

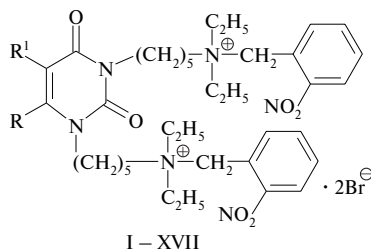
В. В. Зобов, К. А. Петров, А. А. Аслямова, Л. А. Березинский,  
В. С. Резник, В. Д. Акамсин, И. В. Галяметдинова, Р. Х. Гиниятуллин

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

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

Ряд представителей 1,3-бис[5-(аммонио)пентил]урацилдибромидов с антихолинэстеразным типом действия высоко/умеренно-токсичны относительно мышей и мало/практически нетоксичны относительно дафний. В условиях функциональной нагрузки (тест «бег на третбане»; мыши, в/б) вещества с малыми по объему заместителями (H, F, Br, CH<sub>3</sub>, CN, NO<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>O группы) в положениях 5 и 6 урацилового цикла более эффективны и безопасны, чем прозерин и BW284c51: (а) вызывают развитие выраженного миорелаксанта эффекта продолжительностью не менее 1 суток (ЭД<sub>50</sub> = 0,03 – 0,11 мкМ/кг); (б) ЛД<sub>50</sub>/ЭД<sub>50</sub> до 76,67. По мере увеличения длины алифатического радикала в положении 5 урацилового цикла отмечен градуальный рост токсичности веществ относительно дафний, при снижении токсичности относительно мышей.

Ранее нами было показано, что ω-аммониопентилурацилдибромиды, содержащие орто-нитрогруппу в бензильных радикалах при четвертичных атомах азота, проявляют высокую миорелаксантную активность [1]. Для установления влияния заместителей в урациловом цикле 1,3-бис[5-(аммонио)пентил]урацилдибромидов на их биологическую активность были получены соединения I – XVII.



R = H (I-VI), CH<sub>3</sub> (VII-XIV), CH<sub>3</sub>O (XV), CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub> (XVI), C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (XVII).  
R<sup>1</sup> = H (I, XV, XVII), F (II), CH<sub>3</sub> (III), CH<sub>3</sub>O (IV, XVI), NO<sub>2</sub> (V, IX), CN (VI, VIII), Br (VII), (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NSO<sub>2</sub> (X), C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub> (XI), *n*-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub> (XII), *n*-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub> (XIII), *n*-C<sub>16</sub>H<sub>33</sub> (XIV).

Химические названия синтезированных и изученных соединений:

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]урацилдибромид (I),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-фторурацилдибромид (II),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-метилурацилдибромид (III),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-метоксиурацилдибромид (IV),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-нитроурацилдибромид (V),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-цианурацилдибромид (VI),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-бром-6-метилурацилдибромид (VII),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-циан-6-метилурацилдибромид (VIII),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-нитро-6-метилурацилдибромид (IX),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-диметиламидосульфони-6-метилурацилдибромид (X),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-бензил-6-метилурацилдибромид (XI),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-бутил-6-метилурацилдибромид (XII),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-децил-6-метилурацилдибромид (XIII),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-цетил-6-метилурацилдибромид (XIV),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-6-метоксиурацилдибромид (XV),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-5-метокси-6-метоксиметилурацилдибромид (XVI),

1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]-6-фенилурацилдибромид (XVII).

Таблица 1  
Физико-химические характеристики замещенных 1,3-бис[5-(диэтил-*o*-нитробензиламмоний)пентил]урацилдибромидов

Соединение	Тпл., °С (с разлож.)	Выход, %	Брутто-формула
I	> 71	78	C <sub>36</sub> H <sub>54</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>
II	> 65	65	C <sub>36</sub> H <sub>53</sub> Br <sub>2</sub> FN <sub>6</sub> O <sub>6</sub>
III	> 82	83	C <sub>37</sub> H <sub>56</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>
IV	> 62	93	C <sub>37</sub> H <sub>56</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>7</sub>
V	> 70	59	C <sub>36</sub> H <sub>53</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>7</sub> O <sub>8</sub>
VI	> 62	87	C <sub>37</sub> H <sub>53</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>7</sub> O <sub>6</sub>
VII	> 63	91	C <sub>37</sub> H <sub>55</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>
VIII	> 64	64	C <sub>38</sub> H <sub>55</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>7</sub> O <sub>6</sub>
IX	> 75	67	C <sub>37</sub> H <sub>55</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>7</sub> O <sub>8</sub>
X	> 69	99	C <sub>39</sub> H <sub>61</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>7</sub> SO <sub>8</sub>
XI	> 68	66	C <sub>44</sub> H <sub>62</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>
XII	62 – 63	73	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>
XIII	> 57	68	C <sub>53</sub> H <sub>88</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>
XIV	> 63	83	C <sub>41</sub> H <sub>64</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>
XV	> 74	66	C <sub>37</sub> H <sub>56</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>7</sub>
XVI	> 73	91	C <sub>39</sub> H <sub>60</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>8</sub>
XVII	> 74	39	C <sub>42</sub> H <sub>58</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>

### Экспериментальная химическая часть

Соединения I – XVII были синтезированы взаимодействием *o*-нитробензилбромида с соответствующими 1,3-бис[5-(диэтиламино)пентил]урацилами, имеющими заместители в урациловом цикле, по описанным ранее методикам [2]. Физико-химические характеристики новых соединений приведены в табл. 1. Их состав подтвержден данными элементного анализа.

### Экспериментальная биологическая часть

Острую токсичность соединений при их внутрибрюшинном введении определяли на нелинейных белых мышах обоего пола массой  $19 \pm 2$  г, а также на лабораторной культуре дафний *Daphnia magna* в возрасте  $18 \pm 6$  ч (по 30 дафний на каждую концентрацию;  $n = 90$ ). Чувствительность культуры дафний, тестируемая по величине ЛК<sub>50</sub><sup>24 ч</sup> К<sub>2</sub>Сг<sub>2</sub>О<sub>7</sub>, находилась в пределах нормы (1,8 мг/л) [3].

В качестве показателей миорелаксантной активности были избраны среднеэффективные (ЭД<sub>50</sub>) 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 выраженного антихолинэстеразного действия, усугубляющегося в условиях функциональной нагрузки вплоть до последующей миорелаксации конечностей [6, 7].

Исследованные соединения и препараты сравнения вводили за 5 мин до начала выполнения физической нагрузки. Контрольным мышам вводили физиологический раствор. Критериями миорелаксантной эффективности соединений служили неспособность мышей (1) удерживаться на стержне (диаметр 2 см), вращающемся со скоростью 6 об/мин., в течение 15 мин; (2) выполнять побег на тротуаре в течение 30 мин. Для установления ЭД<sub>50</sub> каждое соединение вводили 4 группам предварительно тренированных мышей

Таблица 2

### Острая токсичность и миорелаксантная активность соединений I – XVII на мышах

Соединение	ЛД <sub>50</sub> , мкМ/кг, в/б	Миорелаксантная активность, ЭД <sub>50</sub> , мкМ/кг, в/б		Широта терапевтического действия (ЛД <sub>50</sub> /ЭД <sub>50</sub> )	
		тест “бег на тротуаре”	тест “вращающийся стержень”	тест “бег на тротуаре”	тест “вращающийся стержень”
I	1,90 (1,63 ÷ 2,20)	0,04* <sup>#</sup> (0,03 ÷ 0,05)	0,04* <sup>#</sup> (0,03 ÷ 0,05)	47,50* <sup>#</sup> (37,51 ÷ 59,46)	47,50* <sup>#</sup> (33,45 ÷ 61,55)
II	1,74 (1,50 ÷ 2,02)	0,03* <sup>#</sup> (0,02 ÷ 0,04)	0,05* <sup>#</sup> (0,04 ÷ 0,06)	58,00* <sup>#</sup> (44,16 ÷ 75,84)	34,80* <sup>#</sup> (25,87 ÷ 43,73)
III	2,33 (2,03 ÷ 2,68)	0,06* <sup>#</sup> (0,05 ÷ 0,07)	0,08* <sup>#</sup> (0,07 ÷ 0,09)	38,83* <sup>#</sup> (30,12 ÷ 47,54)	29,13* <sup>#</sup> (23,44 ÷ 34,82)
IV	2,06 (1,81 ÷ 2,35)	0,03* <sup>#</sup> (0,02 ÷ 0,03)	0,03* <sup>#</sup> (0,03 ÷ 0,04)	68,67* <sup>#</sup> (57,23 ÷ 86,77)	68,67* <sup>#</sup> (59,00 ÷ 78,34)
V	2,81* (2,36 ÷ 3,35)	0,06* <sup>#</sup> (0,05 ÷ 0,07)	0,04* <sup>#</sup> (0,04 ÷ 0,05)	46,83* <sup>#</sup> (35,04 ÷ 58,62)	70,25* <sup>#</sup> (48,25 ÷ 92,25)
VI	2,30 (2,00 ÷ 2,65)	0,03* <sup>#</sup> (0,03 ÷ 0,04)	0,05* <sup>#</sup> (0,04 ÷ 0,05)	76,67* <sup>#</sup> (48,58 ÷ 104,76)	46,00* <sup>#</sup> (34,44 ÷ 57,56)
VII	2,13 (1,79 ÷ 2,54)	0,11* <sup>#</sup> (0,09 ÷ 0,13)	0,11* <sup>#</sup> (0,09 ÷ 0,13)	19,36* (14,77 ÷ 25,23)	19,36* (14,48 ÷ 25,52)
VIII	1,70 (1,50 ÷ 1,92)	0,05* <sup>#</sup> (0,04 ÷ 0,05)	0,06* <sup>#</sup> (0,05 ÷ 0,06)	34,00* <sup>#</sup> (30,34 ÷ 44,66)	28,33* <sup>#</sup> (22,35 ÷ 34,31)
IX	2,99* (2,47 ÷ 3,62)	0,06* <sup>#</sup> (0,05 ÷ 0,07)	0,11* <sup>#</sup> (0,09 ÷ 0,14)	49,83* <sup>#</sup> (35,51 ÷ 62,67)	27,18* <sup>#</sup> (18,79 ÷ 35,21)
X	1,35 (1,15 ÷ 1,58)	0,26 (0,22 ÷ 0,30)	0,26 (0,22 ÷ 0,31)	5,19 (3,99 ÷ 6,41)	5,19 (3,91 ÷ 6,49)
XI	1,06 <sup>#</sup> (0,88 ÷ 1,27)	0,79* <sup>#</sup> (0,65 ÷ 0,96)	0,79* <sup>#</sup> (0,65 ÷ 0,96)	1,34* <sup>#</sup> (0,95 ÷ 1,72)	1,34* <sup>#</sup> (0,95 ÷ 1,72)
XII	1,31 <sup>#</sup> (1,13 ÷ 1,52)	0,55* <sup>#</sup> (0,48 ÷ 0,63)	0,50* <sup>#</sup> (0,47 ÷ 0,64)	2,38 <sup>#</sup> (1,87 ÷ 2,93)	2,62* <sup>#</sup> (1,84 ÷ 2,96)
XIII	11,02* <sup>#</sup> (9,75 ÷ 12,45)	5,01* <sup>#</sup> (4,32 ÷ 5,81)	5,51* <sup>#</sup> (4,83 ÷ 6,28)	2,20 <sup>#</sup> (1,75 ÷ 2,65)	2,00* <sup>#</sup> (1,62 ÷ 2,38)
XIV	41,59* <sup>#</sup> (35,55 ÷ 48,66)	23,11* <sup>#</sup> (19,58 ÷ 27,26)	24,77* <sup>#</sup> (20,99 ÷ 29,23)	1,80* <sup>#</sup> (1,35 ÷ 2,25)	1,68* <sup>#</sup> (1,26 ÷ 2,09)
XV	0,80* <sup>#</sup> (0,67 ÷ 0,95)	0,05* <sup>#</sup> (0,04 ÷ 0,06)	0,07* <sup>#</sup> (0,06 ÷ 0,08)	16,00* <sup>#</sup> (12,67 ÷ 22,33)	11,43 (8,45 ÷ 14,89)
XVI	1,63 (1,38 ÷ 1,93)	0,08* <sup>#</sup> (0,06 ÷ 0,09)	0,07* <sup>#</sup> (0,05 ÷ 0,08)	20,38* (15,82 ÷ 27,04)	23,29* <sup>#</sup> (18,46 ÷ 31,54)
XVII	1,85 (1,61 ÷ 2,13)	0,13* (0,11 ÷ 0,15)	0,11* <sup>#</sup> (0,09 ÷ 0,13)	14,23* (10,95 ÷ 17,38)	16,82* (13,27 ÷ 20,73)
Прозерин	1,53 (1,34 ÷ 1,74)	0,39 <sup>#</sup> (0,34 ÷ 0,45)	0,30 (0,26 ÷ 0,34)	3,92 <sup>#</sup> (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)

Различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) по отношению к прозерину (\*), BW284c51 (#)

Таблица 3  
Токсичность соединений I, IV, VIII, XI – XVI на *Daphnia magna*

Соединение	Токсичность, ЛК <sub>50</sub> <sup>48 ч</sup> (мкМ/л)
I	79,70* (68,12 ÷ 93,25)
IV	79,51* (66,81 ÷ 94,61)
VIII	68,11* (60,27 ÷ 76,96)
XI	11,40*# (9,27 ÷ 14,02)
XII	7,80*# (6,39 ÷ 9,52)
XIII	4,00*# (3,42 ÷ 4,68)
XIV	2,50*# (2,14 ÷ 2,93)
XV	134,50*# (112,09 ÷ 161,40)
XVI	34,64*# (29,11 ÷ 41,22)
Прозерин	2,70*# (2,21 ÷ 3,29)
BW284c51	100,56* (82,43 ÷ 122,68)

(22,0 ± 2,0 г; по 8 мышей на каждую дозу; n = 32). В качестве критерия “фармакологической безопасности” соединений использовался параметр “широты терапевтического действия” (ЛД<sub>50</sub>/ЭД<sub>50</sub>).

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 – XVII по данным опытов на мышах (табл. 2) могут быть отнесены к высоко-/умеренно-токсичным [8]. На дафниях (табл. 3) соединения I, IV, VIII, XI, XV, XVI — малотоксичны или практически нетоксичны и соединения XII – XIV — умеренно токсичны (табл. 3) [9]. В общей картине действия среднееффективных доз соединений I – XVII 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 урациловом цикле оказывают существенное влияние на миорелаксационную активность и “широту терапевтического действия” соединений. Наибольшую активность, а также “широту терапевтического действия” проявляют соединения с малыми по объему заместителями (H, F, Br, CH<sub>3</sub>, CN, NO<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>O группы) в положениях 5 и 6 урацилового цикла (табл. 2; соединения I – IX, XV, XVI),

причем их электронное влияние на пиримидиновый цикл не играет определяющей роли.

Увеличение объема заместителей (соединения X, XI, XVII) или наличие длинных алифатических радикалов в положении 5 урацилового цикла (соединения XII – XIV) сопряжено со снижением миорелаксационной активности и “широты терапевтического действия”.

По “широте терапевтического действия” соединения I – IX, XVI, XVII достоверно превосходят прозерин; по уровню ЛК<sub>50</sub> на дафниях соединения I, IV, VIII, XI – XVI превосходят свои фосфорилированные аналоги на 3 – 5 порядков [10]. Примечательно, что на дафниях высокий уровень “экологической безопасности” (т.е. значения ЛК<sub>50</sub> > 10,0 мкМ/л) характерен, в основном, для соединений с высокими показателями “фармакологической безопасности” (соединения I, IV, VIII, XV, XVI).

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. Асламова и др., *Современные проблемы токсикологии (Киев)*, № 3, 25 – 33 (2004).
2. В. В. Зобов, А. А. Асламова, Л. А. Березинский и др., *Хим.-фарм. журн.*, **38**(10), 20 – 23 (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. В. 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. Акамсин, *Хим.-фарм. журн.*, **36**(11), 21 – 22 (2002).

Поступила 27.07.04

## SYNTHESIS AND MYORELAXANT ACTIVITY OF 1,3-BIS-(5-AMMONIOPENTYL)-6-METHYLURACIL DIBROMIDES

V. V. Zobov, K. A. Petrov, A. A. Aslamova, L. A. Berezinskii, V. S. Reznik, V. D. Akamsin, I. V. Galyametdinova, and R. Kh. Giniyatullin

Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, Russian Academy of Sciences, Kazan, Tatarstan, Russia

Some representatives of 1,3-bis-(5-ammoniopentyl)uracil dibromides with the anticholinesterase type of activity are classified as highly/moderately-toxic in mice and as slightly toxic/practically nontoxic in daphnia. Under the conditions of functional testing (treadmill running test in mice, i.p.) the compounds with less bulky substituents (H, F, Br, CH<sub>3</sub>, CN, NO<sub>2</sub>, and CH<sub>3</sub>O groups) at positions 5 and 6 of the uracil cycle are more effective and safe than proserin and BW284c51: (a) they induce the development of a clearly pronounced myorelaxant effect with lasting over not less than one day (ED 50 = 0.03 – 0.11 μM/kg), (b) the ratio LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub> is below 76.67. An increase in length of the aliphatic radical in position 5 of the uracil cycle leads to a gradual increase in the toxicity with respect to daphnia, while the toxicity with respect to mice exhibits a decrease.