

ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ФРАГМЕНТЫ МОРФОЛИНА, ПИПЕРАЗИНА И АДАМАНТАНА

Кожухарь В.Ю.¹, Кузнецов А.С.¹, Пулина Н.А.¹, Махмудов Р.Р.², Рубцов А.Е.²

¹ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь, Россия, e-mail: slavaperm@inbox.ru;

²ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, Россия

С учетом дозозависимых побочных эффектов известных анальгетических лекарственных препаратов и с целью поиска новых соединений с анальгетической активностью при низкой токсичности в ряду производных 4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых кислот осуществлена дециклизация 5-арил-3-арилимино-3Н-фуран-2-онов и 3-адамантаноилметиленигидразино-3Н-5-арилфуран-2-онов под действием NH-нуклеофилов. Синтезированы 9 новых N-замещенных амидов 2-амино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот, содержащих гетероциклические фрагменты морфолина и пиперазина, и ариламида 2-адамантаноилметиленигидразино-4-оксо-5-фенилбут-2-еновых кислот. Структура соединений доказана методами ИК-, ЯМР¹H-спектроскопии, масс-спектрометрии и элементным анализом. Анальгетическая активность синтезированных веществ изучена по методу оценки термической соматической боли – тесту горячей пластины на белых нелинейных мышах. Выявлена низкая острая токсичность полученных соединений. Обнаружены вещества, сопоставимые и превышающие активность препарата сравнения – метамизола натрия. Установлено, что в ряду производных, содержащих фрагмент пиперазина, наиболее активны вещества с электронодонорной группой в ариламинном заместителе, а в ряду соединений, содержащих морфолин, с электроноакцепторной группой в ариламинном фрагменте. У адамантиантаноидных соединений наиболее выраженным анальгетическим эффектом обладает 4-метоксифениламид 2-адамантаноилметиленигидразино-4-арил-4-оксобут-2-еновой кислоты.

Ключевые слова: анальгетическая активность, гетарилариламида 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот и 2-адамантаноилметиленигидразино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот.

RESEARCH OF ANALGESIC ACTIVITY OF NEW COMPOUNDS WITH MORPHOLINE, PIPERAZINE AND ADAMANTANE FRAGMENTS

Kozhukhar V.Y.¹, Kuznetsov A.S.¹, Pulina N.A.¹, Makhmudov R.R.², Rubtsov A.E.²

¹Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia, e-mail: slavaperm@inbox.ru

²Perm State National Research University, Perm, Russia

Considering the dose-related side effects of known analgesic drugs and to search for new compounds with analgesic activity and low toxicity in a number of derivatives of 4-aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoic acids decyclization of 5-aryl-3-arylimino-3H-furan-2-ones and 3-adamantane oil methylenehydrazine-3H-5-arylfuran-2-ones was carried out under the influence NH-nucleophiles. 9 synthesized new N-substituted 2-amino-4-aryl-4-oxobut-2-enoic acids containing heterocyclic fragments of morpholine, piperazine, and arylamides 2-adamantane oil methylenehydrazine-4-oxo-5-phenylbut-2-enoic acids. The structure of compounds was proved by IR, ¹H NMR spectroscopy, Mass spectrometry (MS) and Elemental analysis. Analgesic activity of the synthesized compounds was studied by the method of estimating the thermal somatic pain - hot plate test on white nonlinear mice. The study demonstrated low acute toxicity of the obtained compounds. During the experiment we found some substances with comparable and exceeding activity in comparison to the comparator drug – Metamizole. It has been established that in a number of derivatives having a piperazine fragment the most active compounds are with an electron donating portion in arylamine group and a series of compounds containing morpholine, with an electron-seeking group in the arylamine fragment. In adamantane-containing compounds, the most pronounced analgesic effect has 4-methoxyphenylamide of 2-adamantane methylenehydrazine-4-aryl-4-oxobut-2-enoic acid.

Keywords: analgesic activity, heterylamides of 4-aryl-2-aryl amino-4-oxobut-2-enoic acids and 2-adamantane methylenehydrazine-4-aryl-4-oxobut-2-enoic acids.

Нормальная боль является ключевым адаптивным ответом, который сигнализирует о фактической или надвигающейся опасности. С другой стороны, аномально длительная боль превращает эту адаптивную реакцию в изнурительные и часто плохо управляемые болезни

[9]. Хроническая боль является одной из самых сложных и трудно контролируемых проблем в клинической медицине, относится к широко распространенным заболеваниям, часто ассоциирующимся с сахарным диабетом, раком, травмами, воздействием токсичных веществ и т.д. [8]. Современные болеутоляющие (анальгезирующие) лекарственные препараты недостаточно эффективны и обладают дозозависимыми побочными эффектами, особенно при частом и длительном применении.

Согласно литературным данным, производные на основе N-замещенных 2-амино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот являются перспективными с точки зрения поиска веществ с анальгетической активностью [4,6,7]. Так, в работе [1] в результате биологических испытаний установлено, что введение в структуру амидов 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот фрагмента пиперазина обеспечивает проявление анальгетического действия выше препаратов сравнения. Кроме того, определенный интерес представляет химическая модификация соединений с включением фармакофорных фрагментов морфолина и адамантана с последующим фармакологическим скринингом полученных веществ.

Целью исследования является изучение анальгетической активности новых соединений в ряду производных N-замещенных амидов 2-ариламино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот, содержащих фрагменты морфолина и пиперазина, и ариламидов 2-адамантаноилметиленигидразино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот.

Материалы и методы

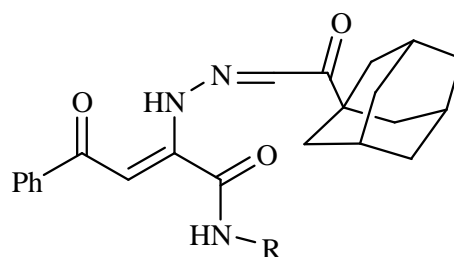
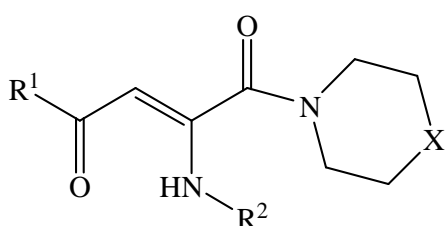
Структура новых соединений I–III доказана методами ИК-, ЯМР ¹H-спектроскопии и масс-спектрометрии, а также данными элементного анализа. ИК-спектры записаны на приборе ФСМ-1201 в виде пасты в вазелиновом масле. Спектры ЯМР¹-H записаны на приборе ЯМР BS-567A (100МГц), VarianMercuryplus (300 МГц), внутренний стандарт – ГМДС, растворитель ДМСО-d₆. Масс-спектры соединений сняты на хромато-масс-спектрометре Hewlett Packard 5973/6890. Химическую чистоту соединений и протекание реакции контролировали методом ТСХ на пластинках «Sorbfil» тип ПТСХ-АФ-УФ в системе эфир-бензол-ацетон, 10:9:1, пятна детектировали парами йода. Данные элементного анализа, полученные на приборе LECO–CNH(S)932, соответствуют вычисленным значениям.

Острую токсичность соединений Ib, IIb, IIIb изучали на белых нелинейных мышах (самцах) массой 18–22 г с определением LD₅₀. Каждое соединение испытывали на 6 животных. Соединения вводили внутривентриально в виде взвеси в 2 % крахмальном растворе из расчета 0,1 мл/10 г однократно, после чего животные находились под наблюдением в течение 14 дней. Контрольным животным вводили эквивалентное количество 2 % крахмального раствора [3].

Анальгетическую активность соединений I–III определяли по методу оценки термической соматической боли – тесту горячей пластины на белых нелинейных мышах (самцах) массой 18-22 г [3]. Исследуемые вещества вводили внутривентриально в дозе 50 мг/кг в виде взвеси в 2 % крахмальном растворе до помещения животных на нагретую до 53,5 °С металлическую пластинку. Показателем изменения болевой чувствительности служила длительность пребывания животного на горячей пластине до появления поведенческого ответа на ноцицептивную стимуляцию (облизывания задних лап, прыжков, отдергивания задних лап), измеряемая в секундах. Эффект оценивали через 2 ч после введения соединений. Каждое соединение испытывали на 6 животных. Результаты оценивали по увеличению времени наступления оборонительного рефлекса по сравнению с исходными данными. Контрольной группе животных вводили 2 % крахмальный раствор, в качестве препаратов сравнения использовали коммерчески доступную субстанцию натриевой соли диклофенака Sigma® в дозе 10 мг/кг (ED₅₀) и коммерчески доступную субстанцию метамизола натрия ООО «Фармхимкомплект» в дозе 93 мг/кг (ED₅₀). Результаты фармакологических испытаний обработаны статистически с помощью программ Windows XP (Excel) с использованием t критерия Стьюдента и представлены в таблице.

Результаты исследования и их обсуждение

Объекты фармакологического скрининга – N-замещенные амиды 2-ариламино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот (Ia-d, IIa-c) синтезированы дециклизацией 5-арил-3-арилимино-3Н-фуран-2-онов под действием пиперазина и морфолина соответственно. Реакция протекает в среде безводного толуола при нагревании в течение 0,5–1 ч, давая продукты с хорошим выходом. Ранее аналогичный процесс раскрытия фуранового цикла был проведен на примере близких по структуре 5-арил-3-гетариламино(3-гидразоно)-3Н-фуран-2-онов [5]. Адамantanсодержащие производные получены первоначально реакцией диаза-Виттига с последующей циклизацией в соответствующие фуран-2-оны [7]. При их взаимодействии с ароматическими аминами в среде безводного толуола при нагревании реакционной смеси в течение 0,5 ч. образуются с хорошими выходами ариламины 2-адамantanоилметиленигидразино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот (IIIa,b). Строение производных I–III хорошо согласуется с характеристиками родственных соединений [5,6,7] и представлено ниже:



I: X=NH, R¹=C₆H₅, R²=4-ClC₆H₄ (a), 4-CH₃OC₆H₄ (b),
 R¹=4-ClC₆H₄, R²=3-NO₂C₆H₄ (c), R¹=2,4-CH₃OC₆H₃,
 R²=4-BrC₆H₄ (d).
 II: X=O, R¹=C₆H₅, R²=4-ClC₆H₄ (a), R²=3-NO₂C₆H₄
 (b), R¹=4-ClC₆H₄, R²=4-CH₃OC₆H₄ (c).

III: R= C₆H₅(a), 4-CH₃OC₆H₄(b).

Исследование острой токсичности производных Ib, IIb и IIIb показало, что LD₅₀ составляет 1350, 1500 и 1500 мг/кг, соответственно. Таким образом, данные вещества можно отнести к практически нетоксичным соединениям, и они имеют определенные преимущества по безопасности перед препаратом сравнения [2]. По-видимому, низкая токсичность объясняется их структурным сходством с естественными метаболитами организма.

Анальгетическая активность соединений I–III по тесту горячей пластины

| Соединение | Латентный период оборонительного рефлекса, с | Соединение | Латентный период оборонительного рефлекса, с |
|------------|--|--|--|
| Ia | 19,80±0,55 ^{***1} | IIc | 19,82±1,10 ^{***1} |
| Ib | 23,72±1,12 ^{***1*2} | IIIa | 21,40±0,88 ^{***1*2} |
| Ic | 20,72±0,88 ^{***1} | IIIb | 22,40±0,70 ^{***1*2} |
| Id | 21,60±1,50 ^{**1} | Контроль | 10,20±0,37 |
| IIa | 19,30±1,10 ^{**1} | Метамизол натрия | 18,33±1,02 |
| IIb | 22,80±0,73 ^{***1*2} | * = p < 0,05, ** = p < 0,01, *** = p < 0,001 | |

1 – по сравнению с контролем; 2 – по сравнению с метамизолом натрия.

Как видно из таблицы, при изучении анальгетической активности соединений Ia-d, содержащих фрагмент пиперазина, выявлено, что все производные проявляют действие на уровне или превышающее эффект метамизола натрия. Так, введение в ариламиновый фрагмент электронодонорной группы (OMe) приводит к усилению фармакологического действия (у вещества Ib). В то же время введение электроноакцепторного заместителя (Cl, Br или NO₂), а также одновременное введение любых заместителей, независимо от их природы, в ариламиновый и/или арильный фрагменты молекул не приводит к усилению анальгетических свойств (у соединений Ia,c,d). Наибольшую активность проявляет 2-(4-метоксифениламино)-1-(пиперазин-1-ил)-4-фенилбут-2-ен-1,4-дион (Ib). В ряду производных IIa-c, содержащих фрагмент морфолина, установлено, что введение в ариламиновый заместитель электроноакцепторной группы (NO₂) дает наиболее выраженный анальгетический эффект. Наличие электронодонорных групп в арильном и ариламиновом фрагментах молекул не приводит к усилению анальгетического действия (у соединения IIc). Таким образом, наибольшую анальгетическую активность проявляет 2-(3-нитрофениламино)-1-(морфолин-1-ил)-4-фенилбут-2-ен-1,4-дион (IIb). Среди адамантансодержащих производных III выявлено, что при введении электронодонорной

группы (ОМе) в ариламинный фрагмент приводит к увеличению анальгетического действия (у соединения Шб).

Таким образом, дальнейший поиск веществ с анальгетической активностью среди гетарилариламидов 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот и 2-адамнтаноилметиленигидразино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот является целесообразным.

Выводы

1. Исследованные соединения обладают низкой токсичностью, что делает их перспективными для дальнейшего изучения.
2. В ряду производных, содержащих фрагмент пиперазина, введение электронодонорной группы, а у соединений, содержащих фрагмент морфолина, введение электроноакцепторной группы в ариламиновый заместитель приводит к наиболее выраженному анальгетическому действию.
3. У адамантансодержащих соединений наиболее выраженным анальгетическим эффектом обладает 4-метоксифениламид 2-адамнтаноилметиленигидразино-4-арил-4-оксобут-2-еновой кислоты.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-03-96016 р_урал_а).

Список литературы

1. Анальгетическая активность производных 2-амино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот / Н.А. Пулина, В.Ю. Кожухарь, Р.Р. Махмудов [и др.] // Фармация. – 2014. – № 5. – С. 45-47.
2. Измеров И.Ф., Саноцкий И.В., Сидоров К.К. Параметры токсикометрии промышленных ядов. – М.: Медицина, 1997. – С. 196-197.
3. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 13-50, 197-218.
4. Оценка перспективности поиска биологически активных соединений в ряду производных 4-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот / А.С. Кузнецов, Ф.В. Собин, В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина // Глоб. науч. потенц. – 2013. – Т. 25, № 4. – С. 8-11.
5. Рубцов А.Е., Залесов В.В. Химия иминофуранов. I. Дециклизация N-замещенных 5-арил-3-имино-3Н-фуран-2-онов под действием ОН- и NH-нуклеофилов // Журн. орган. хим. – 2007. – Т. 43. – № 5. – С. 739-744.
6. Синтез и анальгетическая активность гетарилламидов 4-арил-2-ариламино-4-оксо-2-бутеновых кислот / Н.А. Пулина, Ф.В. Собин, В.Ю. Кожухарь [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2014. – Т. 48, № 1. – С. 14-17.

7. Синтез и изучение биологической активности замещенных 2-метиленигидразоно-5-арил-2Н-фуран-3-онов и продуктов их гидролиза / Н.А. Пулина, А.С. Кузнецов, Т.Ф. Одегова [и др.] // *Вопр. биол., мед. и фарм. химии.* – 2013. – № 8. – С. 8-11.
8. In vivo phenotypic screening for treating chronic neuropathic pain: modification of C2-arylethynyl group of conformationally constrained A₃ adenosine receptor agonists / Dilip K. Tosh, Amanda Finley, Silvia Paoletta [et al.] // *J. Med. Chem.*, 2014, 57(23), pp. 9901-9914.
9. Glenn F. King, Irina Vetter. No gain, no pain: Nav1.7 as an analgesic target // *ACS Chem. Neurosci.*, 2014, 5(9), pp.749-751.

Рецензенты:

Вихарева Е.В., д.ф.н., профессор, заведующая кафедрой аналитической химии «Пермской государственной фармацевтической академии», г. Пермь;

Юшкова Т.А., д.м.н., профессор кафедры фармакологии «Пермской государственной фармацевтической академии», г. Пермь.