

© Коллектив авторов, 2005

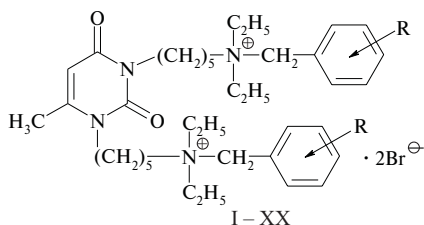
В. В. Зобов, К. А. Петров, А. А. Аслямова, Л. А. Березинский, В. С. Резник, В. Д. Акамсин, И. В. Галяметдинова, Р. Х. Гиниятуллин

СИНТЕЗ И МИОРЕЛАКСАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ 1,3-БИС-(5-АММОНИОПЕНТИЛ)-6-МЕТИЛУРАЦИЛДИГАЛОГЕНИДОВ

Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова
Казанского научного центра Российской академии наук, Казань

Ряд представителей 1,3-бис(5-аммониопентил)-6-метилурацилдигалогенидов с антихолинэстеразным типом действия высокотоксичны относительно мышей и мало/практически нетоксичны относительно дафний. В условиях функциональной нагрузки (тест “бег на третбане”; мыши, в/б) вещества с малыми по объему электронно-акцепторными заместителями (F, NO₂, CN, CH₂OCH₃, C(O)OCH₃ и др.) в бензильном радикале при четвертичных атомах азота более эффективны и безопасны, чем прозерин и BW284c51: (а) вызывают развитие выраженного миорелаксанта эффекта продолжительностью не менее 1 суток (ЭД₅₀ = 0,04 – 0,09 мкМ/кг); (б) ЛД₅₀/ЭД₅₀ до 56,25.

Нами показано наличие высокой миорелаксанта активности у ряда “нелинейных” 1,3-бис(5-аммониопентил)-6-метилурацилдигалогенидов [1]. В продолжение исследований были синтезированы соединения I – XX.



R = *o*-F (I), *o*-Br (II), *m*-Br (III), *p*-Br (IV), *o*-I (V), *m*-NO₂ (VI), *p*-NO₂ (VII), *m*-CN (VIII), *o*-NCS (IX), *o*-CH₂OCH₃ (X), *o*-C(O)OCH₃ (XI), *p*-SO₂F (XII), 3,4-ди-Cl (XIII*), *o*, *p*-ди-NO₂ (XIV), *o*-NO₂, *p*-CH₃ (XV), *o*-NO₂, *p*-OCH₃ (XVI), 3,4-(OCH₂O-) (XVII*), 2,3-ди-CH₃O (XVIII), 3,4-ди-CH₃O (XIX), 3,4-(OCH₂O-) (XX*)

* — Анион Cl⁻

Химические названия изученных соединений:

- 1,3-бис[5-(диэтил-*o*-фторбензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (I),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*o*-бромбензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (II),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*m*-бромбензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (III),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*p*-бромбензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (IV),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*o*-иодбензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (V),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*m*-нитробензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (VI),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*p*-нитробензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (VII),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*m*-цианбензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (VIII),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*o*-изотиоцианатобензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (IX),

- 1,3-бис[5-(диэтил-*o*-метоксиметилбензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдихлорид (X),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*o*-карбметоксибензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (XI),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*p*-фторсульфонилбензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (XII),
- 1,3-бис[5-(диэтил-3,4-дихлорбензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдихлорид (XIII),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*o,p*-динитробензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (XIV),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитро-*p*-метилбензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (XV),
- 1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитро-*p*-метоксибензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (XVI),
- 1,3-бис[5-(диэтил-3,4-метилendioксибензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдихлорид (XVII),
- 1,3-бис[5-(диэтил-2,3-диметоксибензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (XVIII),
- 1,3-бис[5-(диэтил-3,4-диметоксибензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдибромид (XIX),
- 1,3-бис[5-(диэтил-3,4-метилendioкси-6-нитро-бензиламмоний)пентил]-6-метилурацилдихлорид (XX).

Экспериментальная химическая часть

Соединения I – XX были получены взаимодействием 1,3-бис[5-(диэтиламино)пентил]-6-метилурацила с соответствующими замещенными бензилгалогенидами в абсолютном ацетонитриле при температуре 20 – 80 °С по ранее описанным методикам [2]. Состав соединений I – XX подтвержден данными элементного анализа. Их физико-химические характеристики приведены в табл. 1.

Методы исследования

Острую токсичность соединений при их внутривенном введении определяли на нелинейных белых мышцах обоего пола массой 19 ± 2 г, а также на ла-

Таблица 1
Физико-химические характеристики замещенных 1,3-бис(5-амминопентил)-6-метилурацилдибромидов

Соединение	Тпл., °С (с разлож.)	Выход, %	Брутто-формула
I	> 72	96	C ₃₇ H ₅₆ Br ₂ N ₄ O ₂
II	Аморфная масса	60	C ₃₇ H ₅₆ Br ₄ N ₄ O ₂
III	71 – 73	97	C ₃₇ H ₅₆ Br ₄ N ₄ O ₂
IV	93 – 95	92	C ₃₇ H ₅₆ Br ₄ N ₄ O ₂
V	> 64	97	C ₃₇ H ₅₆ Br ₂ I ₂ N ₄ O ₂
VI	78 – 80	98	C ₃₇ H ₅₆ Br ₂ N ₆ O ₆
VII	68 – 70	63	C ₃₇ H ₅₆ Br ₂ N ₆ O ₆
VIII	> 62	89	C ₃₉ H ₅₆ Br ₂ N ₆ O ₂
IX	> 66	81	C ₃₉ H ₅₆ Br ₂ N ₆ O ₂ S ₂
X*	> 71	96	C ₄₁ H ₆₆ Cl ₂ N ₄ O ₄
XI	> 66	77	C ₄₁ H ₆₆ Br ₂ N ₄ O ₆
XII	> 73	83	C ₃₇ H ₅₆ Br ₂ F ₂ N ₄ O ₂
XIII*	> 73	85	C ₃₇ H ₅₄ Cl ₆ N ₄ O ₂
XIV	> 65	16	C ₃₇ H ₅₄ Br ₂ N ₈ O ₁₀
XV	> 76	83	C ₃₉ H ₆₀ Br ₂ N ₆ O ₆
XVI	> 125	97	C ₃₉ H ₆₀ Br ₂ N ₆ O ₈
XVII*	> 67	44	C ₃₉ H ₅₈ Cl ₂ N ₄ O ₆
XVIII	83 – 87	72	C ₄₁ H ₆₆ Br ₂ N ₄ O ₆
XIX	72 – 76	87	C ₄₁ H ₆₆ Br ₂ N ₄ O ₆
XX*	> 69	41	C ₃₉ H ₅₆ Cl ₂ N ₆ O ₁₀

* — Дихлорид

бораторной культуре дафний *Daphnia magna* в возрасте 18 ± 6 ч (по 30 дафний на каждую концентрацию; n = 90). Чувствительность культуры дафний, тестиру-

ванная по величине ЛК₅₀^{24ч} К₂Cr₂O₇, находилась в пределах нормы (1,6 мг/л) [3]. Для установления ЛД₅₀ каждое соединение вводили 4 группам мышей (по 6 мышей на каждую дозу; n = 24).

В качестве показателей миорелаксантами активности были избраны среднеэффективные (ЭД₅₀) дозы в тестах “вращающийся стержень” [4] и “бег на тротуаре” (Treadmill, Nihon Kohden STS-7500A/CC-730DA, Япония; 1 км/ч) [5]. Препаратами сравнения служили прозерина метилсульфат и BW284c51 (избирательный ингибитор ацетилхолинэстеразы; Sigma), выбор которых был обусловлен наличием у всех новых соединений ярко выраженной симптоматики антихолинэстеразного действия, усугубляющейся в условиях функциональной нагрузки вплоть до последующей миорелаксации конечностей [6, 7]. Соединения и препараты сравнения вводили за 5 мин до начала выполнения физической нагрузки. Контрольным мышам вводили физиологический раствор. Критериями миорелаксантами эффективности соединений служили неспособность мышей удерживаться на стержне (диаметр 2 см), вращающемся со скоростью 6 об./мин., в течение 15 мин или выполнять пробежку на тротуаре в течение 30 мин. Для определения величин ЭД₅₀ каждое соединение вводили 4 группам предварительно тренированных мышей (22,0 ± 2,0 г; по 8 мышей на каждую дозу; n = 32). В качестве критерия “фармакологической безопасности” соединений использовался параметр “широты терапевтического действия” (ЛД₅₀/ЭД₅₀).

Миорелаксантами активность и острая токсичность соединений I – XX на мышях

Таблица 2

Соединение	ЛД ₅₀ , мкМ/кг, в/б	Миорелаксантами активность, ЭД ₅₀ , мкМ/кг, в/б		Широта терапевтического действия (ЛД ₅₀ /ЭД ₅₀)	
		тест “бег на тротуаре”	тест “вращающийся стержень”	тест “бег на тротуаре”	тест “вращающийся стержень”
I	1,87 (1,61 ÷ 2,16)	0,06* [#] (0,05 ÷ 0,07)	0,09* [#] (0,07 ÷ 0,10)	31,16* [#] (23,00 ÷ 37,00)	20,78* [#] (15,09 ÷ 26,47)
II	1,08 [#] (0,94 ÷ 1,24)	0,11* [#] (0,09 ÷ 0,12)	0,11* [#] (0,09 ÷ 0,13)	9,82* (7,52 ÷ 12,12)	9,82 (7,81 ÷ 12,19)
III	2,70* (2,39 ÷ 3,05)	0,32 (0,28 ÷ 0,37)	0,43 [#] (0,38 ÷ 0,49)	8,44* (6,92 ÷ 9,96)	6,28 (5,08 ÷ 7,48)
IV	2,16 (1,85 ÷ 2,53)	0,54 [#] (0,47 ÷ 0,63)	1,08* [#] (0,92 ÷ 1,27)	4,00 [#] (3,07 ÷ 4,93)	2,00* [#] (1,50 ÷ 2,50)
V	1,96 (1,71 ÷ 2,25)	0,18* (0,15 ÷ 0,20)	0,20 (0,17 ÷ 0,23)	10,89* (8,67 ÷ 13,55)	9,80 (7,81 ÷ 12,19)
VI	1,75 (1,48 ÷ 2,06)	0,06* [#] (0,05 ÷ 0,07)	0,08* [#] (0,07 ÷ 0,10)	29,17* [#] (21,95 ÷ 36,40)	21,88* [#] (15,10 ÷ 28,66)
VII	1,75 (1,52 ÷ 2,01)	0,58 [#] (0,50 ÷ 0,68)	0,87* [#] (0,75 ÷ 1,01)	3,02 [#] (2,33 ÷ 3,71)	2,01* [#] (1,57 ÷ 2,45)
VIII	2,25 (1,88 ÷ 2,70)	0,04* [#] (0,03 ÷ 0,04)	0,06* [#] (0,05 ÷ 0,08)	56,25* [#] (38,24 ÷ 74,26)	37,50* [#] (27,74 ÷ 47,26)
IX	3,40* (2,86 ÷ 4,05)	0,68* [#] (0,58 ÷ 0,80)	0,85* [#] (0,71 ÷ 1,02)	5,00 (3,69 ÷ 6,31)	4,00 [#] (2,90 ÷ 5,10)
X ^a	1,17 [#] (1,00 ÷ 1,37)	0,05* [#] (0,04 ÷ 0,06)	0,05* [#] (0,04 ÷ 0,06)	23,40* (17,24 ÷ 29,56)	23,40* [#] (17,24 ÷ 29,56)
XI	1,70 (1,46 ÷ 1,97)	0,08* [#] (0,07 ÷ 0,10)	0,08* [#] (0,07 ÷ 0,09)	21,25* (16,96 ÷ 25,54)	21,25* [#] (16,96 ÷ 25,54)
XII	3,22* (2,80 ÷ 3,70)	1,29* [#] (1,10 ÷ 1,51)	1,61* [#] (1,39 ÷ 1,87)	2,50 [#] (1,93 ÷ 3,07)	2,00* [#] (1,56 ÷ 2,44)
XIII ^a	3,67* [#] (3,13 ÷ 4,29)	0,37 (0,31 ÷ 0,43)	0,61* [#] (0,52 ÷ 0,72)	9,92* (7,52 ÷ 12,48)	6,02 (4,53 ÷ 7,51)
XIV	7,91* [#] (6,94 ÷ 9,02)	0,24 (0,21 ÷ 0,28)	0,26 (0,23 ÷ 0,30)	32,96* [#] (25,92 ÷ 39,30)	30,42* [#] (24,08 ÷ 36,76)
XV	1,69 (1,43 ÷ 2,00)	0,28 (0,24 ÷ 0,34)	0,56* [#] (0,47 ÷ 0,67)	6,04 (4,39 ÷ 7,61)	3,02 [#] (2,22 ÷ 3,82)
XVI	1,09 [#] (0,95 ÷ 1,25)	0,16* (0,14 ÷ 0,19)	0,16* (0,14 ÷ 0,19)	6,81 (5,19 ÷ 8,43)	6,81 (5,19 ÷ 8,43)
XVII ^a	1,04 [#] (0,91 ÷ 1,19)	0,07* [#] (0,06 ÷ 0,08)	0,07* [#] (0,06 ÷ 0,07)	14,86* (11,84 ÷ 17,88)	14,86* (11,84 ÷ 17,88)
XVIII	0,84* [#] (0,70 ÷ 1,01)	0,07* [#] (0,06 ÷ 0,08)	0,11* [#] (0,09 ÷ 0,14)	12,00* (9,03 ÷ 14,97)	7,64 (5,56 ÷ 9,72)
XIX	2,25 (1,89 ÷ 2,68)	0,05* [#] (0,04 ÷ 0,05)	0,06* [#] (0,05 ÷ 0,07)	45,00* [#] (32,55 ÷ 57,45)	37,50* [#] (27,99 ÷ 47,01)
XX ^a	1,52 (1,31 ÷ 1,76)	0,04* [#] (0,03 ÷ 0,04)	0,05* [#] (0,04 ÷ 0,05)	38,33* [#] (30,90 ÷ 48,77)	30,40* [#] (22,65 ÷ 38,15)
Прозерин	1,53 (1,34 ÷ 1,74)	0,39 [#] (0,34 ÷ 0,45)	0,30 (0,26 ÷ 0,34)	3,92 [#] (3,11 ÷ 4,73)	5,10 (4,05 ÷ 6,15)
BW284c51	2,12 (1,86 ÷ 2,42)	0,21* (0,18 ÷ 0,24)	0,25 (0,22 ÷ 0,29)	10,10* (8,07 ÷ 12,13)	8,48 (6,67 ÷ 10,29)

Примечание: * — различия статистически значимы (p < 0,05) по отношению к прозерину, [#] BW284c51; ^a — Анион Cl⁻

Токсичность соединений II, V, IX, X, XII, XVII, XX на *Daphnia magna*

Соединение	Токсичность, ЛК ₅₀ ^{48 ч} (мкМ/л)
II	19,40* [#] (16,30 ÷ 23,08)
V	22,60* [#] (19,31 ÷ 26,44)
IX	113,40* (96,92 ÷ 132,68)
X ^a	111,38* (92,82 ÷ 133,66)
XII	49,40* [#] (41,86 ÷ 58,29)
XVII ^a	117,30* (103,81 ÷ 132,55)
XX ^a	23,92* [#] (20,45 ÷ 27,99)
Прозерин	2,70 [#] (2,21 ÷ 3,29)
BW284c51	100,56* (82,43 ÷ 122,68)

Примечание: * различия статистически значимы ($p < 0,05$) по отношению к прозерину, [#] BW284c51; ^a — Анион Cl⁻.

Обработку результатов исследования проводили методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента, а также с помощью программы ToxCalc™ v.5.0.23F (Tidepool Scientific Software; USA).

Результаты и их обсуждение

Соединения I – XX по данным опытов на мышах в (табл. 2) могут быть отнесены к высокотоксичным [8]. На дафниях (табл. 3) соединения II, V, IX, X, XII, XVII, XX — малотоксичны [9]. В общей картине действия соединений I – XX в среднееффективных дозах у мышей и кроликов доминирует холиномиметическое гипервозбуждение с последующей выраженной миорелаксацией конечностей в процессе и после совершения тестовой пробежки на тротуаре.

Установлено, что заместители в бензильном радикале оказывают существенное влияние на миорелаксантную активность и “широту терапевтического действия” соединений. Наибольшую миорелаксантную активность и “широту терапевтического действия” проявляют орто- и мета-замещенные соединения I, VI, VIII, X, XI, а также дизамещенные соединения XIX, XX и соединение XIV. Пара-изомеры (соединения IV, VII, XII), а также соединения, содержащие такие наборы заместителей как орто-нитро-, пара-метил- (соединение XV) и орто-нитро-, пара-метокси- (соединение XVI), имеют низкую миорелаксантную активность и малую “широту терапевтического действия”.

Характер изменения активности и широты действия соединений в ряду орто-, мета- и пара-изомеров сохраняется независимо от электронных эффектов вводимого заместителя. Так, при введении в бензильный радикал метильной группы или нитро-группы получают соединения с одинаковым характером изменения биологической активности при переходах от орто- к мета- и пара-изомерам [1].

По “широте терапевтического действия” соединения I, VI, VIII, X, XI, XIV, XVII, XIX, XX достоверно превосходят прозерин; по уровню ЛК₅₀ на дафниях соединения II, V, IX, X, XII, XVII, XX превосходят свои фосфорилированные аналоги на 4 – 5 порядков [10]. Примечательно, что на дафниях высокий уровень “экологической безопасности” (т.е. значения ЛК₅₀ > 10,0 мкМ/л) характерен как для соединений с высокими (соединения X, XVII), так и с низкими (соединения II, V, IX, XII) показателями “фармакологической безопасности” (ЛД₅₀/ЭД₅₀).

Работа поддержана грантом РФФИ (регион) № 03-04-96215, грантом НИОКР АН РТ 03-3.8-209 и грантом Президента РФ “Ведущая научная школа” НШ-1063.2003.4.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Зобов, К. А. Петров, А. А. Аслямова, и др., *Современные проблемы токсикологии* (Киев), № 3, 25 – 33 (2004).
2. В. В. Зобов, А. А. Аслямова, Л. А. Березинский и др., *Хим.-фарм. журн.*, **38**(10), 64 – 67 (2004).
3. Г. С. Фомин, *Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам*, 2-е изд., Протектор, Москва (1995), сс. 410 – 458.
4. V. J. Jones and D. J. Roberts, *J. Pharm. Pharmacol.*, **20**, 302 – 304 (1968).
5. Ю. Г. Бобков, В. М. Виноградов, В. В. Катков и др., *Фармакологическая коррекция утомления*, Москва, Медицина (1984).
6. В. Б. Прозоровский, Н. В. Саватеев, *Неантихолинэстеразные механизмы действия антихолинэстеразных средств*, Медицина, Ленинград (1976), сс. 62 – 80.
7. F. Hobbiger, *Handbook of Exp. Pharmacol.*, E. Zaimis (ed.), Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, v. 42, ch. 4C, 487 – 581 (1976).
8. И. В. Саноцкий, И. П. Уланова, *Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений*, Медицина, Москва (1975), сс. 55 – 59.
9. *Сборник нормативно-методических документов по обращению с отходами производства и потребления. Приложение 1*, Логус, Москва (1996), сс. 67 – 68.
10. В. В. Зобов, Л. А. Березинский, В. С. Резник, В. Д. Акамин, *Хим.-фарм. журн.*, **36**(11), 21 – 22 (2002).

Поступила 27.07.04

SYNTHESIS AND MIORELAXANT ACTIVITY OF 1,3-BIS-(5-AMMONIOPENTYL)-6-METHYLURACILDIDHALOGENIDES

V. V. Zobov, K. A. Petrov, A. A. Aslamova, L. A. Beresinsky, V. S. Reznik, V. D. Akamsin, I. V. Galyametdinova, R. H. Giniyatullin

A. E. Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, Russian Academy of Sciences, Kazan, Russian Federation

A number of 1,3-Bis(ω-ammoniopentyl)-6-methyluracildidhalogenides with the anticholinesterase type of activity appeared “high-toxic” (mice) and “slight toxic/practically non-toxic” (daphnia). In conditions of functional exertion (“treadmill running test”; mice, i/p) the compounds with small volumed electron-acceptor substitutes (F, NO₂, CN, CH₂OCH₃, C(O)OCH₃ etc.) in benzyl radical at the quaternary nitrogen atoms are more effective and safe than proserinum and BW284c51: (a) they induce the development of clearly defined miorelaxant effect with the duration of no less than 1 day (ED₅₀ = 0.04 – 0.09 μM/kg), (b) LD₅₀/ED₅₀ is less than 56.25.