *трет*-бутилтіакалікс[5]арену та *трет*-бутилтіакалікс[6]арену.

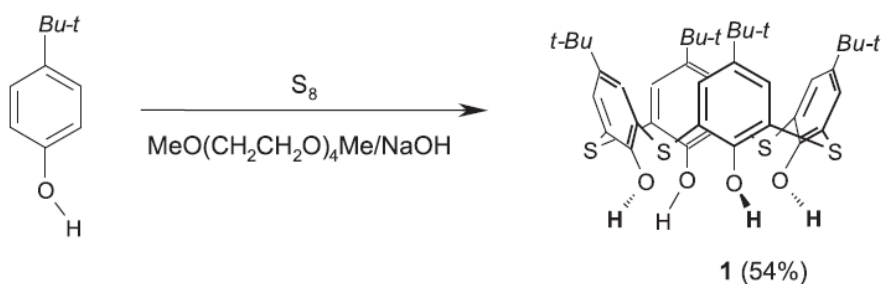


Рис. 1.12 Схема синтезу *трет*-бутилтіакалікс[4]арену з *пара-трет*-бутилфенолу

Тіакалікс[4]арен з вільними *пара*-положеннями фенольних фрагментів (тетрагідрокситіакалікс[4]арен) отримують при реакції *трет*-бутилтіакалікс[4]арену з AlCl₃ з виходом 87 % (рис. 1.14) [143].

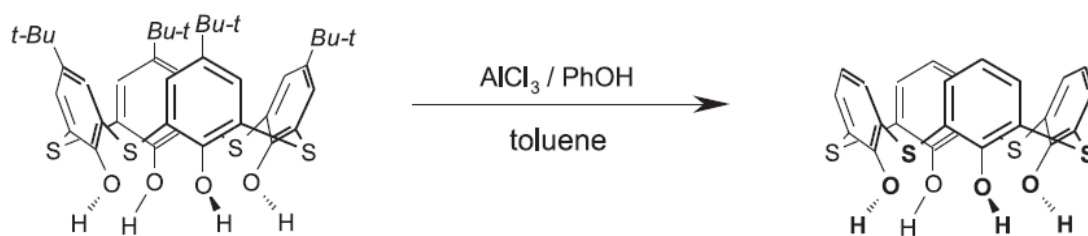


Рис. 1.14 Схема синтезу тетрагідрокситіакалікс[4]арену з *трет*-бутилтіакалікс[4]арену

Вільні положення верхнього вінця молекули відкривають надзвичайно широкі можливості функціоналізації макроциклу. Саме ця сполука використовувалася в якості вихідної для модифікації тіакалікс[4]аренової платформи сульфонілкарбамідними групами, про що буде йти мова у розділі 2.

Розміри молекули тіакалікс[4]арену дещо більші порівняно з молекулою калікс[4]арену. Середня відстань між сусідніми та протилежними атомами сірки складає 5.50 Å та 7.82 Å відповідно, коли у калікс[4]арену відстань між метиленовими містковими групами складає 5.10 Å та 7.08 Å (**рис 1.15**). Відстань між сусідніми атомами кисню – 2.60 Å, що свідчить про наявність водневих зв'язків $\text{OH}\cdots\text{O}$ [9]. Тіакалікс[4]арени, так само як і калікс[4]арени, можуть мати декілька конформацій: конус, частковий конус, 1,2-альтернат та 1,3-альтернат.

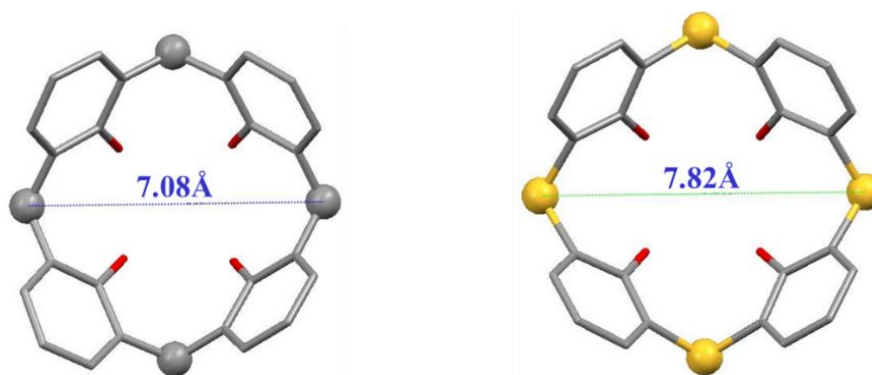


Рис. 1.15 Молекулярна структура калікс[4]арену (зліва) та тіакалікс[4]арену (справа) [143]

1.5.3. Біомедичні перспективи застосування калікс[n]аренів

Калікс[n]аренам, як і іншим супрамолекулярним сполукам, характерні властивості високоорганізованих молекул, такі як здатність до самоорганізації, молекулярне розпізнавання, активний та селективний транспорт, каталіз, що викликає значний інтерес до цих макроциклів та робить їх перспективними в якості платформ для створення штучних рецепторів [4, 140, 144-148].

Необхідною умовою для утворення супрамолекулярних комплексів з молекулами, іонами та біополімерами є передорганізація на калікс[n]ареновій платформі кількох біоафінних груп. Досліджено, що завдяки як координації з амінокислотними залишками протеїну, так і комплексоутворенню з катіонами металів у металоферментах, калікс[4]аренфосфонові кислоти здатні взаємодіяти й модулювати активність широкого ряду фосфатаз [146, 150]. Також було досліджено вплив похідних калікс[4]аренів на транспорт кальцію в гладеньких м'язах, що потенційно дозволяє створювати нові типи серцево-судинних та навіть протипухлинних ЛЗ [4, 144, 146, 147, 149, 151-154]. Крім того, було доведено вплив похідних калікс[4]аренів на інгібування холінестерази [155], хімотрипсину [156, 157], лужних фосфатаз [146, 150], трансглутамінази [158] та інших ензимів. Було продемонстровано антикоагулянтну активність калікс[n]аренів за рахунок впливу на активність тромбопластину, що приводить до зменшення часу утворення тромбу [159]. Ці механізми пов'язують з інгібуючим впливом похідних калікс[n]аренів на деякі серинові протеази [160].

Досліджено, що калікс[n]арени є перспективними з точки зору противірусної [161-166] та антибактеріальної активності [167-170]. Ще у 1955 р. повідомлялося про перспективність дослідження похідних калікс[n]аренів при туберкульозі та при інших ураженнях патогенними мікроорганізмами [168]. У 1996 р. пептидокалікс[4]арени продемонстрували активність проти стійких до пеніциліну та метициліну штамів епідермального золотистого стафілокока

[171]. Було також досліджено протигрибкову активність кон'югатів калікс[4]аренів з амфотерицином В, яка, крім того, що виявилась вищою, ніж активність вихідного амфотерицину В, так і сполуки були набагато менш токсичними [172].

Можливість зв'язування молекул калікс[4]аренів між собою з утворенням біс-каліксаренів або навіть «молекулярних трубок» відкриває широкі можливості отримання нових, у тому числі і політопних, молекулярних рецепторів, що мають здатність ефективно і селективно зв'язувати іони, а також набувати незвичайних конформаційних властивостей [173, 174]. Перспективним є поєднання макромолекул калікс[4]аренів з гліконаночастинками золота з утворенням гліокластерів, що володіють особливими фізико-хімічними властивостями та здатністю проникнення через гістогематичні бар'єри [175].

Значний інтерес викликає потенційна можливість похідних калікс[n]аренів вилучати деякі ізотопи (європій, паладій, технецій тощо) з навколишнього середовища та організму за рахунок досить високої вибірковості до цих ізотопів. Проте поки що такі структури мають недостатню селективність для вилучення ізотопів з організму та доволі високу токсичність [176, 177]. На основі калікс[n]аренових платформ було синтезовано рецептори для селективного та групового вилучення іонів лужних, лужноземельних та перехідних металів [178].

1.5.4. Протидіабетична активність калікс[4]аренів

Дослідження калікс[4]аренів у якості сполук для регуляції концентрації глюкози (що потенційно є перспективним для створення ЛЗ проти ЦД II типу) є актуальним та перспективним напрямком роботи. В Інституті органічної хімії НАН України (спільно з Інститутом фармакології та токсикології НАМН України) було проведено серії досліджень, в яких на лабораторних тваринах

тестували гіпоглікемічну дію більше п'ятдесяти нових сполук різних класів: калікс[4]аренів, модифікованих різноманітними функціональними групами, в тому числі сульфонілкарбамідними [144, 179, 180], трициклічних тiazолідиндіонів, фторованих аналогів глібенкламиду.

Найбільш ефективними та добре дослідженими сполуками, які були запатентовані [180], стали калікс[4]арени, модифіковані двома (рис. 1.16, *a*) або чотирма (рис. 1.16, *б*) сульфонілкарбамідними групами по верхньому вінцю та двома або чотирма пропокси-групами по нижньому. Їхні повні хімічні назви – 5,17-ди(4-сульфонілтолуол)уреїдо-11,23-ди-*трет*-бутил-26,28-дигідрокси-25,27-дипропоксикалікс[4]арен (каліксарен **1**) та 5,11,17,23-тетра(4-сульфонілтолуол)уреїдо-25,26,27,28-тетрапропоксикалікс[4]арен (каліксарен **2**).

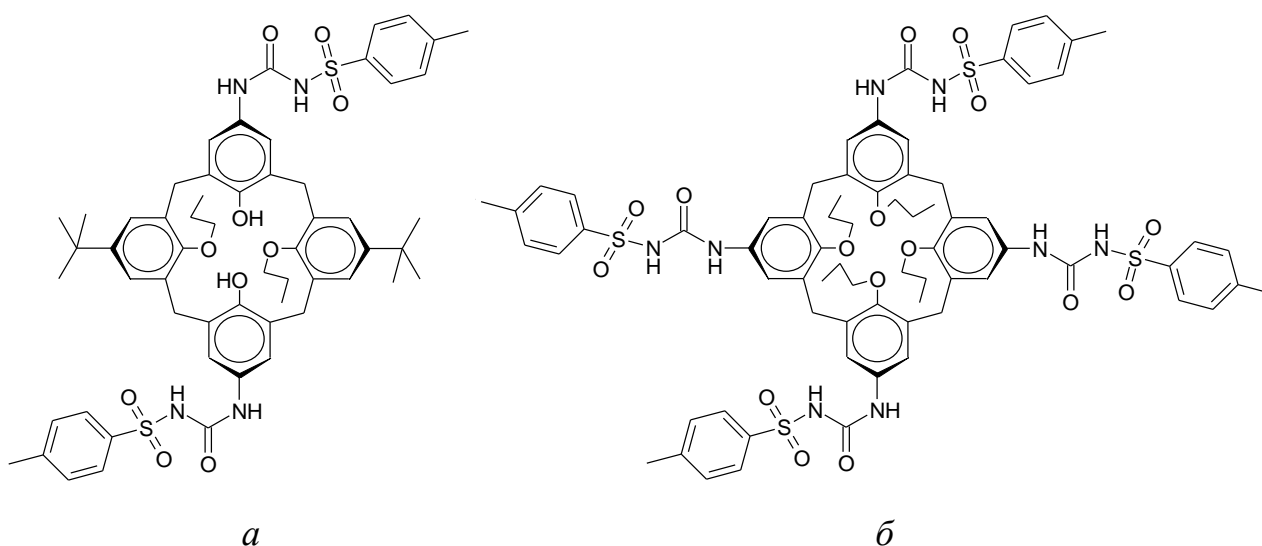


Рис. 1.16 Молекулярна структура каліксарену **1** (*a*) та каліксарену **2** (*б*)

Жорсткий каркас даних макроциклів та виражена амфіфільність досліджуваних каліксаренів **1** та **2** сприяє їх ефективній взаємодії з мембранозв'язаними рецепторами-мішенями [181]. Було показано, що каліксарен **1** виявляє найвищу глюкозознижувальну ефективність у дозі 0.1 мг/кг маси тіла мишей, викликаючи зниження рівня глюкози на 38%, не

поступаючись глібенкламідом у тій же дозі. Каліксарен **2** проявляв найбільшу активність в дозі 1 мг/кг, ефект сягав зниження рівня глюкози на 60% через три години після введення. Ефективний гіпоглікемічний ефект починався пізніше (протягом 1-2 години) у порівнянні з референтним препаратом глібенкламідом (протягом 0.5 години), проте тривав значно довше – до 12-16 годин (глібенкламід – до 5-6 годин) [180]. Це пояснюється особливостями фармакокінетики більш «важкої» молекули калікс[4]арену, які полягають у більших складнощах подолання молекулою ентогематичного та інших бар'єрів для біодоступності до цільових рецепторів [182, 183]. Токсичність сполук виявилася зовсім незначною – 3300-3400 мг/кг (для мишей), що співставно з референтним глібенкламідом (приблизно 3250 мг/кг), що дозволяє віднести сполуки до малотоксичних (IV клас).

Зважаючи на потенційну гіпоглікемічну дію багатьох похідних ацилкарбамідів [184, 185], також був розроблений синтез, досліджена та запатентована гіпоглікемічна активність N-ацилуреїдокалікс[4]аренів (рис. 1.17) [186, 187]. У цьому випадку макроциклічна платформа калікс[4]арену модифікована двома (рис. 1.17, а), трьома (рис. 1.17, б) або чотирма (рис. 1.17, в) ацилкарбамідними групами по верхньому вінцю та алкокси-групами по нижньому.

Результати досліджень свідчать, що глюкозознижувальний ефект N-ацилуреїдокалікс[4]аренів в різних дозах і залежно від конкретної сполуки складає 38-44% в максимальних своїх точках часу. Аналогічно до сполук, модифікованих сульфонілкарбамідними групами, глюкозознижувальний ефект через ті ж, вказані вище, причини розвивається більш поступово, ніж у референтного препарату глібенкламідом, але по ефективності через 3, 5, 8 та 24 години після введення гіпоглікемічний ефект цих сполук є вищим, ніж у глібенкламідом. У дозі 0.1 мг/кг гіпоглікемічна ефективність однієї зі сполук – 5,17-ди(трифторметилацетил)уреїдо-11,23-ди-*трет*-бутил-26,28-дигідрокси-

25,27-дипропоксикалікс[4]арену ($R = CF_3$, $ALK = C_3H_7$ згідно з **рис. 1.17**) перевищує таку у глібенкламіді в ідентичній дозі [187].

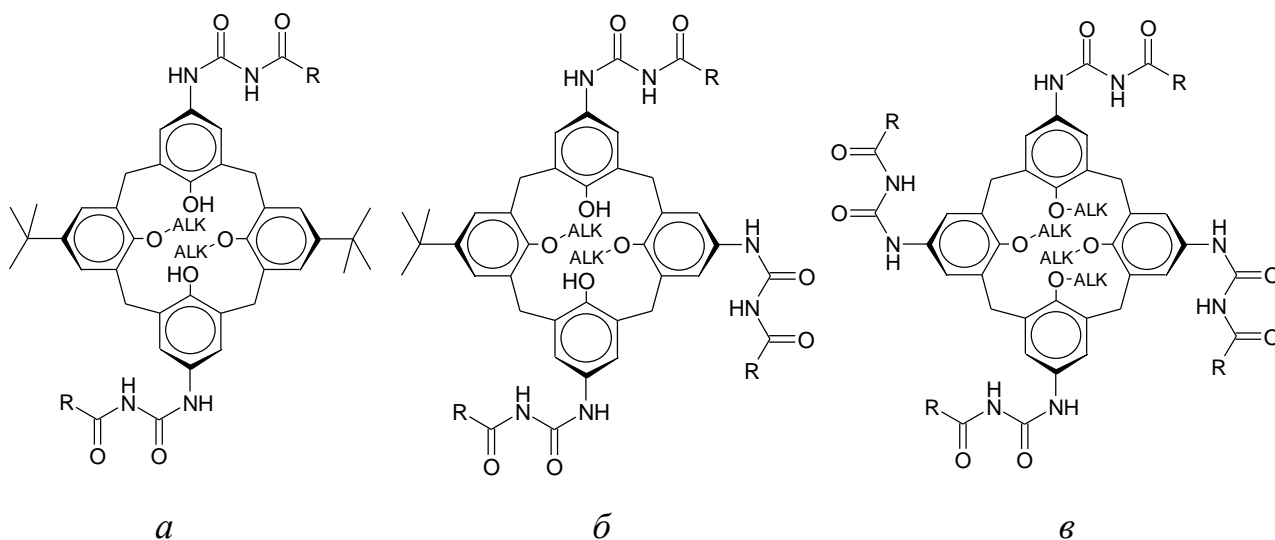


Рис. 1.17 Молекулярна структура N-ацилуреїдокалікс[4]аренів,

де $R = C_6H_5-$, $4-CH_3-C_6H_4-$, $4-F-C_6H_4$, $4-Cl-C_6H_4$, CF_3- , CCl_3- ;

$ALK = C_nH_{2n+1}$, $n = 3, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 16$

1.6. Експериментальна стрептозотоцинова модель цукрового діабету

Для більш поглиблених та вагомих досліджень новосинтезованих сполук на предмет їхніх гіпоглікемічних властивостей та потенційній можливості застосування у терапевтичній практиці для лікування ЦД II типу було вирішено провести ряд експериментів зі створенням у лабораторних тварин добре відомої штучної моделі ЦД, індукованого стрептозотоцином (стрептозоцин, STZ) (**рис. 1.18**).

Вперше сполука описана в кінці 1950-х років як перспективний антибіотик, виділений при ферментації культури *Streptomyces aerotogenes* [188]. Антибактеріальна та протипухлинна активність дозволили застосовувати препарат для хіміотерапевтичного лікування пухлин. Однак незабаром було

помічено його побічну дію, що виражалось у розвитку гіперглікемічних станів [189]. Дослідження на лабораторних тваринах показали здатність сполуки викликати специфічний некроз β -клітин ПЗ [190]. Інсулінемічний синдром, що спостерігався, отримав назву «стрептозотоциновий діабет». З того часу сполуку стали використовувати для отримання моделі експериментального ЦД [191, 192]. З часом деякі дослідження показали, що за допомогою STZ можна отримати ще й моделі хвороби Альцгеймера [193].

Застосування STZ у лікувальній практиці, як правило, обмежується пацієнтами, у яких рак не можна видалити хірургічним шляхом. У цих пацієнтів STZ може зменшити розмір пухлини та послабити симптоми [194].

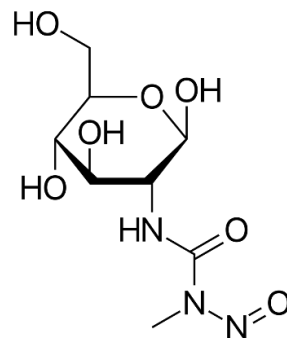


Рис. 1.18 Молекулярна структура стрептозотоцину

Стрептозотозин, вибірково впливаючи на β -клітини ПЗ, пригнічує секрецію інсуліну та спричиняє стан інсулінзалежного ЦД. Механізм вибіркової дії препарату пов'язаний із його хімічною структурою. Висока гідрофільність STZ ускладнює його проникнення через плазмалему різних клітин та гематоенцефалічний бар'єр мозку. Вважається, що глюкозна частина молекули STZ здатна зв'язуватися з переносником глюкози GLUT2 (glucose transporter 2, глюкозний білок-транспортер 2 типу) та забезпечувати проникнення та акумуляцію агенту в β -клітинах [195]. Ця гіпотеза підтверджується тим спостереженням, що інсулінпродукуючі клітини, що не

експресують переносник глюкози, стійкі до STZ і стають чутливими до токсичної дії препарату тільки після експресії GLUT2 у плазматичній мембрані [195]. Крім того, інші клітини, що експресують цей переносник, такі як гепатоцити та епітеліоцити каналців нирок, також піддаються токсичному впливу препарату. Тому введення тваринам STZ призводить не тільки до діабету, але може бути причиною різного ступеня ушкоджень печінки та нирок [196].

Потрапивши до β -клітин, STZ розщеплюється на структурні компоненти. Токсичність останніх та STZ загалом пов'язують із їхньою здатністю алкілювати біологічні макромолекули [197]. Встановлено, що фрагмент препарату – N-метил-N-нітрососечовина – має ДНК-алкілюючу активність, особливо в O⁶ позиції гуаніну. Це пошкодження веде до фрагментації ДНК та некрозу β -клітин [198]. Спроби відновити пошкоджену ДНК за допомогою активації полі-(АДФ-рибозо)-полімерази призводять до виснаження НАД⁺ клітин та запасу АТФ [199]. Хоч STZ метилує також і білки, вирішальним фактором загибелі β -клітин, зрештою, є метилування ДНК.

Згідно з альтернативною гіпотезою, діабетогенний ефект STZ може бути частково пов'язаний не з його алкілюючою здатністю, а з його можливістю діяти як внутрішньоклітинний донор оксиду азоту (NO) [200, 201]. Було показано, що такий алкілюючий агент, як метилметансульфонат (метилмезилат), який також демонструє діабетогенний ефект на лабораторних тваринах, не є донором оксиду азоту, що свідчить про те, що вплив NO не є вирішальним у токсичному ефекті алкілюючих агентів, у тому числі STZ. Оксид азоту та вільні нітрозні радикали (пероксинітриди) можуть посилювати токсичність дії STZ, але NO, безперечно, не є провідним фактором у токсичній дії на β -клітини [195, 202].

Біологічні ефекти STZ на гомеостаз глюкози та інсуліну є наслідком токсичного ураження β -клітин. З одного боку, порушення гомеостазу глюкози (споживання кисню та окислення глюкози) та пригнічення біосинтезу та

секреції інсуліну очевидне. З іншого боку встановлено, що STZ не має безпосередньої та прямої дії на транспорт глюкози або її фосфорилування глюкокіназою [195, 203]. Вважається, що на початкових етапах пригнічення біосинтезу та секреції інсуліну може бути спричинене стрептозотоцином-індукованим виснаженням НАД⁺ [204]. Пізніше виявляються дисфункції мітохондріальних ферментів та ушкодження мітохондріального геному [205, 206]. Така інтерпретація узгоджується з роботами авторів, які показали, що нікотинамід запобігає пригніченню функції β -клітин, викликаним стрептозотоцином, лише протягом першої доби та не є ефективним при більш тривалому впливі [204]. Помічено, що з використанням високих цитотоксичних доз STZ початкові функціональні зміни поступово перетворюються на серйозні порушення. Вони мають більш загальний і неспецифічний характері та з часом призводять до загибелі клітин. У разі застосування нижчих доз STZ багато β -клітин здатні витримати початкову дію, але тривалий час виявляють зниження функції внаслідок недостатнього окисного метаболізму мітохондрій [205, 206].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Сполуки з гіпоглікемічною активністю, що використовувалися в експериментах

2.1.1. Тіакаліксарен 1

Для дослідження взаємозв'язків між будовою та гіпоглікемічною активністю тіакалікс[4]аренів, нами було розроблено метод синтезу двох макроциклів, модифікованих двома або чотирма сульфонілкарбамідними фармакофорними групами, які спільнонаправлено розташовані у просторі і можуть брати кооперативну участь у взаємодії з білковими мішенями. Синтези всіх сполук було проведено спільно з завідуючим лабораторією медико-біологічних досліджень Інституту органічної хімії НАН України к.х.н. Родіком Романом Васильовичем.

Першим макроциклом, який вдалося синтезувати, став 5,17-ди(4-сульфонілтолуол)уреїдо-26,28-дигексилокси-25,27-дигідрокситіакалікс[4]арен (тіакаліксарен 1) (рис. 2.1). У розділі 1 ми вже ознайомилися з методами синтезу тіакалікс[4]аренів. Методи алкілювання нижнього вінця макромолекули також описані в літературі [143], тому стартовою сполукою для синтезу тіакаліксарену 1 є дигексилокси-дигідрокситіакалікс[4]арен.

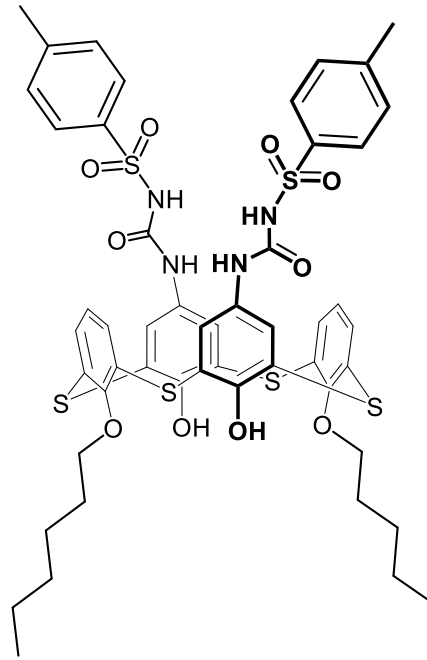


Рис. 2.1 Молекулярна структура тіакаліксарену 1

Метод синтезу є тристадійним (**рис. 2.2**), перша стадія – це регіоселективне нітрування вільних *para*-положень фенольних фрагментів макроциклу відносно м'яким нітруючим агентом – діоксидом азоту у хлороформі (**рис. 2.2, a**). Бурий газ (NO_2), який генерують при взаємодії концентрованої азотної кислоти з міддю, повільно пропускають через розчин дигексилокси-дигідрокситіакалікс[4]арену у хлороформі при перемішуванні за кімнатної температури. Хід реакції контролюють за ТШХ (тонкошарова хроматографія), саме нітрування відбувається досить швидко, і після промивання реакційної маси розчином соди і упарювання отримують продукт у спектрально-чистому вигляді.

Друга стадія (**рис. 2.2, b**) – відновлення динітро-дигексилокси-дигідрокситіакалікс[4]арену було проведено при використанні нікелю Ренея та гідразин-гідрату. Продукт реакції добре розчиняється у широкому колі розчинників. У спектрально-чистому вигляді діаміно-дигексилокси-

дигідрокситіакалікс[4]арен виділяли після фільтрування і упарювання реакційної маси.

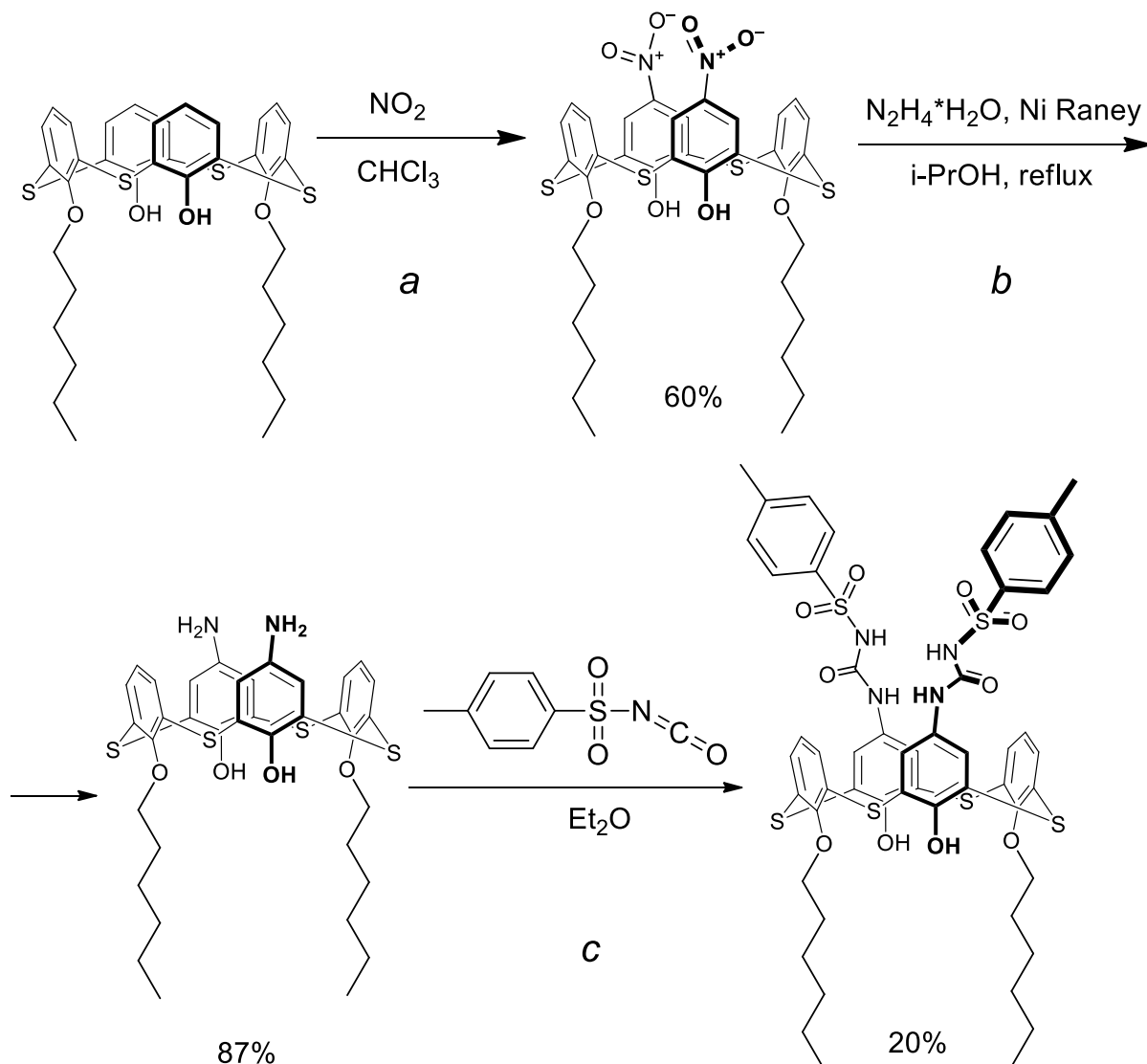


Рис. 2.2 Тристадійна схема синтезу тіакаліксарену **1**

Заключною стадією (рис. 2.2, c) в синтезі тіакаліксарену **1** є електрофільне приєднання *para*-толуолсульфоніл-ізоціанату (тозілізоціанату) по аміногрупам діаміно-дигексилокси-дигідрокситіакалікс[4]арену. При повільному додаванні ефірного розчину тозілізоціанату до розчину діамінотіакалікс[4]арену в сухому тетрагідрофурані у присутності 1-2 крапель

триетиламіну в якості каталізатору швидко випадає осад, який перетворюється на масло. За 3 години рідину декантували, масло промивали метил-*трет*-бутиловим етером (МТБЕ) і переупарювали з хлороформу. МТБЕ залишили на ніч при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Залишок після упарювання і осад в МТБЕ об'єднали, розчинили у невеликому об'ємі ацетонітрилу і висадили декількома краплями води. Отримане масло розділяли за допомогою колонкової хроматографії (хлористий метилен-метанол 100:7.5 по об'єму). На виході отримали тверду світло-коричневу сполуку, вихід 20%.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO- D_6 , 400 MHz, δ): 0.85 т ($J = 6.84\text{ Hz}$, 6H, CH_3), 1.31 м (8H, $-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$), 1.48 м (4H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2$), 1.81 м (4H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2$), 2.40 с (6H, PhCH_3), 4.30 т ($J = 5.86\text{ Hz}$, 4H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$), 6.63 т ($J = 7.81\text{ Hz}$, 2H, Hex-O-ArH-*para*), 6.93 д ($J = 7.81\text{ Hz}$, 4H, Hex-O-ArH-*meta*), 7.43 д ($J = 7.81\text{ Hz}$, 6H, SO_2-PhH -*meta*, OH), 7.67 с (4H, ArH), 7.85 д ($J = 7.81\text{ Hz}$, 4H, SO_2-PhH -*ortho*), 8.79 с (2H, NH), 10.59 уш. с (2H, NH). Спектр ^{13}C ЯМР (DMSO- D_6 , 125.69 MHz, δ): 13.85, 20.85, 22.03, 24.95, 29.43, 31.01, 74.85, 121.87, 125.58, 127.41, 127.25, 128.53, 129.23, 129.40, 134.10, 134.73, 137.36, 141.78, 149.67, 153.12, 157.59.

2.1.2. Тіакаліксарен 2

Основним у дослідженні гіпоглікемічних властивостей тіакалікс[4]аренів з сульфонілкарбамідними групами по верхньому вінцю є 5,11,17,23-тетракіс(4-сульфонілтолуол)уреїдо-25,27-дигексилокси-26,28-дигідрокситіакалікс[4]арен (тіакаліксарен 2) (рис. 2.3).

Стартовою сполукою у чотиристадійній методиці синтезу тіакаліксарену 2 (рис. 2.4) є тетрагідрокситіакалікс[4]арен з вільними *para*-положеннями фенольних фрагментів у конформації «конус». В літературі описано декілька методів нітрування верхнього вінця такого тіакалікс[4]арену [207, 208]. Нам

вдалося синтезувати його шляхом нітрування двоокисом азоту при кімнатній температурі з утворенням тетранітро-тетрагідрокситіакалікс[4]арену з виходом 70 % (рис. 2.4, а) Реакція проходила за кілька годин при барботуванні NO_2 через суспензію тетрагідрокситіакалікс[4]арену в хлороформі при інтенсивному перемішуванні.

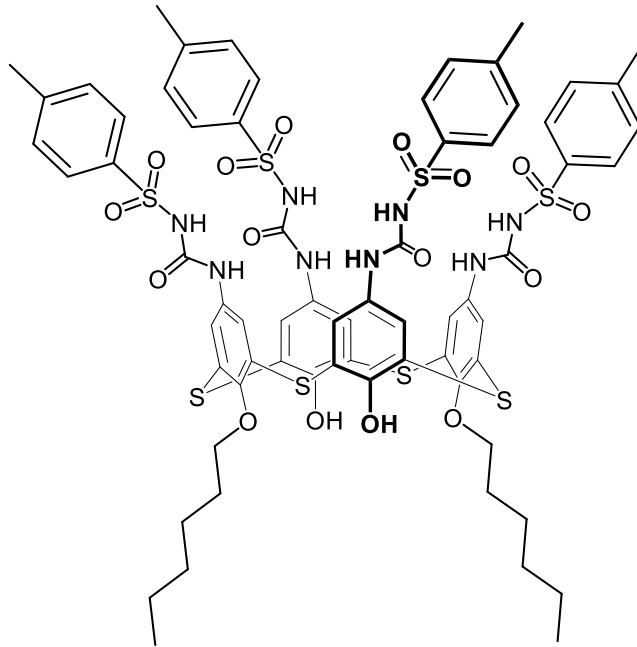


Рис. 2.3 Молекулярна структура тіакаліксарену 2

Для подальшого синтезу було розроблено метод алкілювання тетранітро-тетрагідрокситіакалікс[4]арену з утворенням дистально-дизаміщеного продукту (рис. 2.4, б). Суспензію тетранітро-тетрагідрокситіакалікс[4]арену, п'ятикратного надлишку гексилйодиду та такого ж надлишку карбонату натрію гріли до $60-70^\circ \text{C}$ у ДМФА (диметилформаміді) 100-120 годин, постійно перемішуючи. Отриманий діалкокситіакалікс[4]арен значно відрізняється за фізико-хімічними характеристиками від вихідного тетрагідрокситіакалікс[4]арену: він добре розчиняється в ацетоні і достатньо добре в хлороформі. Тому, за допомогою колонкової хроматографії, легко

вдається виділити цільовий продукт реакції – дигексилокси-дигідрокси-тетранітротіакалікс[4]арен та відділити домішку – тринітро-дигексилоксикаліксарен. Вихід продукту становить близько 50%, це тверда, безбарвна, добре розчинна у багатьох органічних розчинниках речовина.

Третьою стадією стало відновлення дигексилокси-дигідрокси-тетранітротіакалікс[4]арену до тетрааміно-дигексилокси-дигідрокситіакалікс[4]арену (рис. 2.4, с). Було вирішено знову обрати метод з використанням нікелю Ренея та гідразин-гідрату. Перевагами над методом з використанням олова у соляній кислоті є те, що реакція проходить швидше, а продукт, окрім того, що утворюється у вигляді вільної основи, а не гідрохлориду, ще й значно краще розчиняється у малополярних розчинниках. Завершення реакції характеризується повним зникненням яскраво-жовтого забарвлення і утворенням осаду, який складається з тетрааміно-дигексилокси-дигідрокситіакалікс[4]арену у комплексі з гідразином. Наступні етапи включають фільтрування реакційної суміші та промивання фільтру ДМФА, так як даний асоціат добре розчинний в цьому розчиннику. Далі фільтрат упарювали при пониженому тиску і після цього ще тричі упарювали з толуолом для максимального видалення залишків як гідразину, так і ДМФА. Твердий залишок після упарювання промивали діетиловим етером та відфільтровували. Таким чином було отримано тетрааміно-дигексилокси-дигідрокситіакалікс[4]арен з виходом 75% у вигляді світло-жовтої кристалічної речовини.

Фінальною стадією є електрофільне приєднання тозілізоціанату по аміногрупам тетрааміно-дигексилокси-дигідрокситіакалікс[4]арену (рис. 2.4, d). До розчину тетрааміно-дигексилокси-дигідрокситіакалікс[4]арену в сухому тетрагідрофурані у присутності 1-2 крапель триетиламіну в якості каталізатору повільно додавали етерний розчин тозілізоціанату і спостерігали швидке утворення дрібнокристалічного осаду продукту. Осад відфільтровували,

промивали сухим діетиловим етером і сушили у вакуумі при кімнатній температурі до постійної ваги. Отриманий сирій продукт промивали гарячим хлороформом і очищали за допомогою колонкової хроматографії (елюент дихлорметан-метанол 10:1 по об'єму). Вихід становить близько 30% (чистота продукту 91%).

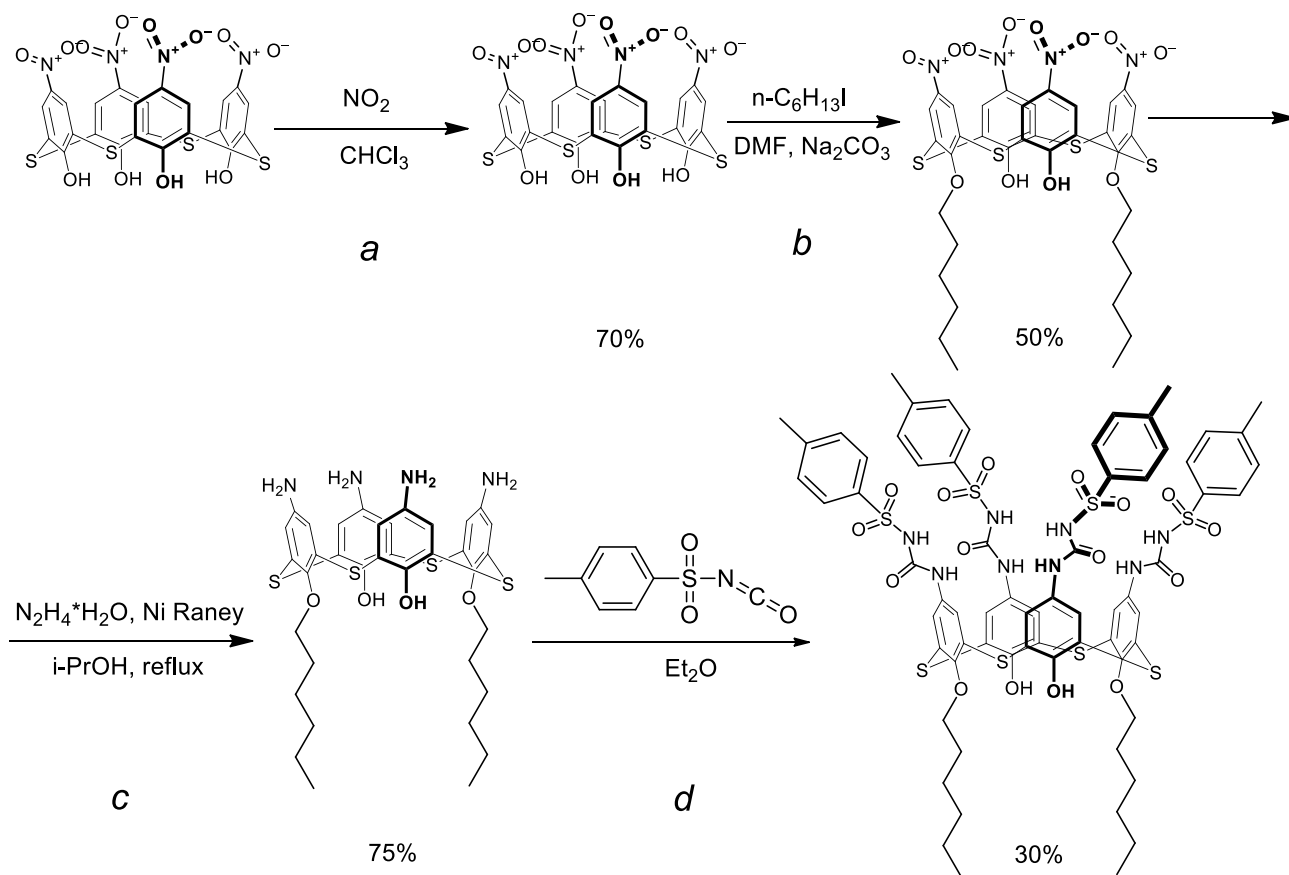


Рис. 2.4 Чотиристадійна схема синтезу тіакаліксарену 2

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-D_6 , 400 MHz, δ): 0.82 т ($J = 7.32$ Hz, 6H, CH_3), 1.22 м (12H, $-(\text{CH}_2)_3\text{-CH}_3$), 1.68 м (4H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 2.34 та 2.38 два с (6+6H, PhCH_3), 4.06 т ($J = 7.32$ Hz, 4H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 7.15 с (4H, ArH), 7.32 д (7.81 = Hz, 4H, $\text{SO}_2\text{-PhH-мета}$), 7.40 д ($J = 7.81$ Hz, 4H, $\text{SO}_2\text{-PhH-мета}$), 7.61 с (4H, ArH), 7.69 с (2H, OH), 7.71 д ($J = 7.81$ Hz, 4H, $\text{SO}_2\text{-PhH-орто}$), 7.83 д (7.81 = Hz, 4H, $\text{SO}_2\text{-PhH-орто}$), 8.86 та 8.73 два с (2+2H, NH). Спектр ^{13}C ЯМР (DMSO-D_6 ,

125.69 MHz, δ): 13.94, 20.91, 20.97, 21.02, 22.04, 24.87, 25.00, 29.19, 31.11, 125.61, 127.02, 127.25, 128.94, 129.18, 129.28, 141.43, 141.84.

2.1.3. Глібенкламід

Для отримання референсних показників гіпоглікемічної активності (для порівняння з результатами тіакалікс[4]аренів) було використано глібенкламід у дозі 0.5 мг/кг для введення лабораторним мишам. Цей добре відомий і широко використовуваний ЛЗ класу ПС другого покоління є найближчим за механізмом дії та фармакокінетичними особливостями до тіакаліксаренів **2** та **1**, тому і слід використовувати його в якості контрольної сполуки в наших дослідженнях. Методика його введення та розчинник були такі самі, як і для тіакаліксаренів.

2.2. Опис методу дослідження гіпоглікемічної активності

Для кожного експерименту відбираються 8-12 безпородних білих мишей обох статей масою 20-30 г. Тварин зважують, маркують, встановлюють стать. Далі об'єднують у декілька груп залежно від мети конкретного експерименту:

1) контрольна, у якій звичайно 2-3 миші, яким перорально за допомогою зонду вводиться в шлунок лише розчинник у вигляді розчину Tween 80 ("Ferak Berlin GmbH", Німеччина) з дистильованою водою.

2) основна піддослідна група, тваринам якої вводять так само перорально необхідну дозу сполуки, ретельно розведеної у тому ж самому розчиннику, що використовується і для контрольних мишей.

Основних піддослідних груп може бути декілька, наприклад, для різних доз або різних досліджуваних речовин. Всі групи знаходяться в окремих клітках.

Об'єм введеного розчину в кожній групі не перевищував гранично допустимої величини 0.5 мл на мишу.

Примітка. Tween 80 (полісорбат 80) – неіоногенна синтетична поверхнево-активна речовина (хімічна формула $C_{32}H_{60}O_{10}$), яка широко використовується в медицині (у якості стабілізатора водних розчинів ЛЗ, в якості емульгатора, міститься у багатьох вакцинах [209-211]), в косметиці, в харчовій промисловості як харчова добавка E433 [212] та у лабораторній практиці для визначення фенотипу штамів мікобактерій.

У кожної тварини вимірювали вихідну (початкову) концентрацію глюкози в крові (в ммоль/л) безпосередньо перед введенням, через 1, 3, 5, 8 та 24 год після введення відповідних розчинів досліджуваних сполук піддослідним тваринам та розчинника – контрольним. Перед експериментами за 2 години з кліток вилучався корм (для отримання чітких значень вихідного рівня глюкози), але залишався вільний доступ до води. Після введення речовини протягом години повертали вільний доступ до їжі.

Контроль рівня глюкози в крові мишей здійснювався за допомогою глюкометра Rightest GM110 (“Bionime”, Швейцарія) (zareєстрований в Міністерстві охорони здоров'я України і дозволений до застосування в медичній практиці (свідоцтво про державну реєстрацію № 7674/2008)) та одноразових тест-смужок Rightest GS300 (“Bionime”, Швейцарія), капіляр яких заповнювався кров'ю, взятою з надрізу на кінчику хвоста тварини.

Отримані результати, подальші обчислення та побудова графіків виконувалися за допомогою програми Excel пакета MS Office (“Microsoft”, США). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), та помилки її середнього значення (m).

2.3. Метод створення стрептозотоцин-індукованої моделі цукрового діабету

Було проведено декілька досліджень, у яких брали участь групи з 9-12 безпородних білих мишей обох статей масою 20-30 г. Тварин зважували, маркували, встановлювали стать, вимірювали вихідну концентрацію глюкози в крові (в ммоль/л) безпосередньо перед введенням розчину.

Внутрішньочеревне введення стрептозотоцину (“Sigma-Aldrich”, США) робили кожній миші одноразово в дозі 40 або 50 мг/кг, у вигляді розчину в 0.1 М цитратному буфері (рН 4.5). Об’єм ін’єкції не перевищував гранично допустимої величини 0.5 мл на мишу.

Не враховуючи вимірювання рівня глюкози в крові мишей перед ін’єкцією стрептозотоцину, основні заміри проводилися через 7 та 14 днів після введення. Крім того, для окремих груп заміри могли бути здійснені через 10, 12, 13 днів. Зазвичай через 13-14 днів після ін’єкції показники концентрації глюкози в крові досягали своїх пікових значень, тому через 14 днів проводиться експеримент з речовинами, що досліджуються на гіпоглікемічний ефект. Як показували попередні дослідження зі стрептозотоцином, після 14 днів концентрація глюкози в крові мишей не підвищувалася, або навіть спадала, що свідчить про те, що в таких умовах експерименту двох тижнів цілком достатньо для розвитку моделі ЦД у піддослідних тварин.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Дослідження нормоглікемії мишей

Для розуміння того, чи підходить нам лабораторна тварина для досліду за показником концентрації глюкози в крові, нами було проаналізовано дані за останні роки стосовно вихідної концентрації глюкози лабораторних мишей перед дослідом. Було накопичено результати близько 300 вимірювань з більше ніж 40 різних експериментів. Всі вимірювання проводились зранку (8-11 година), у мишей вилучалася їжа та обмежувався доступ до води. Результати наведено на гістограмі (рис. 3.1).



Рис. 3.1 Розподіл показників вихідної концентрації глюкози в крові мишей

Як бачимо, показники гістограми дуже близькі до стандартного нормального розподілу (розподіл Гауса). З діаграми випливає, що найбільш поширеним діапазоном показників вихідної концентрації глюкози в крові мишей перед дослідом є діапазон від 6.6 до 8.1 ммоль/л (130 з 300 мишей). Миші з такими показниками глікемії є здоровими, мають стабільний гомеостаз. Дещо нижчі показники (від 5.0 до 6.5 ммоль/л), так само як і дещо вищі (від 8.2 до 9.6 ммоль/л) також є прийнятними і доволі поширеними. Миші з показниками глікемії вище 10 ммоль/л зустрічаються доволі рідко, але теж прийнятні до експериментів. Враховуючи те, що досліджувані сполуки мають гіпоглікемічний ефект, такий дослід може навіть скоригувати рівень глікемії у таких тварин. Миші, концентрація глюкози в крові яких є нижчою за 4-5 ммоль/л, є небажаними для експерименту. По-перше, такі занижені показники свідчать переважно про певні проблеми зі здоров'ям лабораторної тварини. По-друге, гіпоглікемічний ефект сполуки для миші з вже низькою концентрацією глюкози є життєво небезпечним.

Ми відбирали тварин для дослідів, керуючись цим розподілом. Згідно з цими даними, тварин можна об'єднувати у групи, зокрема відбирати у контрольну групу (вводиться тільки розчинник) мишей з нижчими показниками. Однак обов'язково варто зазначити, що цей розподіл є абсолютно неактуальним при відборі для дослідів мишей з індукованою моделлю діабету.

3.2. Дослідження гіпоглікемічної активності тіакаліксарену 1

Нами було проведено декілька експериментів з метою дослідити гіпоглікемічну активність тіакаліксарену **1** (5,17,-ди(4-сульфонілтолуол)уреїдо-26,28-дигексилокси-25,27-дигідрокситіакалікс[4]арену) (рис. 2.1). Щоб зрозуміти, у напрямку якої дози нам проводити подальші дослідження, ми випробували активність доз 100, 10 та 1 мг/кг ваги паралельно з контролем.

Вимірювання концентрації глюкози після введення сполуки проводилися через 1, 3, 5, 8, 24 години, згідно з методикою, описаною у розділі 2. Зведені дані у вигляді графіка подано на **рис. 3.2**.

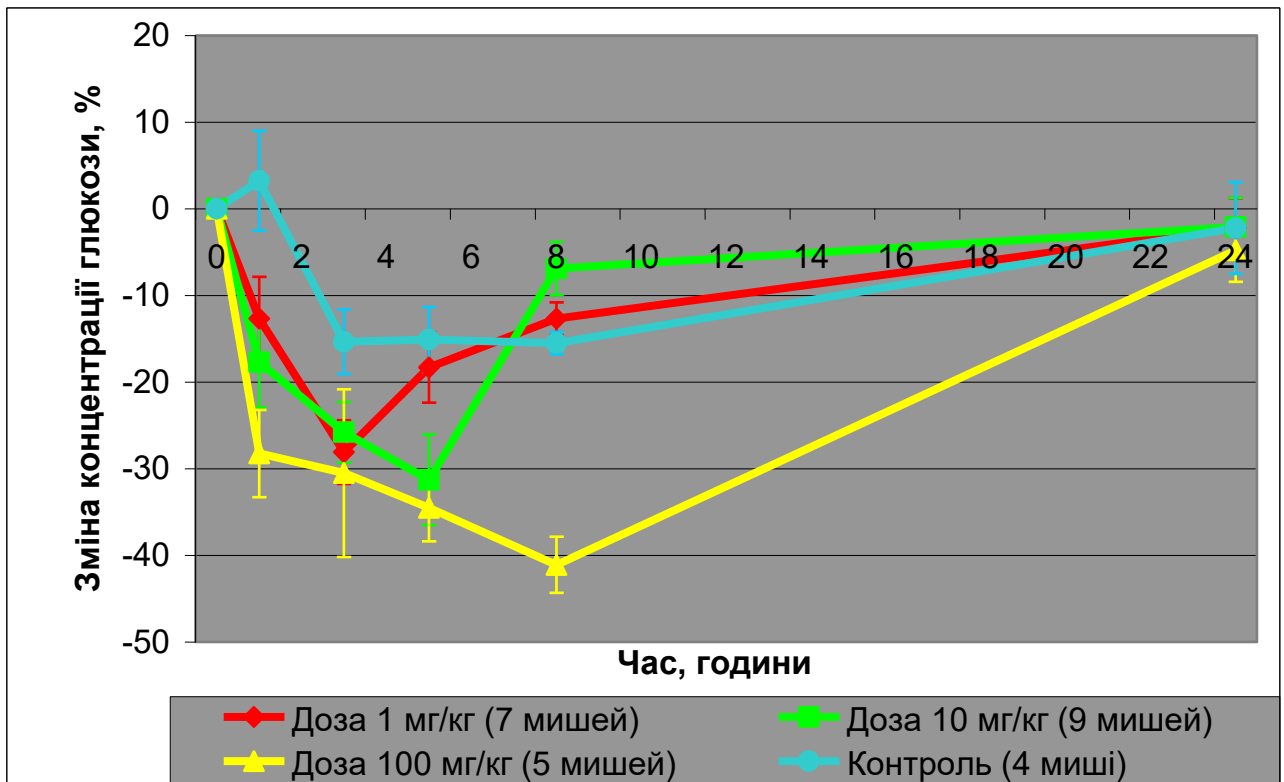


Рис. 3.2 Порівняння ефективності доз тіакаліксарену **1**. Графік залежності зміни концентрації глюкози від часу. Дози 1, 10, 100 мг/кг та контроль

Згідно з отриманими даними, найбільш активною є доза 100 мг/кг, яка вже через 1 годину після введення демонструє зниження концентрації глюкози у крові тварин на 28%, а найвищий пік активності (41%) настає аж за 8 годин (можливо, що навіть пізніше, проте дослідити це ми не мали можливості). Ймовірно, що значний гіпоглікемічний ефект ще триває певний час, забезпечуючи пролонгованість дії сполуки у цій дозі.

Доза 10 мг/кг характеризується більш скромними показниками: через 1 годину знижує концентрацію глюкози на 18%, найбільш ефективна за 5 годин –

знижує на 31%, а вже через 8 годин є найменш активною серед усіх доз – знижує всього на 7%. Доза 1 мг/кг виявилася ще менш активною: знизивши на 13% концентрацію глюкози через 1 годину та на 28% через 3, на 6-й годині вже втрачає свою ефективність. Слід відзначити, що, з урахуванням довірчих інтервалів, через 3 години після введення ефекти всіх доз перекриваються, а за 5 годин майже однаково діють дози 10 та 100 мг/кг.

Ймовірно, в даному випадку, активність сполуки та тривалість її дії корелює з величиною її дози: чим більше сполуки надходить в організм лабораторної тварини, тим більш виражений і тривалий гіпоглікемічний ефект спостерігається.

Отже, доза 100 мг/кг виглядає найбільш перспективною з точки зору ефективності глюкозознижувального ефекту та його тривалості. Такі результати неодмінно потребують подальших досліджень, проте необхідне вагоме підґрунтя для використання такої високої дози, і, відповідно, великої кількості речовини, адже синтез сполуки є доволі тривалим та складним. Припускаємо, що набагато менші дози, зокрема, 0.5 мг/кг, 0.25 та 0.1 мг/кг будуть мати певну ефективність, проте поки не маємо змоги це дослідити.

3.3. Дослідження гіпоглікемічної активності тіакаліксарену 2

Основною досліджуваною сполукою даної роботи став тіакаліксарен **2** (5,11,17,23-тетракіс(4-сульфонілтолуол)уреїдо-25,27-дигексилокси-26,28-дигідрокситіакалікс[4]арен), модифікований двома гексильними ланцюгами по нижньому вінцю та чотирма сульфонілкарбамідними групами по верхньому (рис. 2.3). Завдяки останнім, які спільнонапрямлено розташовані у просторі, макромолекула може ефективно взаємодіяти з мішенями. Дослідження цієї сполуки ми вирішили спрямувати у експерименти з порівняно невеликими дозами – 1, 0.5 та 0.25 мг/кг, оскільки перші досліди з дозами 10 та 100 мг/кг з

невеликою кількістю піддослідних мишей не показали вражаючих результатів. Отримані дані у вигляді графіка подано на **рис. 3.3**.

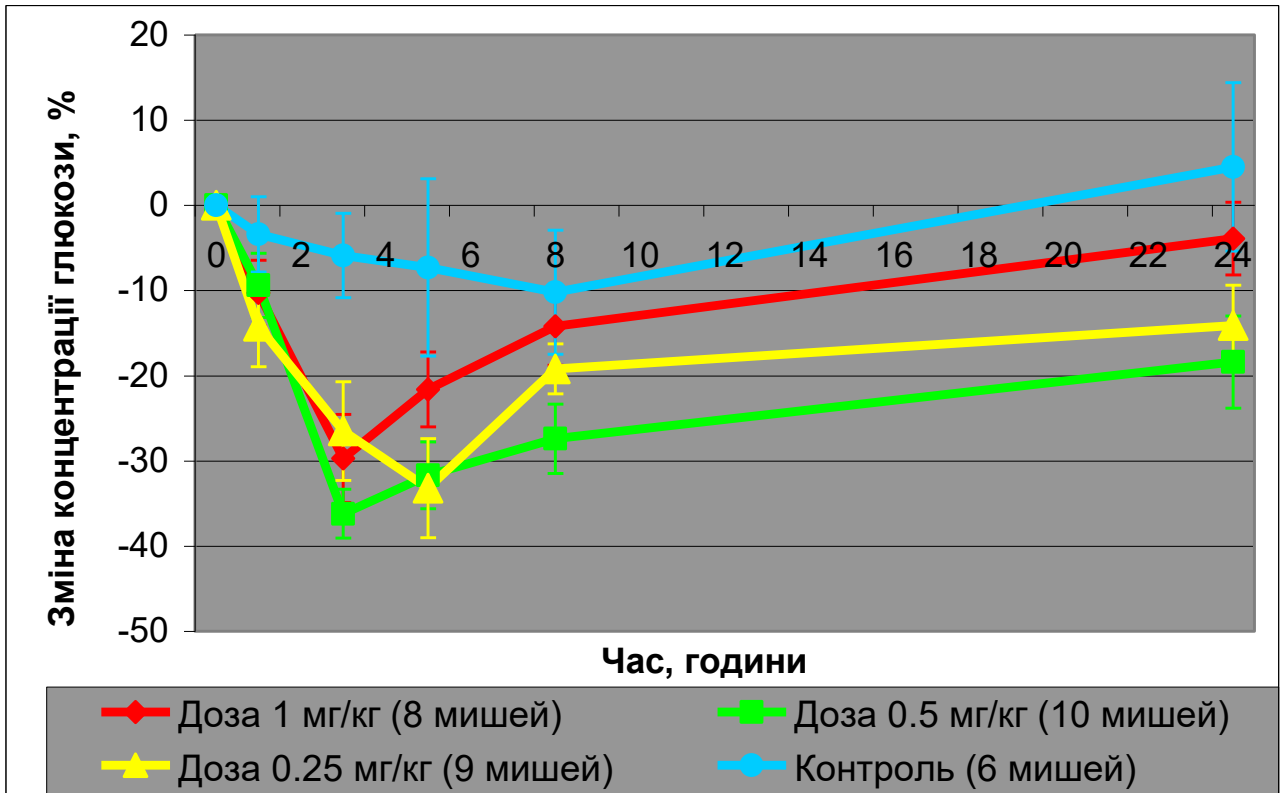


Рис. 3.3 Порівняння ефективності доз тіакаліксарену **2**. Графік залежності зміни концентрації глюкози від часу. Дози 1, 0.5 та 0.25 мг/кг, контроль

Результати свідчать про те, що доза 1 мг/кг за ефективністю нагадує таку як у тіакаліксарену **1**: максимальна ефективність глюкозознижувального ефекту за 3 години сягає 30 %, проте після цього ефективність значно падає.

Доволі значну глюкозознижувальну активність демонструє доза 0.25 мг/кг. Через годину після введення ця доза є найбільш ефективною серед досліджуваних (14%) і сягає максимуму ефективності за 5 годин – концентрація глюкози знижується на 33 %, що також є найкращим показником серед доз на цьому часовому відрізку. Надалі глюкозознижувальний ефект спадає, проте

відзначається тривалістю: у проміжку між восьмигодинним та 24-годинним вимірюваннями ефект знизився лише на 5% – від 19 до 14%.

Проте найбільш перспективною ми вважаємо дозу 0.5 мг/кг. Вона не володіє значним глюкозознижувальним ефектом через 1 годину (зниження всього на 9%), проте вже через 3 години після введення демонструє зниження концентрації глюкози в крові лабораторних тварин на 36%. Крім того, через 5 годин ефект погіршується усього на 4% і становить 32%, зовсім незначно поступаючись дозі 0.25 мг/кг на цьому часовому проміжку. Проте і через 8 годин глюкоззнижувальний ефект присутній і становить 27%, переважаючи над усіма іншими дозами. Нарешті, навіть через 24 години після введення ми фіксуємо зниження концентрації глюкози на 18%, що є половиною від максимальної ефективності на 3-й годині.

Така динаміка зниження концентрації глюкози в крові мишей, і, отже, перспективність для подальших досліджень тіакаліксарену **2** в дозі 0.5 мг/кг обумовлена двома причинами. По-перше, враховуючи розмір молекули та зумовлену цим сповільнену біодоступність, досягнення 36% глюкозознижувального ефекту вже на 3-й годині є дуже значним показником. Звичайно, це відносно довгий проміжок часу, особливо порівняно з дією похідних сульфонілсечовини, які вже використовуються в якості ЛЗ, зокрема глібенкламід, який починає ефективно діяти вже протягом першої половини години після прийому та при цьому досягає значно більших показників зниження концентрації глюкози.

Проте у випадку тіакаліксарену **2**, завдяки такому відносно помірному зниженню ми виключаємо можливість раптової гіпоглікемії. По-друге, вражає довготривалість глюкозознижувального ефекту, якою не можуть похвалитися чимало ЛЗ, що нині доступні. Така перевага дає змогу оптимізувати періодичність прийому ЛЗ.

Для наочності цих тверджень було проаналізовано раніше отримані дані активності глібенкламиду у дозі 0.5 мг/кг, тому ми вирішили порівняти їх з показниками активності тіакаліксарену **2** (рис. 3.4).

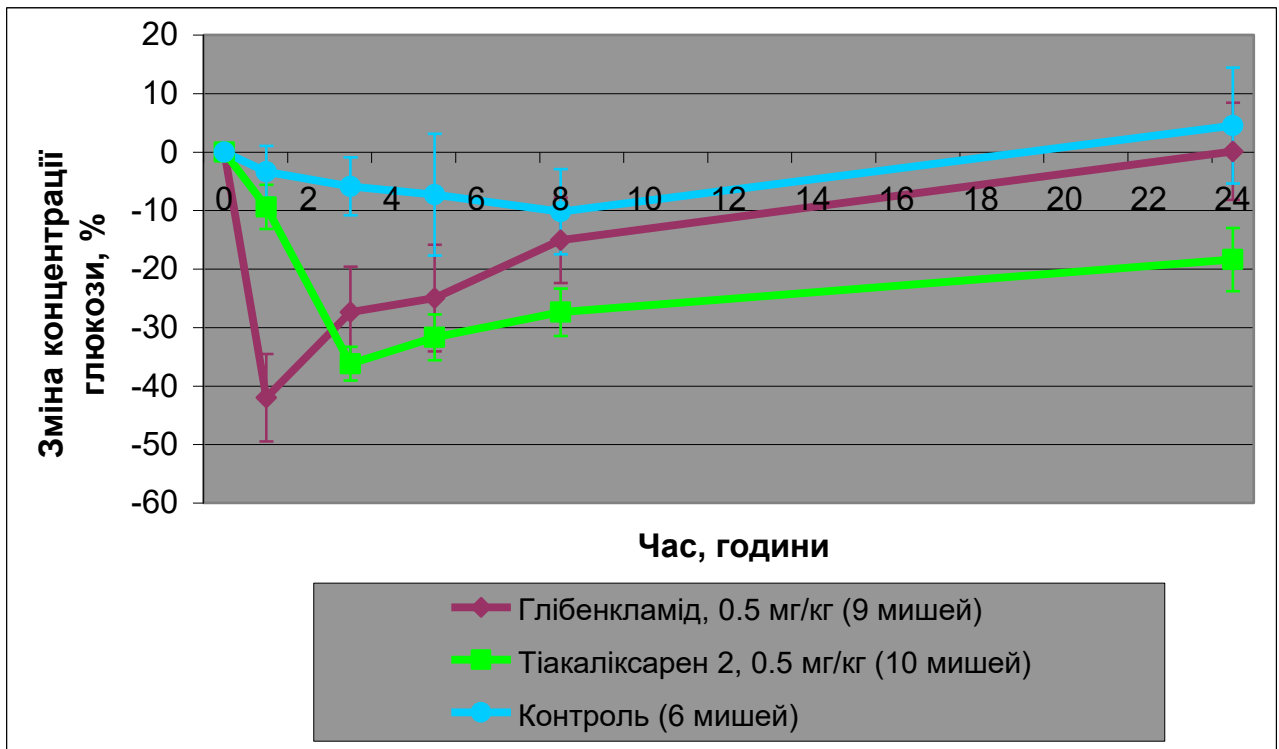


Рис. 3.4 Порівняння гіпоглікемічної ефективності тіакаліксарену **2** та глібенкламиду у дозі 0.5 мг/кг

Таким чином, тіакаліксарен **2** дійсно переважає за тривалістю гіпоглікемічного ефекту, проте поступається за швидкістю та інтенсивністю дії. Втім, було помічено, що концентрація глюкози у крові багатьох тварин, яким вводили глібенкламід, падала нижче 3-4 ммоль/л, що може призвести до небажаних наслідків, в тому числі летальних.

Отже, серед розглянутих доз тіакаліксарену **2** найбільшої уваги заслуговує доза 0.5 мг/кг, яка відзначається ефективним зниженням концентрації глюкози в крові вже за 3-й години та значною пролонгованістю дії,

яка є конкурентоспроможною до таких ефективних ЛЗ, як похідні сульфонілсечовини, зокрема, глібенкламід. Крім того, виключення ризику гіпоглікемічних станів є серйозним аргументом на користь тіакаліксарену **2**.

3.4. Стрептозотоцин-індукований цукровий діабет у мишей

З метою більш ґрунтовного дослідження гіпоглікемічної ефективності тіакаліксарену **2** у дозі 0.5 мг/кг було вирішено провести ряд дослідів на мишах з індукованим штучним цукровим діабетом, створеним за допомогою стрептозотоцину (STZ).

Спочатку ми провели декілька дослідів з введенням STZ у дозі 40 мг/кг. На **рис. 3.5** графічно відображена динаміка росту концентрації глюкози в крові мишей, дослід було повторено двічі.

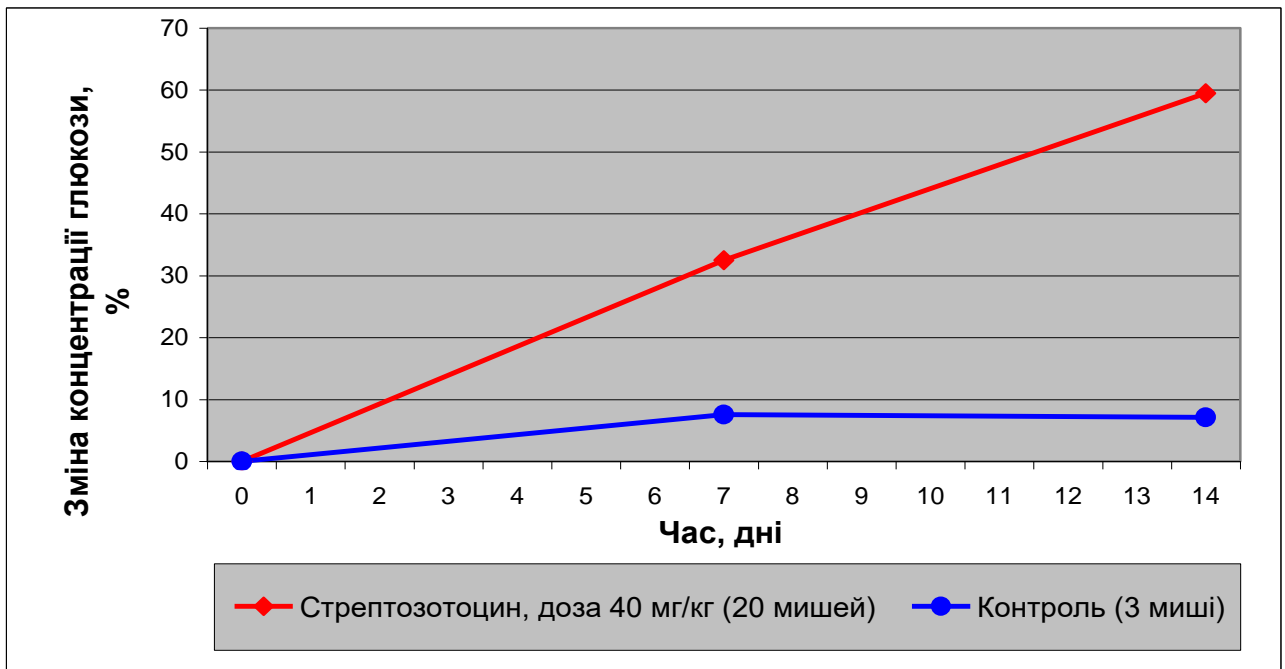


Рис. 3.5 Динаміка розвитку стрептозотоцинової моделі цукрового діабету у лабораторних мишей, доза 40 мг/кг

Як видно, через 7 днів після введення STZ середній показник концентрації глюкози в крові лабораторних тварин зріс на 33%, а через 14 – на 60%. Такі результати можна вважати цілком успішними та ефективними.

Далі було вирішено випробувати ефективність дози 50 мг/кг. Задля кращої картини динаміки росту концентрації глюкози були зроблені вимірювання на 10-й та 13-й день після введення STZ. Вимірювання на 14-й день та експеримент з введенням тіакаліксарену **2** були заплановані на 24 лютого 2022 року та не відбулися з відомих причин.

Згідно графіку (рис. 3.6), вже на 7-й день після введення STZ приріст концентрації глюкози дорівнював 43%, на 10-й день – 51%, на 13-й день – 59%.

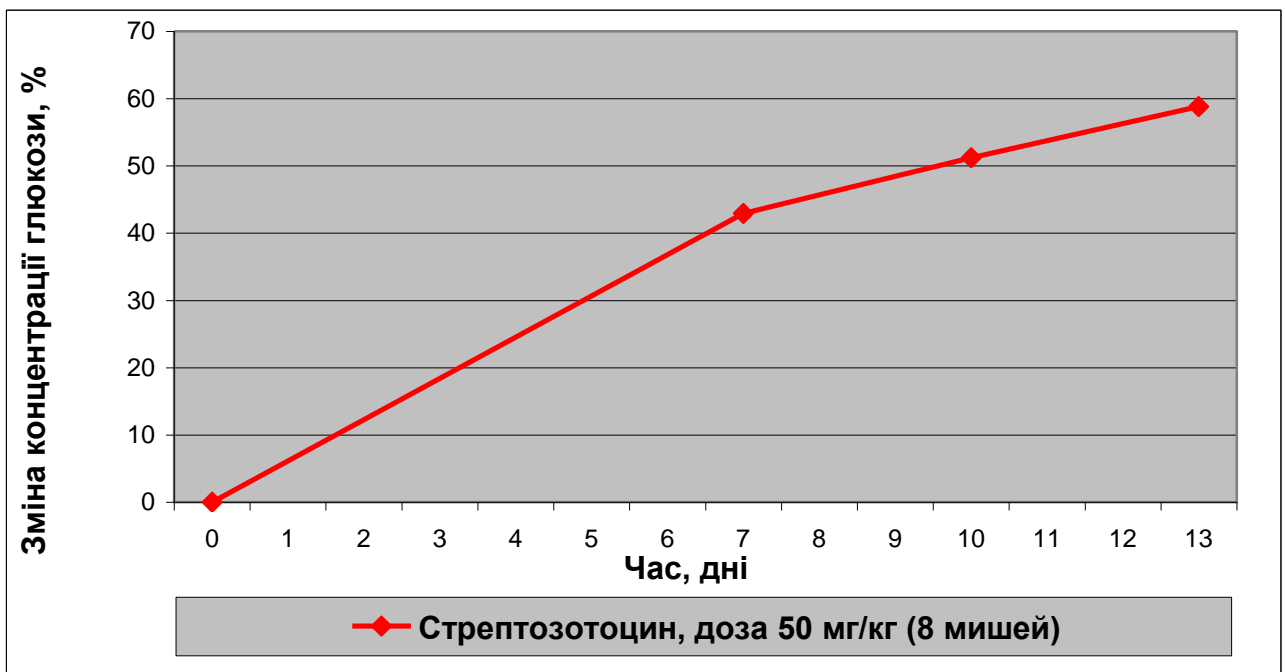


Рис. 3.6 Динаміка розвитку стрептозотоцинової моделі цукрового діабету у лабораторних мишей, доза 50 мг/кг

Виходячи з таких даних, можна зробити висновок, що обидві дози є ефективними для створення моделі цукрового діабету: у обох дозах концентрація глюкози зростає на 59-60% через 13-14 днів після введення

стрептозотоцину. Крім того, ймовірно, що при введенні дози 50 мг/кг модель цукрового діабету розвивається швидше, про що свідчить більший приріст середнього показника концентрації глюкози на 7-й день для цієї дози.

3.5. Дослідження гіпоглікемічної активності тіакаліксарену 2 на стрептозотоциновій моделі цукрового діабету

Після успішного створення стрептозотоцинового цукрового діабету у мишей ми провели декілька експериментів, досліджуючи найбільш ефективну та перспективну дозу 0.5 мг/кг тіакаліксарену 2. Крім того, для отримання референсних показників ми провели дослід з глібенкламідом (також на моделі діабету). Результати графічно подані на **рис. 3.7**.

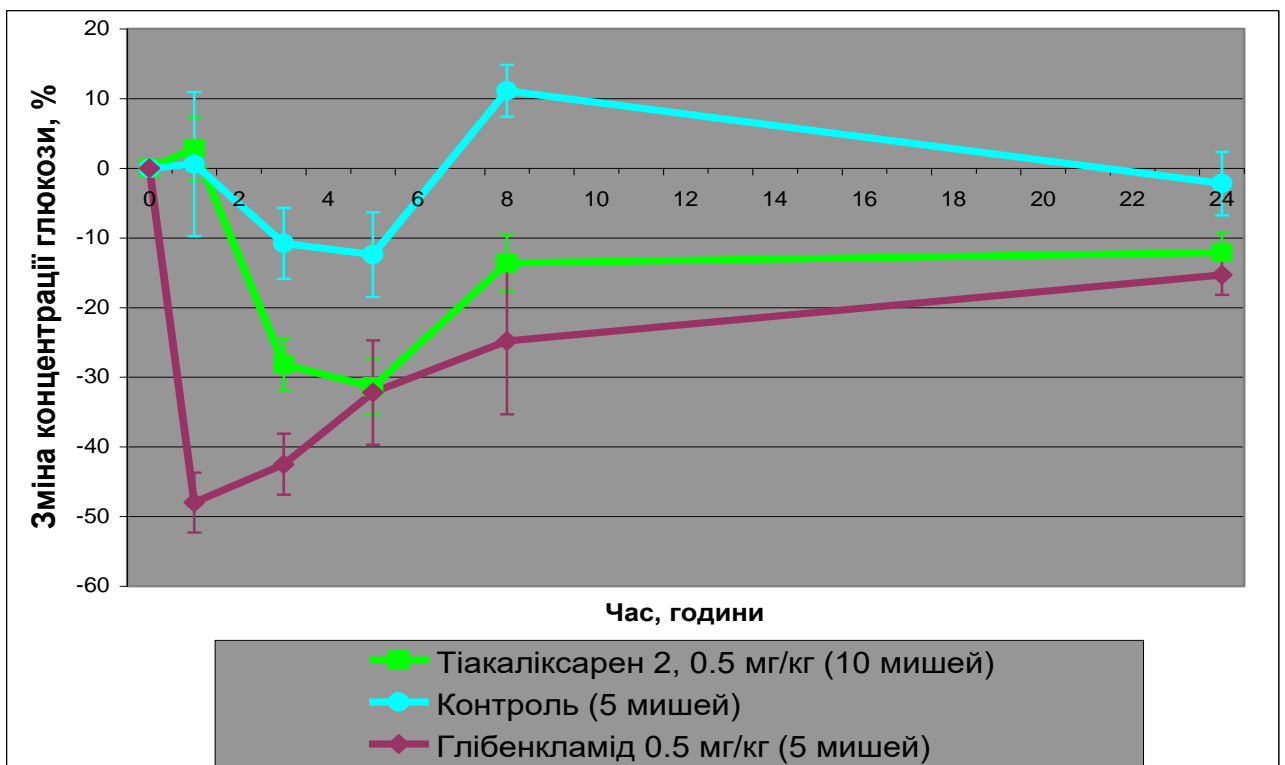


Рис. 3.7 Порівняння гіпоглікемічної активності тіакаліксарену 2 та глібенкламїду у дозах 0.5 мг/кг на стрептозотоциновій моделі цукрового діабету

Результати свідчать про те, що ефективність тіакаліксарену **2** у дозі 0.5 мг/кг на мишах зі стрептозотоциновою моделлю діабету не надто вражаюча. На першій годині ми зовсім не спостерігаємо бажаного глюкозознижувального ефекту. Натомість він з'являється через 3 години, сягає 28% та за 5 годин досягає вже 32%. І тільки в цей час за ефективністю він зрівнюється з глібенкламідом. Надалі, через 8 годин, сполука виявляє не таку ефективність, як на мишах без моделі діабету, всього 14% зниження, проте зберігає цей ефект до 24-х годин.

Така динаміка зміни концентрації є менш результативною до динаміки ефективності глібенкламиду, який вже через годину знизив концентрацію глюкози в крові мишей на 48% та впевнено продовжував ефективно діяти до 8 години (зниження на 25%), як мінімум. Проте ці досліді були проведені на відносно невеликих вибірках, і якщо б нам вдалося збільшити їх обсяг, ми б отримали більш репрезентативні результати. Втім, знову варто наголосити, що така помірна активність дозволяє уникнути різкої гіпоглікемії та сполука має шанси зарекомендувати себе за рахунок пролонгації глюкозознижувального ефекту.

Що стосується порівняння ефективності тіакаліксарену **2** на моделі діабету та без такої, то ми припускаємо, що тут грає роль той факт, що стрептозотин є неймовірно токсичним для β -клітин ПЗ та призводить до їх некрозу, чим власне і обумовлений механізм розвитку стрептозотоцинової моделі діабету [189]. Оскільки наша сполука модифікована сульфонілкарбамідними функціональними групами, то варто враховувати особливості механізму дії похідних сульфонілсечовини в організмі. Як вже було зазначено в розділі 1, ПС ефективні лише за умови наявності функціонуючих β -клітин в ПЗ. І якщо «перша фаза» секреції інсуліну після зв'язування макромолекули тіакаліксарену з рецепторами сульфонілсечовини на мембрані β -клітин відбувається успішно, хоч і через значний час через

сповільнену біодоступність, спричиненою розміром макромолекули, то «друга фаза», що відбувається через певний час та характеризується інтенсивним утворенням нових гранул інсуліну, може бути значно послабленою через ушкодження β -клітин стрептозотоцином та їх некроз [109].

Отже, ми дослідили гіпоглікемічну активність тіакаліксарену **2** у дозі 0.5 мг/кг на стрептозотоциновій моделі цукрового діабету та підтвердили збереження ефективності. Гіпоглікемічний ефект з'являється через 3 години, сягає 28% та на 5-й годині досягає вже 32%. Надалі, на 8-ій годині, активність сполуки зменшується до 14%, проте зберігає цей ефект до 24-х годин. Такі показники є менш результативними, ніж у референсної сполуки, глібенкламід, проте маємо надію, що подальші дослідження дадуть змогу збільшити репрезентативність вибірки та знайти пояснення до результатів, які ми отримали.

ВИСНОВКИ

У роботі було досліджено гіпоглікемічну активність двох тіакалікс[4]аренів, модифікованих сульфонілсечовинними групами, на лабораторних мишах.

1) Виявлено, що найбільш ефективною дозою тіакаліксарену **1** серед досліджених виявилася доза 100 мг/кг, яка характеризується накопичувальним та пролонгованим гіпоглікемічним ефектом, який розвивається досить швидко і через 1 годину після введення складає 28%. Через 3 години ефект сягає 31%, через 5 – 35%, через 8 годин – 41% та, можливо, зростає й далі, проте наступний вимір відбувся вже через добу після введення. Така порівняно вища швидкість настання ефекту, ймовірно, пов'язана із меншим розміром молекули тіакаліксарену **1** і значно більшою його дозою.

2) На здорових мишах найбільш ефективною дозою тіакаліксарену **2** серед досліджених доз є 0.5 мг/кг. Вона відзначається ефективним зниженням концентрації глюкози в крові через 3 години після введення сполуки, значною пролонгованістю дії та наявністю відчутного гіпоглікемічного ефекту через добу після введення. Так, концентрація глюкози за 3 години після введення знижується на 36%, на 32% через 5 годин, на 27% через 8 годин та на 18% через 24 години.

Зазначимо, що таке поєднання ефективності та тривалості дії є перспективними та конкурентоспроможним у порівнянні з присутніми на ринку ЛЗ. Зокрема, референсна сполука, глібенкламід, відомий і широко використовуваний ЛЗ класу похідних сульфонілсечовини, не може похвалитися такою пролонгованістю дії в ідентичній дозі. З одного боку, тіакаліксарен **2** є менш ефективним, ніж глібенкламід у перші 2-3 години, що пояснюється сповільненою біодоступністю відносно великої молекули даного макроциклу, з іншого – виключається ризик надмірної гіпоглікемії.

3) Було успішно створено штучну модель цукрового діабету у мишей за допомогою стрептозотоцину у дозах 40 та 50 мг/кг. У обох дозах концентрація глюкози зростає на 59-60% через 13-14 днів після введення сполуки. Крім того, при введенні вищої дози помічено, що гіперглікемічний стан розвивається швидше – через 7 днів після введення приріст складає 43%, у меншій дозі – 33%.

4) На мишах зі стрептозотоциновою моделлю діабету ефективність дози 0.5 мг/кг тіакаліксарену **2** переважно є меншою у порівнянні з активністю референсної сполуки, глібенкламіду. Значний гіпоглікемічний ефект з'являється через 3 години після введення і складає 28%, а за 5 годин досягає 32% та зрівнюється з глібенкламідом. Надалі, за 8 годин, активність сполуки зменшується до 14%, проте зберігає цей ефект до 24-х годин.

В подальшій роботі ми плануємо дослідити фармакокінетичні аспекти дії досліджуваних сполук та вивчити нюанси їх метаболізму за допомогою сучасних фізико-хімічних методів, зокрема, визначити концентрації тіакаліксарену **2** у різних органах лабораторних тварин методами хромато-мас-спектрометрії.

Результати можуть бути використані для подальших досліджень (тіа)калікс[п]аренів та інших супрамолекулярних макроциклічних сполук з метою створення нових високоефективних антидіабетичних ЛЗ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. "[About diabetes](#)". World Health Organization. Archived from [the original](#) on 31 March 2014. Retrieved 4 April 2014.
2. American Diabetes Association (January 2006). "[Standards of medical care in diabetes--2006](#)". *Diabetes Care*. 29 Suppl 1 (Supplement 1): S4–42.
3. Reed J, Bain S, Kanamarlapudi V (August 2021). "[A Review of Current Trends with Type 2 Diabetes Epidemiology, Aetiology, Pathogenesis, Treatments and Future Perspectives](#)". *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*. **14**: 3567–3602.
4. Rodik R. V., Boyko V. I., Kalchenko V. I. Calixarenes in bio-medical researches // *Curr. Med. Chem.* — 2009. — 16, № 1. — P. 1630-1655.
5. Gutsche C.D. Calixarenes: An introduction. *Cambridge: Royal Society of Chemistry*. 2008. 276 p.
6. Vicens J., Harrowfield J., Eds. Calixarenes in the Nanoworld. *Dordrecht: Springer*. 2007. 354 p.
7. Neri P., Sessler J.L., Wang M.-X., Eds. Calixarenes and beyond. *Switzerland: Springer*. 2016.
8. Calixarenes for Separations / Eds. G.J. Lumetta. R.D. Rogers, A.S. Gopalan. – Washington: American Chemical Society, 2000. – 366 p.
9. Хімія тіакалікс[4]аренів / А. Б. Драпайло, О. В. Касьян, В. І. Кальченко // *Журн. орган. та фармац. хімії*. - 2012. - 10, Вип. 4. - С. 3-24.
10. Iki, N., Miyano, S. Can Thiocalixarene Surpass Calixarene? *Journal of Inclusion Phenomena* **41**, 99–105 (2001).
11. Aronoff SL, Berkowitz K, Shreiner B, Want L (2004). "[Glucose metabolism and regulation: Beyond insulin and glucagon](#)". *Diabetes Spectrum*. **17** (3): 183–90.
12. Lehninger A, Nelson D, Cox M (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. New York: W.H. Freedom. p. 934.

13. James D.E., Brown R., Navarro J., Pilch P.F. Insulin-regulatable tissues express a unique insulin-sensitive glucose transport protein // *Nature: magazine*. — 1988. — Mai (vol. 333, n 6169). — P. 183—185.
14. Watson R.T., Kanzaki M., Pessin J.E. Regulated membrane trafficking of the insulin-responsive glucose transporter 4 in adipocytes // [Endocrine Reviews](#): journal. — [Endocrine Society](#), 2004. — April (vol. 25, no. 2). — P. 177—204.
15. Ebey Soman, [Scienceray](#), [Regulation of Glucose by Insulin Archived](#) July 16, 2011, at the [Wayback Machine](#), May 4, 2009.
16. Voet D., Voet J.G. (2011). *Biochemistry* (ed. 4th). Wiley. c. 487—496.
17. Blackstock, James C. (2014-06-28). [Guide to Biochemistry](#). Butterworth-Heinemann.
18. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. — Х., 2000.
19. “Carbohydrate response element binding protein directly promotes lipogenic enzyme gene transcription”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **101** (44): 15597—602. November 2004.
20. “Regulation of acetyl-CoA carboxylase”. *Biochemical Society Transactions*. **34** (Pt 2): 223—7. April 2006.
21. Marieb EN, Hoehn K (2006). *Human Anatomy & Physiology* (ed. 7th). Benjamin Cummings.
22. Melmed, S; Polonsky, KS; Larsen, PR; Kronenberg, HM (2011). [Williams Textbook of Endocrinology](#) (ed. 11th). Saunders. c. [478](#)—479.
23. Habegger, K. M., Heppner, K. M., Geary, N., Bartness, T. J., Dimarchi, R. & Tschop, M. H. (2010). ["The metabolic actions of glucagon revisited"](#). *Nature Reviews. Endocrinology*. **6** (12): 689—697.
24. Arnall DA, Marker JC, Conlee RK, Winder WW (June 1986). "Effect of infusing epinephrine on liver and muscle glycogenolysis during exercise in rats". *The American Journal of Physiology*. **250** (6 Pt 1): E641-9.

25. Raz I, Katz A, Spencer MK (March 1991). "Epinephrine inhibits insulin-mediated glycogenesis but enhances glycolysis in human skeletal muscle". *The American Journal of Physiology*. **260** (3 Pt 1): E430-5.
26. Sabyasachi Sircar (2007). *Medical Physiology*. Thieme Publishing Group. p. 536.
27. Carlson NR (2010). *Physiology of Behavior* (11th ed.). New York: Allyn & Bacon. p. 605.
28. Natelson BH, Holaday J, Meyerhoff J, Stokes PE (August 1975). "[Temporal changes in growth hormone, cortisol, and glucose: relation to light onset and behavior](#)". *The American Journal of Physiology*. **229** (2): 409–15.
29. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). "[Low Blood Glucose \(Hypoglycemia\)](#)". *NIDDK.nih.gov*.
30. Jameson JL, Kasper DL, Longo DL, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J (2018). *Harrison's principles of internal medicine* (20th ed.). New York.
31. Cryer PE, Axelrod L, Grossman AB, Heller SR, Montori VM, Seaquist ER, Service FJ (March 2009). "[Evaluation and management of adult hypoglycemic disorders: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline](#)". *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. **94** (3): 709–728.
32. Young VB (2016). *Blueprints medicine*. William A. Kormos, Davoren A. Chick (6th ed.). Philadelphia.
33. [American Diabetes Association \(ADA\)](#). "[Hypoglycemia \(Low Blood Glucose\)](#)". *www.diabetes.org*.
34. American Diabetes Association (2014). "[Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus](#)". *Diabetes Care*. **37**: S81–S90.
35. Umpierrez, Guillermo E.; Pasquel, Francisco J. (2017). "[Management of Inpatient Hyperglycemia and Diabetes in Older Adults](#)". *Diabetes Care*. **40** (4): 509–517.
36. Swe MT, Pongchaidecha A, Chatsudthipong V, Chattipakorn N, Lungkaphin A (2019). "Molecular signaling mechanisms of renal gluconeogenesis in nondiabetic and diabetic conditions". *Journal of Cellular Physiology*. **234** (6): 8134–8151.

37. Sargsyan A, Herman MA (2019). ["Regulation of Glucose Production in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes"](#). *Current Diabetes Reports*. **19** (9): 77.
38. Luna B, Feinglos MN (2001). "Drug-induced hyperglycemia". *JAMA*. **286** (16): 1945–48.
39. ["What is Diabetes? | NIDDK"](#). *National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases*.
40. ["Classification of Diabetes mellitus 2019"](#). WHO.
41. Tuomi T, Santoro N, Caprio S, Cai M, Weng J, Groop L (March 2014). "The many faces of diabetes: a disease with increasing heterogeneity". *Lancet*. **383** (9922): 1084–1094.
42. ["Diabetes Fact sheet N°312"](#). WHO. October 2013. Archived from [the original](#) on 26 August 2013. Retrieved 25 March 2014.
43. Norman A, Henry H (2015). *Hormones*. Elsevier. pp. 136–137.
44. Rother KI (April 2007). ["Diabetes treatment--bridging the divide"](#). *The New England Journal of Medicine*. **356** (15): 1499–1501.
45. Petzold A, Solimena M, Knoch KP (October 2015). ["Mechanisms of Beta Cell Dysfunction Associated With Viral Infection"](#). *Current Diabetes Reports* (Review). **15** (10): 73.
46. Butalia S, Kaplan GG, Khokhar B, Rabi DM (December 2016). "Environmental Risk Factors and Type 1 Diabetes: Past, Present, and Future". *Canadian Journal of Diabetes* (Review). **40** (6): 586–593.
47. Visser J, Rozing J, Sapone A, Lammers K, Fasano A (May 2009). ["Tight junctions, intestinal permeability, and autoimmunity: celiac disease and type 1 diabetes paradigms"](#). *Annals of the New York Academy of Sciences*. **1165** (1): 195–205.
48. Pal K, Eastwood SV, Michie S, Farmer AJ, Barnard ML, Peacock R, et al. (Cochrane Metabolic and Endocrine Disorders Group) (March 2013). ["Computer-](#)

[based diabetes self-management interventions for adults with type 2 diabetes mellitus](#)". *The Cochrane Database of Systematic Reviews* (3): CD008776.

49. Polisena J, Tran K, Cimon K, Hutton B, McGill S, Palmer K (October 2009). "Home telehealth for diabetes management: a systematic review and meta-analysis". *Diabetes, Obesity & Metabolism*. **11** (10): 913–930.

50. Toumpanakis A, Turnbull T, Alba-Barba I (2018-10-30). "[Effectiveness of plant-based diets in promoting well-being in the management of type 2 diabetes: a systematic review](#)". *BMJ Open Diabetes Research & Care*. **6** (1): e000534.

51. Haw JS, Galaviz KI, Straus AN, Kowalski AJ, Magee MJ, Weber MB, et al. (December 2017). "[Long-term Sustainability of Diabetes Prevention Approaches: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Clinical Trials](#)". *JAMA Internal Medicine*. **177** (12): 1808–1817.

52. Mottalib A, Kasetty M, Mar JY, Elseaidy T, Ashrafzadeh S, Hamdy O (August 2017). "[Weight Management in Patients with Type 1 Diabetes and Obesity](#)". *Current Diabetes Reports*. **17** (10): 92.

53. Evert AB, Dennison M, Gardner CD, Garvey WT, Lau KH, MacLeod J, et al. (May 2019). "[Nutrition Therapy for Adults With Diabetes or Prediabetes: A Consensus Report](#)". *Diabetes Care* (Professional society guidelines). **42** (5): 731–754.

54. Kumar, Vinay; Fausto, Nelson; Abbas, Abul K.; Cotran, Ramzi S. ; Robbins, Stanley L. (2005). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease* (ed. 7th). Philadelphia, Pa.: Saunders. c. 1194–1195.

55. Smyth S, Heron A (January 2006). "Diabetes and obesity: the twin epidemics". *Nature Medicine*. **12** (1): 75–80.

56. Gardner DG, Shoback D, eds. (2011). "Chapter 17: Pancreatic hormones & diabetes mellitus". *Greenspan's basic & clinical endocrinology* (9th ed.). New York: McGraw-Hill Medical.

57. Ripsin CM, Kang H, Urban RJ (January 2009). "Management of blood glucose in type 2 diabetes mellitus". *American Family Physician*. **79** (1): 29–36.
58. Ripsin CM, Kang H, Urban RJ (January 2009). Management of blood glucose in type 2 diabetes mellitus. *Am Fam Physician* **79** (1): 29–36.
59. Triggler CR, Ding H (January 2017). "Metformin is not just an antihyperglycaemic drug but also has protective effects on the vascular endothelium". *Acta Physiologica*. **219** (1): 138–151.
60. ["Metformin Hydrochloride"](#). The American Society of Health-System Pharmacists. [Archived](#) from the original on 24 December 2016. Retrieved 2 January 2017.
61. Vijan S (March 2010). "In the clinic. Type 2 diabetes". *Annals of Internal Medicine*. **152** (5): ITC31–15, quiz ITC316.
62. Rena G, Pearson ER, Sakamoto K (September 2013). ["Molecular mechanism of action of metformin: old or new insights?"](#). *Diabetologia*. **56** (9): 1898–906.
63. Madiraju AK, Erion DM, Rahimi Y, Zhang XM, Braddock DT, Albright RA, et al. (June 2014). ["Metformin suppresses gluconeogenesis by inhibiting mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase"](#). *Nature*. **510** (7506): 542–6.
64. Hundal RS, Krssak M, Dufour S, Laurent D, Lebon V, Chandramouli V, et al. (December 2000). ["Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes"](#). *Diabetes*. **49** (12): 2063–9.
65. ["Drug Approval Package: Invokana \(canagliflozin\) Tablets NDA #204042"](#). U.S. *Food and Drug Administration* (FDA).
66. ["Drug Approval Package: Farxiga \(dapagliflozin\) Tablets NDA #202293"](#). U.S. *Food and Drug Administration* (FDA).
67. ["FDA approves Jardiance \(empagliflozin\) tablets for adults with type 2 diabetes"](#). Boehringer Ingelheim / Eli Lilly and Company. 1 August 2014. Archived from [the original](#) on 5 November 2014. Retrieved 5 November 2014.

68. ["Steglatro \(ertugliflozin\), Steglujan \(ertugliflozin and sitagliptin\), Segluromet \(ertugliflozin and metformin hydrochloride\) Tablets". U.S. Food and Drug Administration \(FDA\).](#)
69. Poole, Raewyn M.; Dungo, Rosselle T. (26 March 2014). "Ipragliflozin: First Global Approval". *Drugs*. **74** (5): 611–617.
70. Markham, Anthony; Elkinson, Shelley (2014). "Luseogliflozin: First Global Approval". *Drugs*. **74** (8): 945–950.
71. Da Silva, Paula Nogueira; Da Conceição, Raissa Alves; Do Couto Maia, Rodolfo; De Castro Barbosa, Maria Leticia (2018). ["Sodium–glucose cotransporter 2 \(SGLT-2\) inhibitors: A new antidiabetic drug class".](#) *MedChemComm*. **9** (8): 1273–1281
72. Sanofi (17 January 2019). ["Sanofi: FDA advisory committee votes on Zynquista \(TM\) \(sotagliflozin\) as treatment for adults with type 1 diabetes".](#) *GlobeNewswire News Room*.
73. Poole, Raewyn M.; Prossler, Jennifer E. (2014). "Tofogliflozin: First Global Approval". *Drugs*. **74** (8): 939–944.
74. Gallo, L. A., Wright, E. M., & Vallon, V. (2015). Probing SGLT2 as a therapeutic target for diabetes: basic physiology and consequences. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 12(2), 78-89.
75. Provenzano M., et al., (2021). [Sodium-Glucose Co-transporter-2 Inhibitors and Nephroprotection in Diabetic Patients: More Than a Challenge.](#) *Front. Med*.
76. Keller, D. M., Ahmed, N., Tariq, H., Walgamage, M., Walgamage, T., Mohammed, A., ... & Straburzyńska-Migaj, E. (2022). SGLT2 Inhibitors in Type 2 Diabetes Mellitus and Heart Failure—A Concise Review. *Journal of Clinical Medicine*, 11(6), 1470.
77. Vallon, V., & Thomson, S. C. (2017). Targeting renal glucose reabsorption to treat hyperglycaemia: the pleiotropic effects of SGLT2 inhibition. *Diabetologia*, 60(2), 215-225.

78. Clar, Christine; Gill, James Alexander; Court, Rachel; Waugh, Norman (2012). "[Systematic review of SGLT2 receptor inhibitors in dual or triple therapy in type 2 diabetes](#)". *BMJ Open*. **2** (5): e001007.
79. Hsia, Daniel S.; Grove, Owen; Cefalu, William T. (2016). "[An update on sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors for the treatment of diabetes mellitus](#)". *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. **24** (1): 73–79.
80. Amori RE, Lau J, Pittas AG (July 2007). "Efficacy and safety of incretin therapy in type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis". *JAMA*. **298** (2): 194–206.
81. Nauck, Michael A; Meier, Juris J (June 2016). "[The incretin effect in healthy individuals and those with type 2 diabetes: physiology, pathophysiology, and response to therapeutic interventions](#)". *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. **4** (6): 525–536.
82. Baggio LL, Drucker DJ (May 2007). "Biology of incretins: GLP-1 and GIP". *Gastroenterology*. **132** (6): 2131–57.
83. Gautier JF, Choukem SP, Girard J (2008). "Physiology of incretins (GIP and GLP-1) and abnormalities in type 2 diabetes". *Diabetes & Metabolism*. **34**: S65–S72.
84. Seino Y, Fukushima M, Yabe D (April 2010). "[GIP and GLP-1, the two incretin hormones: Similarities and differences](#)". *Journal of Diabetes Investigation*. **1** (1–2): 8–23.
85. Creutzfeldt, Werner; Ebert, Reinhold; Ørskov, Cathrine; Bartels, Eckart; Nauck, Michael A. (1992). "[Lack of Effect of Synthetic Human Gastric Inhibitory Polypeptide and Glucagon-Like Peptide 1 \[7-36 Amide\] Infused at Near-Physiological Concentrations on Pentagastrin-Stimulated Gastric Acid Secretion in Normal Human Subjects](#)". *Digestion*. **52** (3–4): 214–221
86. Rachmany L, Tweedie D, Li Y, Rubovitch V, Holloway HW, Miller J, Hoffer BJ, Greig NH, Pick CG (October 2013). "[Exendin-4 induced glucagon-like peptide-1 receptor activation reverses behavioral impairments of mild traumatic brain injury in mice](#)".

87. Mentlein R (November 1999). "Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)--role in the inactivation of regulatory peptides". *Regulatory Peptides*. **85** (1): 9–24.
88. Holst JJ (October 2007). "The physiology of glucagon-like peptide 1". *Physiological Reviews*. **87** (4): 1409–39.
89. Blonde L., Montanya E. Comparison of liraglutide versus other incretin-related anti-hyperglycaemic agents // *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2012; 14 (Suppl. 2): 20-32.
90. Claudine M. Chwieduk Sitagliptin/Metformin Fixed-Dose Combination In Patients with Type 2 Diabetes Mellitus // *Drugs*. 2011; 71 (3); 349-341.
91. Orme M., Fenici P., Duprat Lomon I., Wygant G., Townsend R., Roudaut M. A systematic review and mixed-treatment comparison of dapagliflozin with existing antidiabetes treatments for those with type 2 diabetes mellitus inadequately controlled by sulfonylurea monotherapy // *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2014; 6.
92. Ahre B., Schweizer A., Dejager S., Villhauer E. B., Dunning B.E., Foley J.E. Mechanisms of action of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor vildagliptin in humans // *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2011, Sept., Vol. 13 No. 9, p. 775-783.
93. Neumiller J.J. Differential chemistry (structure), mechanism of action, and pharmacology of GLP-1 receptor agonists and DPP-4 inhibitors // *J. Am. Pharm. Assoc.* 2009; 49 (Suppl. 1): 16-29.
94. Shyangdan DS, Royle P, Clar C, Sharma P, Waugh N, Snaith A (October 2011). "[Glucagon-like peptide analogues for type 2 diabetes mellitus](#)". *The Cochrane Database of Systematic Reviews* (10): CD006423.
95. "DPP-4 Inhibitors for Type 2 Diabetes: Drug Safety Communication - May Cause Severe Joint Pain". FDA. 2015-08-28. Retrieved 1 September 2015.
96. Hulin B, McCarthy PA, Gibbs EM (1996). "[The glitazone family of antidiabetic agents](#)". *Current Pharmaceutical Design*. **2**: 85–102.
97. Gillies PS, Dunn CJ (August 2000). "Pioglitazone". *Drugs*. **60** (2): 333–43, discussion 344–5.

98. Smith U (September 2001). "Pioglitazone: mechanism of action". *International Journal of Clinical Practice. Supplement* (121): 13–8.
99. Waki, H; Yamauchi, T; Kadowaki, T (2010). "Regulation of differentiation and hypertrophy of adipocytes and adipokine network by PPARgamma". *Nihon Rinsho*. **68** (2): 210–6.
100. ["Pioglitazone Hydrochloride Monograph for Professionals"](#). *Drugs.com*. American Society of Health-System Pharmacists. [Archived](#) from the original on 15 August 2020. Retrieved 3 March 2019.
101. Ferwana M, Firwana B, Hasan R, Al-Mallah MH, Kim S, Montori VM, Murad MH (September 2013). "Pioglitazone and risk of bladder cancer: a meta-analysis of controlled studies". *Diabetic Medicine*. **30** (9): 1026–32.
102. Park KH, Kim MJ, Lee HS, Han NS, Kim D, Robyt JF (December 1998). "Transglycosylation reactions of *Bacillus stearothermophilus* maltogenic amylase with acarbose and various acceptors". *Carbohydrate Research*. **313** (3–4): 235–246.
103. Oh SW, Jang MU, Jeong CK, Kang HJ, Park JM, Kim TJ (August 2008). ["Modulation of hydrolysis and transglycosylation activity of *Thermus maltogenic* amylase by combinatorial saturation mutagenesis"](#). *Journal of Microbiology and Biotechnology*. **18** (8): 1401–1407.
104. Kim TJ, Kim MJ, Kim BC, Kim JC, Cheong TK, Kim JW, Park KH (April 1999). "Modes of action of acarbose hydrolysis and transglycosylation catalyzed by a thermostable maltogenic amylase, the gene for which was cloned from a *Thermus* strain". *Applied and Environmental Microbiology*. **65** (4): 1644–1651.
105. Hedrington MS, Davis SN (December 2019). "Considerations when using alpha-glucosidase inhibitors in the treatment of type 2 diabetes". *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. **20** (18): 2229–2235.
106. Hoffmann J, Spengler M (December 1997). "Efficacy of 24-week monotherapy with acarbose, metformin, or placebo in dietary-treated NIDDM patients: the Essen-II Study". *The American Journal of Medicine*. **103** (6): 483–490.

107. Alternative Agents in Type 1 Diabetes in Addition to Insulin Therapy: Metformin, Alpha-Glucosidase Inhibitors, Pioglitazone, GLP-1 Agonists, DPP-IV Inhibitors, and SGLT-2 Inhibitors. Michelle DeGeeter, PharmD, CDE, Bobbie Williamson, PharmD, BCACP, CDE. *Journal of Pharmacy Practice* Vol 29, Issue 2, pp. 144 - 159.
108. Sola, Daniele & Rossi, Luca & Gianpiero, Carnevale & Maffioli, Pamela & Bigliocca, Marcello & Mella, Roberto & Corlianò, Francesca & Fra, Gian & Bartoli, Ettore & Derosa, Giuseppe. (2015). State of the art paper Sulfonylureas and their use in clinical practice. *Archives of medical science: AMS*. 11. 840-8. 10.5114/aoms.2015.53304.
109. Seino S (August 2012). "Cell signalling in insulin secretion: the molecular targets of ATP, cAMP and sulfonylurea". *Diabetologia*. **55** (8): 2096–2108.
110. Rados DV, Pinto LC, Remonti LR, Leitão CB, Gross JL (June 2016). "[Correction: The Association between Sulfonylurea Use and All-Cause and Cardiovascular Mortality: A Meta-Analysis with Trial Sequential Analysis of Randomized Clinical Trials](#)". *PLoS Medicine*. **13** (6): e1002091.
111. Hemmingsen B, Schroll JB, Wetterslev J, Gluud C, Vaag A, Sonne DP, et al. (July 2014). "[Sulfonylurea versus metformin monotherapy in patients with type 2 diabetes: a Cochrane systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials and trial sequential analysis](#)". *CMAJ Open*. **2** (3): E162–E175.
112. Olefsky JM, Reaven GM. Effects of sulphonylurea therapy on insulin binding to mononuclear leukocytes of diabetic patients. *Am J Med* 1976; 60: 89-95.
113. Blumenthal SA. Potentiation of the hepatic action of insulin by chlorpropamide. *Diabetes* 1977; 26: 485-9.
114. Hirst JA, Farmer AJ, Dyar A, Lung TW, Stevens RJ. Estimating the effect of sulfonylurea on HbA1c in diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia* 2013; 56: 973-84.

115. Hermann LS, Scherstén B, Bitzén PO, Kjellström T, Lindgärde F, Melander A. Therapeutic comparison of metformin and sulphonylurea, alone and in various combinations. A double-blind controlled study. *Diabetes Care* 1994; 17: 1100-9.
116. Gerich J, Raskin P, Jean-Louis L, Purkayastha D, Baron MA. PRESERVE-beta: two-year efficacy and safety of initial combination therapy with nateglinide or glyburide plus metformin. *Diabetes Care* 2005; 28: 2093-9.
117. Nestler JE. Metformin in the treatment of infertility in polycystic ovarian syndrome: an alternative perspective. *Fertil Steril* 2008; 90: 14-6.
118. Derosa G, Putignano P, Bossi AC, et al. Exenatide or glimepiride added to metformin on metabolic control and on insulin resistance in type 2 diabetic patients. *Eur J Pharmacol* 2011; 666: 251-6.
119. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2013. *Diabetes Care* 2013; 36 (Suppl. 1): S11-66.
120. Derosa G, Cicero AF, Fogari E, D'Angelo A, Bianchi L, Maffioli P. Pioglitazone compared to glibenclamide on lipid profile and inflammation markers in type 2 diabetic patients during an oral fat load. *Horm Metab Res* 2011; 43: 505-12.
121. Derosa G, Maffioli P. Effects of thiazolidinediones and sulfonylureas in patients with diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2010; 12: 491-501.
122. Derosa G. Pioglitazone plus glimepiride: a promising alternative in metabolic control. *Int J Clin Pract Suppl* 2007; 153: 28-36.
123. Derosa G, Cicero AF, D'Angelo A, et al. Effects of 1 year of treatment with pioglitazone or rosiglitazone added to glimepiride on lipoprotein (a) and homocysteine concentrations in patients with type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome: a multicenter, randomized, double-blind, controlled clinical trial. *Clin Ther* 2006; 28: 679-88.
124. Derosa G, Maffioli P, Ferrari I, et al. Effects of one year treatment of vildagliptin added to pioglitazone or glimepiride in poorly controlled type 2 diabetic patients. *Horm Metab Res* 2010; 42: 663-9.

125. Bressler P, DeFronzo RA. Drugs and diabetes. *Diabetes Rev* 1994; 2: 53-84.
126. Shorr RI, Ray WA, Daugherty JR, Griffin MR. Incidence and risk factors for serious hypoglycemia in older persons using insulin or sulfonylureas. *Arch Intern Med* 1997; 157: 1681-6.
127. Lee YH, Lee BW, Chun SW, Cha BS, Lee HC. Predictive characteristics of patients achieving glycemic control with insulin after sulphonylurea failure. *Int J Clin Pract* 2011; 65: 1076-84.
128. Derosa G, Limas CP, Macchias PC, Estrella A, Maffioli P. Dietary and nutraceutical approach to type 2 diabetes. *Arch Med Sci* 2014; 10: 336-44.
129. Rao AD, Kuhadiya N, Reynolds K, Fonseca VA. Is the combination of sulfonylureas and metformin associated with an increased risk of cardiovascular disease or all-cause mortality? A meta-analysis of observational studies. *Diabetes Care* 2008; 31: 1672-8.
130. Morgan CL, Poole CD, Evans M, Barnett AH, Jenkins-Jones S, Currie CJ. What next after metformin? A retrospective evaluation of the outcome of second-line, glucose-lowering therapies in people with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 4605-12.
131. Kasznicki J, Drzewoski J. Heart failure in the diabetic population – pathophysiology, diagnosis and management. *Arch Med Sci* 2014; 10: 546-56.
132. Abdelmoneim AS, Hasenbank SE, Seubert JM, Brocks DR, Light PE, Simpson SH. Variations in tissue selectivity amongst insulin secretagogues: a systematic review. *Diabetes Obes Metab* 2012; 14: 130-8.
133. Sansone F., Segura M., Ungaro R. Calixarenes in bioorganic and biomimetic chemistry // *Calixarenes 2001* / Eds. Asfari M.-Z., Böhmer V., Harrowfield J., Vicens J. – Dordrecht. Kluwer Academic Publishers, 2001. – P. 496–512.
134. Регіо- та стереоселективна функціоналізація калікс[4]аренів автореф. дис... докт. хім. наук: 02.00.03 / В. І. Бойко; НАН України, Ін-т орган. хімії. — К., 2008. — 26 с.

135. Gutsche C.D., Dhawan B., Levine J.A. et al. Conformational isomers of the ethers and esters of calyx [4] arenes // *Tetrahedron*. – 1983. – V. 39. – P. 409–426.
136. Hoorn W. P., van Veggel F. C. J. M., Reinhoudt D. N. Conformation of hexahydroxycalix [6] arene // *J. Org. Chem.* – 1996. – V. 61. – P. 7180–7184.
137. Stewart D.R., Gutsche C.D. Isolation, characterization, and conformational characteristics of *p*-tert-butylcalix [9–20] arenes // *J. Am. Chem. Soc.* – 1999. – V. 121. – P. 4136–4146.
138. Gutsche C.D., Dhawan B., No K.H., Muthukrishnan, R. Calixarenes. 4. The synthesis, characterization, and properties of the calixarenes from *p*-tert-butylphenol. *Journal of the American Chemical Society*. 1981. Vol. 103. P. 3782-3792.
139. Gutsche C.D. *p*-tert-Butylcalix[4]arene. *Organic Syntheses*. 1990. Vol. 68. P. 234.
140. Böhmer V. Calixarenes, macrocycles with (almost) unlimited possibilities. *Angewandte Chemie Int. Ed. Engl.* 1995. Vol. 34. P. 713-745.
141. König, B. and Fonseca, M. (2000), Heteroatom-Bridged Calixarenes. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2000: 2303-2310.
142. Kumagai, H., Hasegawa, M., Miyanari, S., Sugawa, Y., Sato, Y., Hori, T., Ueda, S., Kamiyama, H., Miyano, S. Facile synthesis of *p*-tert-butylthiacalix[4]arene by the reaction of *p*-tert-butylphenol with elemental sulfur in the presence of a base. *Tetrahedron Letters*. 1997, Vol. 38, P. 3971-3972.
143. Касьян О.В. Функціональні похідні тіакалікс[4]арену: Дис. ... канд. хім. наук. – К., 2007. – 250 с.
144. Калікс[*n*]арени — основа створення нових класів лікарських засобів (огляд літератури) / О. К. Ярош, Р. В. Родік, В. І. Кальченко, О. О. Ярош // *Журнал Національної академії медичних наук України*. - 2013. - т. 19, № 4. - С. 421-434.
145. Комисаренко С. В., Вовк А. И., Кухар В. П. и др. A15,11,17,23-tetrakis[bis (dihydroxyphosphoryl) methyl]calix [4]arene or the salt thereof as fibrin polymerization inhibitors. — Патент WO 2011129796. – Опубл. 20 октября 2011 г.

146. *Cherenok S., Vovk A., Muravyova I.* et al. Calix[4]arene α -aminophosphonic acids: asymmetric synthesis and enantioselective inhibition of an alkaline phosphatases // *Org. Lett.* — 2006. — **8**, № 4. — P. 549-556.
147. *Kalchenko V.* Calixarene receptors of environmentally hazardous and biorelevant molecules and ions // *IUPAC.* — 2008. — **80**. — P. 1449-1458.
148. *Gutsche C. D.* Calixarenes (Monographs in supramolecular chemistry). — Cambridge: Royal Soc. Chem., 1989. — 223 p.
149. *Yakovenko A. V., Boyko V. I., Kalchenko V. I.* et al. N-Linked peptidocalix[4]arene bisureas as enantioselective receptors for amino acid derivatives // *J. Org. Chem.* — 2007. — **72**, № 9. — P. 3223-3231.
150. *Vovk A. I., Kalchenko V. I., Cherenok S. A.* et al. Calix[4]arene methylenebisphosphonic acids as calf intestine alkaline phosphatases inhibitors // *Org. Biomol. Chem.* — 2004. — **2**. — P. 3162-3173.
151. *Cherenok S., Dutasta J.-P., Kalchenko V.* Phosphoruscontaining chiral macrocycles // *Current Org. Chem.* — 2006. — **10**. — P. 2307-2331.
152. *Cherenok S., Kalchenko V.* Phosphorus-containing calixarenes // *Topics Heterocyclic Chem.* — 2009. — **20**. — P. 229-273.
153. *Kasyan O., Kalchenko V., Bolte V., Bohmer V.* Hydrogenbonded dimers of a thiacalixarene substituted by carbamoylmethylphosphineoxide groups at the wide rim // *Chem Commun (Camb).* — 2006. — **18**. — P. 1932-1934.
154. *Yakovenko A. V., Boyko V. I., Danylyuk O.* et al. Diastereoselective lower rim (1S)-camphorsulfonylation as the shortest way to the inherently chiral calix[4]arene // *Org. Lett.* — 2007. — **9**, № 7. — P. 1183-1185.
155. *Stoikova E. E., Evtugyn G. A., Belyakova S. V.* et al. 1,3-Disubstituted p-tert-butylcalix[4]arenes as cholinesterase inhibitors // *J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.* — 2001. — **39**, № 3-4. — P. 339-349.
156. *Park H. S., Lin Q., Hamilton A. D.* Modulation of protein-protein interactions by synthetic receptors: design of molecules that disrupt serine protease-proteinaceous

inhibitors interaction // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2002. — **99**, № 8. — P. 5105-5122.

157. *Park H. S., Lin Q., Hamilton A. D.* Protein surface recognition by synthetic receptors: a route to novel submicromolar inhibitors for chymotrypsin // J. Am. Chem. Soc. — 1999. — **121**, № 1. — P. 8-21.

158. *Francesse S., Cozzolino A., Caputo I.* et al. Transglutaminase surface recognition by peptidocalix[4]arene diversomers // Tetrahedron Lett. — 2005. — **46**, № 10. — P. 1611-1633.

159. *Dings R. P. M., Chen X., Hellebrekers D. M. E. I.* et al. Design of nonpeptide topomimetics of antiangiogenic proteins with antitumor activities // J. Natl. Cancer Inst. — 2006. — **98**, № 13. — P. 932-947.

160. *Shriver Z., Liu D., Sasisekharan R.* Emerging views of heparin sulfate glycosaminoglycan structure/activity relationships modulating dynamic biological functions // Trends Cardiovasc. Med. — 2002. — **12**, № 2. — P. 71-84.

161. *Coveney D., Costello B.* Calixarene-derivatives having antiviral activity. — European Patent EP1367044 (2003).

162. *Coveney D., Costello B.* Preparation of alkylated pyrogallol calixarene type compounds as anti-viral compounds. — US Patent US2005113454 (2005).

163. *Harris S. J.* Anti-viral compounds. — US Patent WO2002044121 A1 (2002).

164. *Harris S. J.* Calixarene-based compounds having antibacterial, antifungal, anticancer-hiv activity. — US Patent WO1995019974 A2 (1995).

165. *Hwang K. M., Qi Y. M., Liu S. Y.* et al. Inhibition and treatment of infection by enveloped virus with calyx[n]arene compounds. — US Patent WO9403164 (1994).

166. *Kral V., Cigler P., Konvalinka J.* et al. Novel hiv protease inhibitors. — US Patent WO2005073240 (2005).

167. *Colston M. J., Hailes H. C., Stavropoulos E.* et al., Antimycobacterial calixarenes enhance innate defense mechanism in murine macrophages and induce

- control of *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice // *Infect. Immun.* — 2004. — **72**, № 11. — P. 6318-6332.
168. *Conforth J. W., Hart P. D., Nicholls G. A.* et al. Antituberculous effects of certain surface-active polyoxyethylene ethers // *Br. J. Pharmacol. Chemother.* — 1955. — **10**, № 1. — P. 73-92.
169. *Hart P. D., Armstrong J. A., Brodaty E.* Calixarenes with hostmediated potency in experimental tuberculosis: further evidence that macrophage lipids are involved in their mechanism of action // *Infect. Immun.* — 1996. — **64**, № 4. — P. 1491-1514.
170. *Jain M. K., Jahagirdar D. V.* Effect of antituberculous calixarenes on phospholipase A2, susceptibility and on fusion of phospholipids bilayers // *Biochem. J.* — 1985. — **227**, № 3. — P. 789-792.
171. *Casnati A. C., Fabbi M., Pelizzi N.* et al. Synthesis, antimicrobial activity and binding properties of calix[4]arene based vancomycin mimics // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 1996. — **6**, № 22. — P. 2699-2714.
172. *Paquet V., Zumbuehl A., Carreira E. M.* Biologically active amphoterecin B-calix[4]arene conjugates // *Bioconjugate Chem.* — 2006. — **17**, № 6. — P. 1460-1473.
173. *Puchnin K., Cheshkov D., Zaikin P.* et al. Tuning conformations of calix[4]tubes by weak intramolecular interactions // *New J. Chem.* — 2013. — **37**. — P. 416-424.
174. *Puchnin K., Zaikin P., Cheshkov D.* et al. Calix[4]tubes: An Approach to Functionalization // *Chem. Eur. J.* — 2012. — **18**. — P. 10954-10968.
175. *Marradi M., Chiodo F., Garcia I., Penades S.* Glyconanoparticles as multifunctional and multimodal carbohydrate systems // *Chem. Soc. Rev.* — 2013. — **7**. — P. 4728-4745.
176. *Смирнов И. В., Караван М. Д., Ефремова Т. И.* и др. Экстракция америция, европия, технеция и палладия из азотнокислых сред // *Радиохимия.* — 2007. — **49**, № 5. — С. 423-431.

177. Torgov V., Kostin G., Korda T. et al. Upper rim thioether derivatives of calix[4,6]arenes // *J. Solvent Extraction and Ion Exchange*. — 2005. — **23**. — P. 781-801.
178. V. Torgov, G. Kostin, V. Mashukov, T. Korda, A. Drapailo & V. Kalchenko (2005) Complexation and Reduction of Gold (III) During Extraction from HCl by Calix[4,6]arenes Upper-Rim Functionalized with Alkyl- or Tolythiamethyl Groups, *Solvent Extraction and Ion Exchange*, 23:2, 171-187.
179. Ярош А. К., Денисенко О. Н., Родик Р. В., Кальченко В. И. Влияние производных каликс[4]аренов на уровень глюкозы крови в экспериментальных условиях. // Мат-лы докл. XIII научно-практ. семинара “Научные основы создания лекарственных средств” (Гурзуф, 27-29 мая 2013 г.). — С. 15-20.
180. 5,17-ді(арилсульфоніл)уреїдо-11,23-ди-трет-бутил-26,28-дигідрокси-25,27-дипропоксикалікс[4]арени, які виявляють гіпоглікемічну активність : пат. 96819 Україна : А61К 31/64, С07С 313/00 / О. К. Ярош, Р. В. Родік, О. М. Денисенко, А. І. Соловйов, В. І. Бойко, В. І. Кальченко. — № и 2014 04900 ; заявл. 08.05.2014 ; опубл. 25.02.2015 , Бюл. № 4. — 7 с.
181. Rodik, R.V.; Boyko, V.I.; Danylyuk, O.V.; Suwinska, K.; Tsymbal, I.F.; Slinchenko, N.V.; Babich, L.G.; Shlykov, S.O.; Kosterin, S.O.; Lipkowski, J.; Kalchenko, V.I. Calix[4]arenesulfonylamidines. Synthesis, structure and influence on Mg²⁺, ATP-dependent calcium pumps. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 7459-7462.
182. Головенко М. Я. Фізіологічні моделі біодоступності лікарських засобів, що ґрунтуються на механізмах їх всмоктування / М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк // Журнал Академії медичних наук. — 2009. — № 1. — С. 32-49.
183. Martos, V., Bell, S. C., Santos, E., Isacoff, E. Y., Trauner, D., & de Mendoza, J. (2009). Molecular recognition and self-assembly special feature: Calix[4]arene-based conical-shaped ligands for voltage-dependent potassium channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(26), 10482–10486.

184. Oikonomakos, N. G., Kosmopoulou, M. N., Chrysina, E. D., Leonidas, D. D., Kostas, I. D., Wendt, K. U., Klabunde, T., DeFossa E. *Acyl Ureas as Human Liver Glycogen Phosphorylase Inhibitors for the Treatment of Type 2 Diabetes* // *Prot. Science* – 2005, – 14, – P.1760–1771.
185. DeFossa, E., Kadereit, D., Klabunde, T., Burger, H.-J., Herling, A., Wendt, K.-U., Von Roedern, E., Schoenafinger, K., *Urea- and Urethane-Substituted Acylureas, Process for Their Preparation and Their Use* Pat. USA 8247452 B2, 2012.
186. *N-ацилуреїдокалікс[4]арени* : пат. 112222 Україна : C07C 313/34 / Р. В. Родік, В. І. Бойко, Ю. І. Матвєєв, В. І. Кальченко. — № и 2016 05511 ; заявл. 23.05.2016 ; опубл. 12.12.2016 , Бюл. № 23. — 7 с.
187. *Гіпоглікемічна активність n-ацилуреїдокалікс[4]аренів* : пат. 112223 Україна : C07C 313/34 / О. К. Ярош, Р. В. Родік, О. М. Денисенко, А. І. Соловйов, В. І. Кальченко. — № и 2016 05512 ; заявл. 23.05.2016 ; опубл. 12.12.2016 , Бюл. № 23. — 10 с.
188. Vavra JJ, Deboer C, Dietz A, Hanka LJ, Sokolski WT (1959). "Streptozotocin, a new antibacterial antibiotic". *Antibiot Annu.* 7: 230–5.
189. Rakieten, N. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917) / N. Rakieten, M.L. Rakieten, M.V. Nadkarni // *Cancer Chemother Rep.* – 1963. – V. 29. – P. 91–98.
190. Light and electron microscopy of lesions in rats rendered diabetic with streptozotocin / R.N. Arison [et al.] // *Diabetes.* – 1967. – V. 16. – P. 51–56.
191. Rerup C.C. Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells / C.C. Rerup // *Pharmacol Rev.* – 1970. – V. 22. – P. 485–518.
192. Rossini, A. A.; Like, A. A. A; Chick, W. L.; Appel, M. C.; Cahill Jr, G. F. (1977). "[Studies of streptozotocin-induced insulinitis and diabetes](#)". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 74 (6): 2485–2489.

193. Costa, Michael; Bernardi, Jamile; Fiuza, Tiago; Costa, Lidiane; Brandão, Ricardo; Pereira, Maria E. (2016-06-25). "[N-acetylcysteine protects memory decline induced by streptozotocin in mice](#)". *Chemico-Biological Interactions*. **253**: 10–17.
194. Brentjens R, Saltz L (2001). "Islet cell tumors of the pancreas: the medical oncologist's perspective". *Surg Clin North Am*. **81** (3): 527–42.
195. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin / M. Elsner [et al.] // *Diabetologia*. – 2000. – V. 43. – P. 1528– 1533.
196. Cloning and functional expression in bacteria of a novel glucose transporter present in liver, intestine, kidney, and betapancreatic islet cells / B. Thorens [et al.] // *Cell*. – 1988. – V. 55. – P. 281–290.
197. Bennett, R.A. Alkylation of DNA in rat tissues following administration of streptozotocin / R.A. Bennett, A.E. Pegg // *Cancer Res*. – 1981. – V. 41. – P. 2786–2790.
198. Treatment of cultured pancreatic B-cells with streptozotocin induces cell death by apoptosis / N.G. Morgan [et al.] // *Biosci Rep*. – 1994. – V. 14. – P. 243–250.
199. Mice lacking the poly(ADP-ribose) polymerase gene are resistant to pancreatic beta-cell destruction and diabetes development induced by streptozocin / V. Burkart [et al.] // *Nat Med*. – 1999. – V. 5. – P. 314–319.
200. Allopurinol protects pancreatic beta cells from the cytotoxic effect of streptozotocin: in vitro study / M. Nukatsuka [et. al] // *J Pharmacobiodyn*. – 1990. – V. 13. – P. 259–262.
201. Site-specific DNA methylation and apoptosis: induction by diabetogenic streptozotocin / M. Murata [et al.] // *Biochem Pharmacol*. – 1999. – V. 57. – P. 881–887.
202. Comparison of inhibition of glucose-stimulated insulin secretion in rat islets of Langerhans by streptozotocin and methyl and ethyl nitrosoureas and methanesulphonates. Lack of correlation with nitric oxide-releasing or O⁶-alkylating ability / C.A. Burkart [et al.] // *Biochem Pharmacol*. – 1995. – V. 50. – P. 2015–2020.

203. Lenzen, S. Glucokinase in pancreatic B-cells and its inhibition by alloxan / S. Lenzen, M. Tiedge, U. Panten // *Acta Endocrinol.* – 1987. – V. 115. – P. 21–29.
204. Functional characteristics of cultured mouse pancreatic islets following exposure to different streptozotocin concentrations / E. Strandell [et al.] // *Mol Cell Endocrinol.* – 1988. – V. 59. – P. 83–91.
205. Exposure of pancreatic islets to different alkylating agents decreases mitochondrial DNA content but only streptozotocin induces longlasting functional impairment of B-cells / D.L. Eizirik [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 1991. – V. 42. – P. 2275–2282.
206. Rasschaert, J. Long term in vitro effects of streptozotocin, interleukin-1, and high glucose concentration on the activity of mitochondrial dehydrogenases and the secretion of insulin in pancreatic islets / J. Rasschaert, D.L. Eizirik, W.J. Malaisse // *Endocrinology.* - 1992. V. 130. P. 3522– 3528.
207. Hu, X., Shi, H., Shi, X., Zhu, Z., Sun, Q., Li, Y., Yang, H. // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* – 2005. – Vol. 78. – P. 138–141.
208. Hu, X., Zhu, Z., Shen, T., Shi, X., Ren, J., Sun, Q. // *Can. J. Chem.* – 2004. – Vol. 82. – P. 1266-1270.
209. [Pandemic H1N1 \(pH1N1\) Influenza Vaccine Quick Reference Guide Archived](#) 2010-10-11 at the [Wayback Machine](#) *Winnipeg Regional Health Authority* 2009.
210. ["Vaccine Excipient & Media Summary"](#) (PDF). *Centers for Disease Control and Prevention.* June 2018.
211. ["Janssen Standing Orders for Covid-19"](#) (PDF).
212. Goff, H. Douglas (1997). "Colloidal aspects of ice cream—A review". *International Dairy Journal.* **7** (6–7): 363–373.