

СИНТЕЗ ЗАМЕЩЕННЫХ БУТИРАМИДОВ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ МЕСТНОАНЕСТЕЗИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ

Тюхтенева З.И., Бурлака С.Д.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный технологический университет», Краснодар, e-mail: burlaka@mail.ru

Настоящая статья посвящена синтезу солей 3-алкиламино-4-гидрокси-N-алкилбутанамидов и изучению их местноанестезирующей активности. Осуществлен синтез аддитивных солей амидов замещенной γ -гидрокси-масляной кислоты: бензоата, гидрохлорида, гемисукцината и гемиглутарата бензиламида 3-бензиламино-4-гидроксибутановой кислоты и гидробромид 4-окси-3-[N-(фенацил)бензиламино]-N-бензилбутанамид, полученных из 3-бензиламино-4-гидрокси-N-бензилбутанамид. Синтезированные соединения исследованы на местноанестезирующую активность: проведен скрининг на поверхностную (терминальную), инфильтрационную и спинномозговую анестезию. Установлено, что испытанные вещества проявляют местноанестезирующую активность. Так, гемиглутарат и гемисукцинат в инфильтрационной анестезии по широте терапевтического эффекта превосходят тримекаин в 2,72 и 3,87 раза и в 4,25 и 2,86 раза соответственно. Эти соединения также вызывают у крыс четкую спинномозговую анестезию. Наиболее активным оказался гемиглутарат, который в 4,36 раза превосходит тримекаин и в 5,89 раза – новокаин (2%-ный раствор). При спинномозговом методе обезболивания в опытах на крысах установлено, что гидробромид в 2- и 5%-ных растворах по длительности анестезии соответственно в 2,84 и 2,34 раза превосходит тримекаин, в 3,84 и 3,38 раза новокаин. Проведенные исследования являются перспективными в плане создания новых местных анестетиков на основе 4-гидрокси-бутанамидов.

Ключевые слова: γ -оксимасляная кислота (ГОМК), замещенные бутанамиды, местноанестезирующая активность, инфильтрационная анестезия, спинномозговая анестезия, поверхностная (терминальная) анестезия.

THE SYNTHESIS OF SUBSTITUTED BUTYRAMIDE AND STUDY THEIR MESTNOANESTEZIRUYUSCHEY ACTIVITY

Tyukhteneva Z.I., Burlaka S.D.

Kuban State Technological University, Krasnodar, e-mail: burlaka@mail.ru

The present article is devoted to the synthesis of salts 3-alkylamino-4-hydroxy-N-alkylphthalimide and study their mestnoanesteziruyushey activity. Carried out the synthesis of the additive salts of amides of substituted γ -hydroxy-butyric acid: benzoate, hydrochloride, hemisuccinate and hemiglutarate of benzylamine 3-benzylamino-4-hydroxybutanoic acid and the hydrobromide of 4-hydroxy-3-[N-(phenacyl)benzylamino]-N-benzylmaleimide obtained from 3 - benzylamino-4-hydroxy-N-benzylmaleimide. The synthesized compounds were studied for mestnoanesteziruyushey activity: was screening on the surface (terminal), infiltration and spinal anesthesia. Found that the tested substances show masterest-sirousho activity. So, hemiglutarate and hemisuccinate in infiltra-tional anesthesia the breadth of therapeutic effect trimekain exceed 2.72 and 3,87 and 4.25 times and 2.86 times, respectively. These compounds also induce in rats a clear spinal anesthesia. The most active were hemiglutarate, which is 4.36 times higher than trimekain and 5.89 times – novocaine (2% solution). When the spinal method of anesthesia in experiments on rats found that nuclei at the 2 - and 5%-s ' solutions on the duration of anesthesia, respectively 2.84 and 2.34 times higher than trimekain, 3.84 and 3.38 times the novocaine. Of the study are promising in terms of creation of new local anesthetics based on 4-hydroxy-butanamide. Adducts 4-hydroxy-3-benzylamino-N-benzylbutanamid mith anorgagic and organic acids possessing strong local anaesthetic activity.

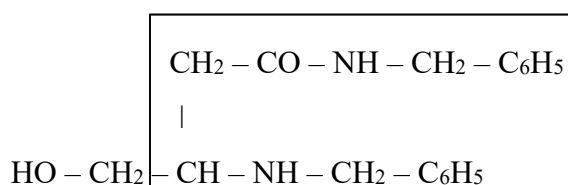
Keywords: γ -hydroxybutyric acid (GHB), substituted butanamide, mestnoanesteziruyushey activity, infiltration anesthesia, spinal anesthesia, surface (terminal) anesthesia.

В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания несут существенную угрозу здоровью современного человека, являясь главным фактором риска в группе «болезней цивилизации». В связи с этим перспективны различные структуры гетерофункциональной γ -гидроксимасляной (4-гидроксибутановой) кислоты (ГОМК), производные которой проявляют коронаротропное, антиангинальное, антинекротическое и кардиопротекторное

действие [1]. Такие виды активности характерны и для других соединений, близких по строению [2].

Ранее было установлено, что аддитивные соли 4-гидрокси-3-алкиламино-N-алкилбутанамида, преимущественно 4-гидрокси-3-бензиламино-N-бензилбутанамида, обладают заметной многоплановой фармакологической активностью, в том числе антиаритмическим действием при нарушениях сердечного ритма в условиях ишемии миокарда на животных; кроме того, эти соединения оказались весьма эффективными рострегуляторами растений, обладающими антистрессовым эффектом [3; 4]. Известно, что замещенные амиды проявляют местноанестезирующую активность [5; 6]. Нами осуществлен целенаправленный синтез новых производных замещенной ГОМК, полученных на основе N-алкиламидов 3-(N-алкиламино)-4-гидроксипропановой кислоты ряда I, и последующий скрининг их для установления иных видов биологического действия. В настоящей работе представлены результаты изучения местноанестезирующей активности аддитивных солей (II) и четвертичных аммониевых солей (III) - производных ГОМК. В группе современных фармацевтических веществ-анестетиков известны медицинские препараты с местноанестезирующим действием (новокаин, тримекаин, лидокаин, дикаин), которые являются солями амидов [6].

В структуре модельного 4-гидрокси-3-бензиламино-N-бензилбутанамида **Ia**, который мы использовали в качестве исходного реагента для синтеза изученных солей, можно отметить фрагмент, близкий по строению анестезиоморфной (фармакофорной) группе:

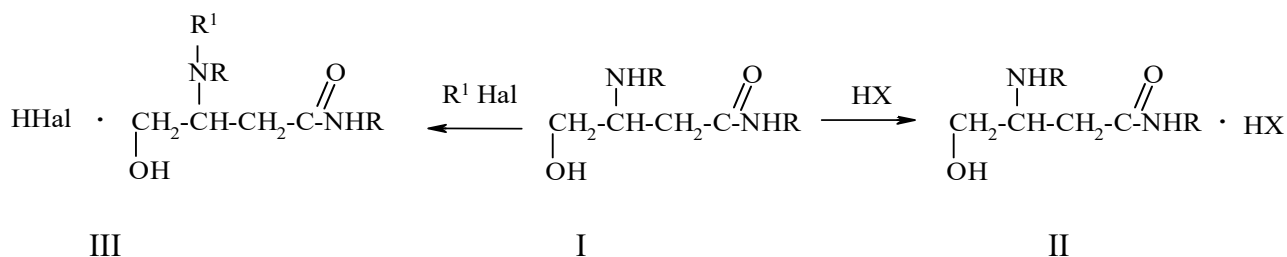


Выделенный структурный элемент присутствует во всех представленных в этой статье соединениях. Нам показалось перспективным сохранить его в молекулах новых соединений, продолжая поиск производных ГОМК, которые могут оказаться приемлемыми для создания новых местных анестетиков.

Целью нашей работы является синтез новых производных замещенной ГОМК, полученных на основе N-алкиламидов 3-(N-алкиламино)-4-гидроксипропановой кислоты (I), и установление у них новых видов биологической активности, востребованных в медицине. Любопытно также сравнение зависимости биологической активности от состава и структуры соединений одного ряда. В данной публикации приведены результаты исследований наиболее активных веществ, проявивших местноанестезирующую активность.

Экспериментальная химическая часть

Все изученные соединения получены, как правило, в солеобразной водорастворимой форме, что облегчает работу с ними в эксперименте и весьма желательно при создании лекарственного препарата. Изучение физиологического действия проводилось в научно-исследовательских лабораториях кафедры фармакологии Кубанского государственного медицинского университета. Основные направления синтеза целевых продуктов представлены на схеме:



R=C₆H₅CH₂; C₄H₉; C₂H₅; C₆H₁₁ R¹=C₆H₅COCH₂; HOOCCHCH₂CH₃

X= кислотные остатки; Hal= Cl, Br

Замещенные бутирамыды ряда **I** синтезированы по методам, описанным в работах [1; 4]. Действием на группу амидов **I** минеральными и органическими кислотами получены соли аддитивного (аммонийного) типа **II**. Проведена оптимизация метода синтеза широкого ряда индивидуальных соединений, установлены их физико-химические константы. Из дикарбоновых кислот в ряде случаев для сравнения активности синтезированы кислые и средние соли. Ниже приведены методики получения соединений, показавших наилучшие результаты при изучении их активности.

Гемисукцинат 3-бензиламино-4-гидрокси-N-бензилбутанамида (IIa) и гемиглутарат 3-бензиламино-4-гидрокси-N-бензилбутанамида (IIб) получены по методу, описанному в работе [1].

Гидрохлорид 3-бензиламино-4-гидрокси-N-бензилбутанамида (IIв). К раствору 2,98 г 3-бензиламино-4-гидрокси-N-бензилбутанамида в 40 см³ этанола прибавляют 0,92 см³ 34%-ной соляной кислоты. После упаривания в вакууме и промывания на фильтре серным эфиром выделено 3,1 г (90%) соединения **IIв** с T_{пл}=189-190 °С.

Найдено, % С 62,8; Н 7,4; N 8,2; Cl 10,5. C₁₈H₂₃N₂O₂Cl · 0,5 H₂O.

Вычислено, % С 62,9; Н 7,3; N 8,2; Cl 10,3.

ИК-спектр, см⁻¹: 3270, 3240, 3180, 1640, 1605, 1570.

Бензоат 3-бензиламино-4-гидрокси-N-бензилбутанамида (IIг) получен также с выходом 92%, T_{пл} = 119-120 °С.

Соли алкиламидов 3-диалкиламино-4-гидроксибутановой кислоты **III** синтезированы алкилированием амидов **I**.

Гидробромид 4-окси-3-[N-(фенацил)бензиламино]-N-бензилбутанамида (IIIa). В 50

см³ смеси этилацетат – хлороформ (2:1) нагревают до кипения 2,37 г бромистого фенацила с 3,54 г 3-бензиламино-4-гидрокси-N-бензилбутанамида. Выпавший через сутки осадок соединения **IIIa** (3.37 г, 57%) промывают на фильтре серным эфиром. Т. пл. 82-84 °С.

Найдено, %: С 63,5; Н 5,0; N 5,5; Br 16,0. C₂₆ H₂₄ BrN₂O₃.

Вычислено, %: С 63,4; Н 4,9; N 5,7; Br 16,3.

ИК-спектр, см⁻¹: 3240, 3100, 1635, 1620, 1590, 1530.

Экспериментальная биологическая часть

Испытание соединений проводили по общепринятым стандартным методикам [6; 7].

Результаты наблюдений за действием наиболее выделившихся по активности веществ показаны в таблицах 1-3. Данные, представленные в сравнении с веществами – эталонами по действию, подтверждают, что исследуемые соединения в ряде случаев оказались более эффективными, чем образцы сравнения. Анализ расхождений найденных величин показал, что имеется экспериментальный разброс данных, который нами представлен как ($x \pm S_1$). Эталоны по действию и их *МНН*: дикаин (тетракаин) - гидрохлорид β-диметиламиноэтилового эфира п-бутиламинобензойной кислоты; лидокаин - (2-диэтиламино)-N-(2,6-диметилфенил)-ацетамид; новокаин - гидрохлорид диэтиламиноэтилового эфира п-аминобензойной кислоты; *тримекаин* - гидрохлорид α-диэтиламино-2,4,6-триметилацетанилида.

Поверхностную (терминальную) анестезию изучали в опытах на роговице глаза кролика с использованием метода Ренье. Инфильтрационную анестезию соединений **IIa**, **IIб** исследовали в опытах на крысах и морских свинках с использованием интрадермального метода. Растворы анестезирующих веществ готовили на 0,7%-ном растворе хлорида натрия.

Результаты исследований подвергали статистической обработке. Определяли средние эффективные концентрации (ЕК₅₀), применяя метод наименьших квадратов, коэффициенты относительной активности и терапевтические индексы (ЛД₅₀/ЕК₅₀).

Результаты исследований и их обсуждение

Исследованиями солей группы (**II**) показано что часть веществ этой группы обладает заметным местноанестезирующим действием, которое в значительной степени определяется составом противоиона (кислотного остатка). Установлено также, что средние соли двухосновных кислот (гемисукцинаты, гемималаты, гемиглутараты) оказались физиологически значительно активнее, чем кислые.

Полученные данные изучения поверхностной (терминальной) анестезии представлены в таблице 1. Соединение **IIг** при концентрации раствора свыше 1% дает неустойчивые растворы, образующие осадки, поэтому изучено ограниченно. Для раствора соединения **IIг** с концентрацией 1% индекс Ренье установлен $268,2 \pm 27,7$. Следует отметить, что соли **IIв**, **IIг**,

взятые в 1-5% растворах, как и дикаин, начиная с 2%-ной концентрации, вызывают гиперемию конъюнктивы и десквамацию эпителия роговицы. Установлено, что соединения гемисукцинат 3-бензиламино-4-гидрокси-N-бензилбутанамида **Па** и гемиглутарат 3-бензиламино-4-гидрокси-N-бензилбутанамида **Пб** оказывают заметное местноанестезирующее действие. Позитивным фактом является то, что изученные растворы соединений **Па, Пб** не оказывают раздражающего действия на конъюнктиву глаза.

Таблица 1

Активность соединений **Па-Пв** и **Ша** в сравнении с тримекаином, лидокаином и дикаином, использованных в 5%-ной концентрации, при поверхностной анестезии в опытах на роговице глаза кролика (капли, внесенные в конъюнктивальный мешок) ($\bar{x} \pm S_1, n = 6$)

Соединение	Количество капель	Индекс Ренье
Па	1	562,5±53,0
	2	337,0±25,4
Пб	1	160±11,8
	2	552,7±31,8
Пв	1	406±61,9
	2	787,5±28,3
Ша	1	225,7±25,4
	2	762,8±24,4
Тримекаин	1	255,0±61,9
	2	1300,0±0,0
Лидокаин	1	443,5±40,1
Дикаин	1	300,0±0,0

Инфильтрационную анестезию соединений **Па, Пб**, как более активных, исследовали в опытах на крысах и морских свинках с использованием интрадермального метода. Результаты опытов приведены в таблице 2. Оба исследованных вещества по местноанестезирующей активности и широте терапевтического эффекта превосходят тримекаин.

Спинальную анестезию изучали в опытах на крысах. В качестве препаратов сравнения были взяты новокаин и тримекаин (таблица 3). Результаты исследования показали, что эти соединения вызывают у крыс четкую спинномозговую анестезию. Наиболее активным оказался гемиглутарат **Пб**, который в 4,36 раза по действию превосходит тримекаин и в **5,89** раза – новокаин (2%-ный раствор). Увеличение дозы соединения **Пб** до 15 мг/кг при введении его в спинномозговой канал приводит к еще более длительной анестезии, однако при этом у животных отмечалось угнетение дыхания.

Токсичность соединений **IIa-IIг** для белых мышей при однократном введении внутривентриально составляла соответственно 154, 129, 112 и 120 мг/кг, токсичность бромида **IIIa** – 290 мг/кг (для новокаина и тримекаина соответственно 206 и 182 мг/кг).

Из группы четвертичных аммониевых солей ряда **III** наибольшую активность в эксперименте показал гидробромид 4-окси-3-[N-(фенацил)бензиламино]-N-бензилбутанамида **IIIa**. Более эффективным было его действие в условиях инфльтрационной и спинномозговой анестезии. Изученное соединение по местноанестезирующей активности и широте терапевтического эффекта соответственно в 2,59 и 2,21 раза превосходит тримекаин (таблица 2). При спинномозговом методе обезболивания в опытах на крысах установлено, что гидробромид **IIIa** (10 мг/кг) в 2%- и 5%-ных растворах по длительности анестезии превосходит тримекаин и новокаин (таблица 3).

Выводы

Нами предложены простые методы получения групп соединений замещенной γ -оксималяной кислоты – функционализированных производных N-алкиламидов 3-(N-алкиламино)-4-гидроксипутановой кислоты, выделенных в виде аддитивных и четвертичных аммониевых солей, среди которых найдены активные вещества с местноанестезирующей активностью.

Из изученных аддитивных солей N-алкиламидов 3-(N-алкиламино)-4-гидроксипутановой кислоты наиболее эффективны гемисукцинат и гемиглутарат бензиламида 3-бензиламино-4-гидроксипутановой кислоты, которые проявили действие, превосходящее известные анестетики. Результаты исследования свидетельствуют о целесообразности их более глубокого изучения с целью возможного создания на их основе новых местноанестезирующих препаратов, в том числе проявляющих комплексное действие.

У солей алкиламидов 3-диалкиламино-4-гидроксипутановой кислоты ряда **III**, в частности гидробромида 4-окси-3-[N-(фенацил)бензиламино]-N-бензилбутанамида, более выражена местноанестезирующая активность, что объясняется, по-видимому, меньшей проницаемостью этих соединений через гематоэнцефалический барьер и более высокой липофильностью за счет фармакофорного заместителя. Преимуществом всех изученных соединений является отсутствие раздражающего действия на конъюнктиву глаза при терминальном методе обезболивания. Существенно то, что синтез изученных веществ достаточно прост, полученные соединения устойчивы при хранении, обладают относительно низкой токсичностью и хорошей растворимостью в воде. Проведенные исследования показали, что объекты исследования являются перспективными для создания новых местных анестетиков на основе 4-гидроксипутанамидов. Целесообразно также расширить круг соединений.

Таблица 2

Сравнительная местноанестезирующая активность соединений **IIa**, **IIб**, **IIIa** и тримекаина при инфильтрационной анестезии в опытах на морских свинках и крысах ($x \pm S_1$, $n = 6$)

Соединение	Местноанестезирующая активность			Токсичность 0,5%-ного раствора при внутрибрюшинном введении мышам*			Терапевтический индекс	
	ЕК ₅₀		относительно тримекаина	ЛД ₅₀		относительно тримекаина	абсолютный	относительный
	%	мМ/л		%	мМ/кг			
IIa	на морских свинках							
	<u>0,0254(0,0634)</u> ** 0,0230÷0,0296	0,71	4,25	<u>154</u> 140,0÷170,0	0,4314	1,48	6063,0	2,86
Тримекаин	<u>0,0856(0,2140)</u> 0,0712÷0,1004	3,02	1	<u>181,6</u> 164,9÷198,4	0,6380	1	2121,5	1
IIб	на крысах							
	<u>0,0500 (20)</u> *** 0,04÷0,07	1,18	2,72	<u>129,0 (8)</u> 110,0÷150,0	0,388	0,7	16300	3,87
IIIa	<u>0,06 (20)</u> 0,04÷0,08	1,22	2,59	<u>558,0 (25)</u> 482,0÷634,0	1,1341	1,17	9300,0	2,21
Тримекаин	<u>0,09 (15)</u> 3,16 0,05÷0,15		1	<u>379,1</u> 337,4÷421,0	1,3325	1	4212,2	1

*Для крыс определена токсичность 0,5%-ного раствора при подкожном введении.

**Над чертой (в скобках) - ЕК₅₀, мг; под чертой – доверительные границы при $p=0,05$.

***Над чертой (в скобках) – количество животных, под чертой – доверительные границы при $p=0,05$.

Таблица 3

Сравнительная активность соединений **Па, Пб, Ша**, новокаина и тримекаина при спинномозговой анестезии в опытах на крысах ($x \pm s_1$)

Соединение	Концентрация раствора, %	Доза, мг/кг	Количество животных*	Продолжительность анестезии, мин.	Количество животных, у которых анестезия не наступила, %	Количество погибших животных, %**
Па	2	10	10 (7)	42,60±6,05	20,0	10,0
Пб	2	10	10 (8)	71,90 ±6,63	10,0	10,0
Ша	2	10	10(9)	46,9±2,98	-	10,0
Новокаин	2	10	8 (4)	12,20±2,80	12,5	37,5
Тримекаин	2	10	10 (8)	16,50±1,33	10,0	10,0
Па	5	10	11 (8)	51,70±5,70	-	27,3
Пб	5	10	10 (8)	102,50±7,29	-	20,0
Ша	5	10	10(8)	79,1±7,56	-	20,0
Новокаин	5	10	10 (6)	23,60±2,12	20,0	20,0
Тримекаин	5	10	7 (5)	33,80±3,00	-	28,6

*В скобках – количество животных, которое принималось в расчет.

**Причина гибели животных не установлена.

Список литературы

1. Тюхтенева З.И. Ростстимулирующая и фармакологическая активность функционально замещенных аминспиртов - производных ГОМК. В сборнике: Инновационные процессы в научной среде. 2017. С. 46-48.
2. Гашкова О.В., Рудакова И.П., Сыропятов Б.Я. Синтез и антиаритмическая активность солей хлороводородной и салициловой кислот орто-толуидина морфолиноуксусной кислоты // Химико-фармацевтический журнал. 2017. № 8. С. 9-11.
3. Cherednik I.L., Sheikh-Zade Y.P., Galenko-Yaroshevskii P.A., Uvarov A.V. Antiarrhythmic effect of gaba derivative TZ-50-2 in neurogenic atrial fibrillation. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2000. Vol. 129. no 3. P. 257-258.
4. Тлехусеж М.А., Тюхтенева З.И., Ненько Н.И. Активаторы прорастания семян озимой пшеницы на основе амидов полизамещённой аминотмасляной кислоты // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 1-1. [Электронный ресурс].URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19606> (дата обращения: 10.06.2019).
5. Зиганшин О.Р. Сравнение эффективности и безопасности топических местных анестетиков при поверхностных хирургических вмешательствах в дерматологии // Клиническая дерматология и венерология. 2018. № 6. С. 53-60.
6. Игнатов Ю.Д., Волчков В.А, Галенко-Ярошевский А.П., Кубынин А.Н., Мельников К.Н, Шейх-Заде Ю.Р., Киселев А.В. Изучение местноанестезирующей активности фармакологических веществ. Краснодар: Издательство ООО «Просвещение». 2012. 103 с.
7. Галенко-Ярошевский П.А., Галенко-Ярошевский А.П., Анисимова В.А., Чемоданова П.С. Производные бензимидазола: местноанестезирующие свойства, механизмы действия, перспективы использования в офтальмологии. Краснодар: Издательство «Просвещение-Юг», 2015. 781 с.