

Рекомендована д.ф.н., професором В.С.Бондарем

УДК 547.461.2:547.466.3

СИНТЕЗ ТА ДІУРЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ γ -(R-БЕНЗОЛОКСАМІДО)-БУТАНОВИХ КИСЛОТ

В.А.Георгіянць, Н.І.Банна, В.М.Савченко

Національний фармацевтичний університет
Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна

З метою пошуку речовин з діуретичною активністю здійснено синтез нової групи хімічних сполук γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот, одержаних за реакцією амідування етилових естерів заміщених оксанілових кислот γ -амінобутановою кислотою. Структуру синтезованих сполук доведено методами елементного аналізу, ІЧ- та ПМР-спектроскопії. Фармакологічні дослідження показали, що гостра токсичність нових сполук знаходиться в діапазоні 1145-1430 мг/кг. Вплив синтезованих сполук на видільну функцію нирок вивчений на білих щурах. Встановлено, що більшість сполук підвищує видільну функцію нирок. Дві речовини перевищують за діуретичною активністю гіпотіазид.

Серед амідних та гідразидних похідних щавлевої кислоти знайдені сполуки з широким спектром фармакологічної активності, тому в зазначених рядах останнім часом ведеться інтенсивний пошук біологічно активних речовин [1-4, 9].

У медичній практиці також широко застосовуються препарати амінокислот, які характеризуються нешкідливістю, малою вираженістю побічних ефектів та відсутністю алергізуючої дії [7, 8, 10-20].

У сучасній медицині використовують велику кількість препаратів сечогінної дії, але всі вони

проявляють побічний ефект, що обумовлює пошук високоефективних та безпечних препаратів.

Метою даної роботи є синтез нової групи хімічних сполук, похідних γ -амінобутанової кислоти, які поєднують у своїй структурі залишок щавлевої кислоти та заміщене бензольне кільце, а також вивчення впливу нових речовин на видільну функцію нирок тварин.

Як вихідні продукти для синтезу γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот були використані заміщені аніліни (I). Етилові естери заміщених оксанілових кислот (II) одержані за реакцією ацилювання заміщених анілінів (I) етоксалілхлоридом у середовищі льодяної оцтової кислоти при зниженні температурі в присутності триетиламіну.

γ -(R-бензолоксамідо)-бутанові кислоти (ІІІа-ж) одержані за реакцією амідування естерів II γ -амінобутановою кислотою в присутності калію гідроксиду при кімнатній температурі з подальшим підкисленням реакційної суміші хлористоводневою кислотою. Виходи цільових продуктів складають 69-83%.

γ -(R-бензолоксамідо)-бутанові кислоти (ІІІа-ж) являють собою безбарвні кристалічні речовини, за винятком сполуки ІІІд, яка має жовте забарвлення і легко розчиняється у водних лугах, а при нагріванні — у спирті, діоксані, льодяній оцтовій кислоті (схема).

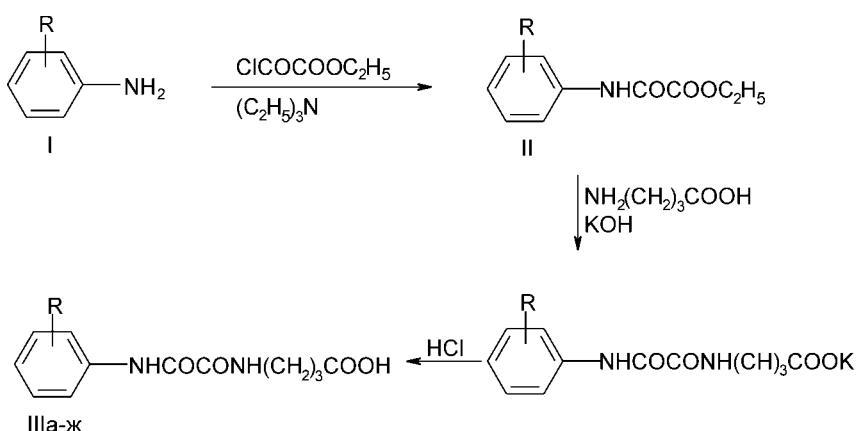


Схема.
Значення R наведені в табл. 1.

Таблиця 1
Характеристики γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот

Сполучка	R	Вихід, %	T. пл.* , °C	Знайдено, %			Брутто-формула	Вираховано, %			R_f^{**}
				C	H	N		C	H	N	
IIIa	H	76	178-9	57,68	5,59	11,26	$C_{12}H_{14}N_2O_4$	57,59	5,64	11,19	0,55
б	3-CH ₃	78	182-4	59,19	6,16	10,72	$C_{13}H_{16}N_2O_4$	59,08	6,10	10,60	0,64
в	2-OCH ₃	69	165-6	55,83	5,74	10,08	$C_{13}H_{16}N_2O_5$	55,71	5,76	9,99	0,47
г	2-COOH	83	188-90	53,18	4,83	9,61	$C_{13}H_{14}N_2O_6$	53,06	4,79	9,52	0,68
д	2-NO ₂	72	168-70	48,71	4,51	14,32	$C_{12}H_{13}N_3O_6$	48,82	4,44	14,23	0,72
е	4-COOCH ₂ H ₅	81	181-3	56,08	5,71	8,62	$C_{15}H_{18}N_2O_6$	55,90	5,63	8,69	0,51
ж	4-Cl	75	177-9	50,84	4,54	9,92	$C_{12}H_{13}N_2O_4$	50,63	4,60	9,84	0,48

* Кристалізують IIIa, б, д з води; IIIг — з метанолу водного; інші — з пропанолу-2.

** Константи R_f визначені методом ТШХ у системі розчинників: хлороформ-етанол-акетон (1:9:10) на пластинах "Silufol UV-254", проявлення парами йоду.

Будова амідів IIIa-ж підтверджена даними елементного аналізу, ГЧ-, УФ- та ПМР-спектрів, а чистота та індивідуальність — методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) (табл. 1, 2).

В ГЧ-спектрах отриманих амідів IIIa-ж виявлені смуги поглинання на ділянці 1714-1647 cm^{-1} , які відповідають валентним коливанням карбонільної групи (I амідна полоса), а на ділянці 1736-1698 cm^{-1} — валентним коливанням карбонільної групи карбоксилу. Смуги поглинання на ділянці 1552-1520 cm^{-1} відносяться до деформаційних коливань (II амідна полоса), а при 3348-3314 cm^{-1} та 3290-3268 cm^{-1} — до валентних коливань NH-групи. Валентні коливання на ділянці 3065-2922 cm^{-1} відповідають гідроксильній групі.

Нітрогрупа має поглинання при 1441 cm^{-1} та 1344 cm^{-1} , що відповідає асиметричним та симетричним валентним коливанням (сполука IIIд). Хлор обумовлює появу в спектрі смуги поглинання на ділянці 787 cm^{-1} (сполука IIIж).

В ПМР-спектрах γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот (IIIa-ж, табл. 2) присутня група сигналів при $d = 8,64-6,88$ м. ч., яка відповідає протонам ароматичної системи. Квартет сигналів γ -метиленової групи спостерігається при $d = 3,22-3,10$ м. ч. Квінтетність сигналів при $d = 1,72-1,38$ м. ч. обумовлена поглинанням протонів середньої метиленової групи. Тріплет сигналів α -метиленової групи спостерігається при $d = 2,22-2,18$ м. ч. У слабкому полі з хімічним зсувом

Таблиця 2

ГЧ-спектри, cm^{-1} та ПМР-спектри, β , м. ч. γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот

Сполучка	$\nu_{\text{C=O}}$ (амід I)	Ароматичні протони	NH	$\gamma\text{-CH}_2$	$-\text{CH}_2-$	$\alpha\text{-CH}_2$	Протони замісників
IIIa	1647	7,10 (т, 1H) 7,32 (т, 2H) 7,80 (д, 2H)	9,00 (т, 1H) 10,58 (с, 1H)	3,20 (к, 2H)	1,72 (кв, 2H)	2,20 (т, 2H)	12,02 (1H, ушир. COOH)
б	1680	6,88 (д, 1H) 7,16 (т, 1H) 7,52 (т, 2H)	8,99 (т, 1H) 10,26 (с, 1H)	3,19 (к, 2H)	1,72 (кв, 2H)	2,22 (т, 2H)	2,46 (C, 3H, CH ₃)
в	1665	6,97 (к, 2H) 7,13 (к, 1H) 8,15 (д, 1H)	9,18 (т, 1H) 9,78 (с, 1H)	3,18 (к, 2H)	1,72 (кв, 2H)	2,22 (т, 2H)	2,45 (C, 3H, OCH ₃) 12,04 (1H, ушир. COOH)
г	1714	7,27 (т, 1H) 7,62 (т, 1H) 8,02 (д, 1H) 8,64 (т, 1H)	9,10 (т, 1H)	3,10 (к, 2H)	1,72 (кв, 2H)	2,22 (т, 2H)	12,55 (т, 1H, COOH)
д	1667	7,40 (т, 1H) 7,80 (т, 1H) 8,14 (д, 1H) 8,28 (д, 1H)	9,20 (т, 1H)	3,22 (к, 2H)	1,72 (кв, 2H)	2,22 (т, 2H)	
е	1664	7,92 (т, 4H)	9,05 (т, 1H) 10,90 (с, 1H)	3,20 (к, 2H)	1,72 (кв, 2H)	2,20 (т, 2H)	1,30 (т, 3H, COOCH ₂ CH ₃) 4,28 (т, 2H, COOCH ₂ CH ₃)
ж	1657	7,42 (д, 2H) 7,85 (д, 2H)	9,00 (т, 1H) 10,80 (с, 1H)	3,14 (к, 2H)	1,38 (кв, 2H)	2,18 (т, 2H)	11,95 (1H, ушир. COOH)

Таблиця 3
Гостра токсичність
 γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот

Сполучка	Параметри гострої токсичності, мг/кг		
	ЛД ₁₆	ЛД ₅₀ (M±m)	ЛД ₈₄
IIIa	998	1145±21,2	1218
б	1035	1270±18,2	1440
в	975	1185±19,2	1420
г	1015	1310±23,7	1510
д	985	1195±17,6	1425
е	1220	1430±25,5	1635
ж	1015	1210±22,3	1410

10,90-8,99 м. ч. знаходяться сигнали NH-груп, а у більш слабкому полі виявляються протони карбоксильної групи у вигляді широкого піку.

Експериментальна хімічна частина

ІЧ-спектри виміряні на спектрофотометрі TENSOR 27 (фірма “Bruker”) у таблетках калію броміду (концентрація речовин — 0,5%). Спектри ПМР записані у ДМСО-Д₆ на спектрометрі Varian Mercury VX-200, внутрішній стандарт — ТМС.

γ -(Бензолоксамідо)-бутанова кислота (Ша, табл. 1). До розчину 0,56 г (0,01 Моль) калію гідроксиду в 5 мл метанолу додають 1,03 г (0,01 Моль) γ -амінобутанової кислоти. Отриманий розчин додають до розчину 1,93 г (0,01 Моль) етилового естера оксанілової кислоти у 10 мл діоксану та залишають стояти до зникнення лужного середовища. Осад, що випав, відфільтровують, розчиняють у 5 мл води. Розчин підкислюють HCl (1:1) до pH 3.

Осад, що випав, відфільтровують, сушать та кристалізують з води. Температура плавлення — 178-179°C. Вихід — 1,91 г.

Аналогічно отримують сполуки IIIб-ж.

Експериментальна біологічна частина

Вивчення гострої токсичності γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот проведено на інтактних безпородних білих миших різної статі масою 18-24 г. Сполучки, що вивчались, вводили внутрішньошлунково в об’ємі, не більше 1 мл. Кількість тварин, що вижила та загинула, відмічали через кожні 24 години. Середні смертельні дози (ЛД₅₀) визначали за методом Кьюберса [6]. Результати отриманих даних наведені в табл. 3.

Вплив синтезованих сполук на видільну функцію нирок вивчений на білих шурах-самцях лінії Вістар масою 120-160 г за методом Є.Б.Берхіна [5]. Для дослідження сечогіної дії були використані серії тварин по сім щурів у кожній групі. Сполучки, що досліджували, вводили внутрішньошлунково в дозі 0,02 ЛД₅₀.

При вивчені водного діурезу щурів утримували на постійному рационі при вільному доступі до води. До водного навантаження тварин витримували на протязі двох годин без їжі та води. Потім щурам вводили у шлунок за допомогою зонду сполучки, що досліджували, у вигляді водної суспензії одночасно з водним навантаженням у кількості 3 мл на 100 г маси тіла тварини. Сечу збиравали через кожну годину впродовж чотирьох годин. Кількість сечі, що виділилась у тварин контрольної групи, приймали за 100%. Аналіз отриманих експериментальних даних проводили у порівнянні з еталонними діуретиками гіпотіазидом

Таблиця 4

Діуретична активність γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот

Сполучка	Доза, мг/кг	Діурез			
		через 2 години		через 4 години	
		(M±m), мл	у % до контролю	(M±m), мл	у % до контролю
IIIa	22,9	0,87±0,09	75,0	1,84±0,10	80,7
б	25,4	1,45±0,17	125,0	2,63±0,28	115,3
в	23,7	1,34±0,12	115,5	2,77±0,19	121,5
г	26,2	2,73±0,14**	235,3	5,51±0,21**	241,7
д	23,9	2,90±0,11**	250,0	5,44±0,16**	238,6
е	28,6	1,21±0,08	104,3	2,65±0,23	116,2
ж	24,2	1,86±0,13**	160,3	3,38±0,18*	148,2
Контроль		1,16±0,14	100	2,28±0,11	100
Гіпотіазид	50,0	1,98±0,07**	159,7	5,72±0,09**	232,5
Фуросемід	1,0	4,44±0,12**	358,1	11,23±0,17**	456,5
Адіурекрин	10,0	0,96±0,06**	77,4	1,37±0,08**	55,7
Контроль		1,24±0,11	100	2,46±0,13	100

Примітка * , ** — достовірність результатів при $p<0,05$ та $p<0,01$, відповідно, у порівнянні з контрольною групою

та фуросемідом. Результати досліджень наведені в табл. 4.

Результати та їх обговорення

Результати досліджень показали, що гостра токсичність групи сполук, які вивчали, знаходиться в діапазоні 1145-1430 мг/кг. З даних табл. 3 видно, що з вивченого ряду сполук III_a-ж найменш токсичною виявилась γ -(4-етокси-карбонілбензолоксамідо)-бутанова кислота (сполука III_e), ЛД₅₀ якої складала 1430 мг/кг. Заміна в бензольному кільці сполуки III_e 4-етокси-карбонільного радикалу на 2-карбоксигрупу (сполука III_g) значно підвищує токсичні властивості сполуки (ЛД₅₀ — 1310 мг/кг). Введення в бензольне кільце сполук радикалів 3-метил (сполука III_b), 4-хлор (сполука III_j), 2-нітрот (сполука III_d) та 2-метокси (сполука III_v) спричиняє подальшому збільшенню токсичності (ЛД₅₀ — 1270, 1210, 1195 та 1185 мг/кг). Найбільш токсичною виявилась сполука з незаміщеним бензольним кільцем (сполука III_a), ЛД₅₀ якої складає 1145 мг/кг.

Аналіз результатів фармакологічних досліджень показав, що більшість вивчених сполук в умовах водного навантаження викликає збільшення віддельної функції нирок в середньому на 15,3-141,7%. Виражену діуретичну активність проявляють спо-

луки, які містять у бензольному кільці молекули 2-карбокси та 2-нітро радикали (сполуки III_g, III_d). Ці сполуки в дозах 26,2 та 23,9 мг/кг за дві години збільшували діурез в середньому на 135,3 та 150,0%, а за 4 години — на 141,7 та 138,6% відповідно. Заміна вказаних радикалів у бензольному кільці молекул на 4-Cl (сполука III_j) або 2-метокси (сполука III_v) значно знижує діуретичний ефект. Сполуки III_j та III_v за дві години збільшували діурез на 60,3 та 15,5%, а за чотири години — на 48,2 та 21,5%. Подальша заміна радикалів у бензольному кільці приводить до різкого зниження сечогінного ефекту. Сполука III_a проявляє зворотний фармакологічний ефект.

Таким чином, у результаті проведених досліджень знайдені нові хімічні речовини, які перевищують за діуретичною активністю гіпотазид, але поступаються препарату “Фуросемід”.

ВИСНОВКИ

1. Здійснено синтез γ -(R-бензолоксамідо)-бутанових кислот, структуру яких підтверджено елементним аналізом, УФ-, ІЧ- та ПМР-спектрами.
2. У результаті фармакологічного скринінгу знайдені речовини з високою діуретичною активністю та низькою токсичностю.

ЛІТЕРАТУРА

1. Баний І.П., Черних В.П., Самура Б.А. та ін. // Вісник фармації. — 2001. — №4. — С. 9-12.
2. Баний І.П., Бондар В.Б., Самура Б.А. та ін. // Вісник фармації. — 2004. — №2. — С. 13-17.
3. Баний І.П., Георгіянц В.А., Банна Н.І. та ін. // Ліки України. — 2005. — №9. — С. 141-143.
4. Баний І.П., Самура Б.А., Банна Н.І. та ін. // Укр. вісник психоневрол. — 2006. — Т. 14, вип. 2. — С. 111-113.
5. Берхін Е.Б. // Хім.-фарм. журн. — 1977. — Т. 11, №5. — С. 3-11.
6. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. — М.: Медицина, 1977. — 131 с.
7. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2-х ч. — 14-е изд. — М.: Новая волна, 2000. — Ч. 1. — 590 с. Ч. 2. — 612 с.
8. Пат. 47157 А Україна МКВ С 07 С 311/01, А 61 К 31/18 І.П.Баний, В.П.Черних, В.Д.Лук'янчук та ін. (Україна). — №2001085648. — Заявл.: 08.08.2001. Опубл.: 17.06.2002. — Бюл. №6.
9. Пат. 57908 Україна МКВ С 07 Д 285/12, А 61 К 31/41 І.П.Баний, В.П.Черних, Є.Л.Снітковський та ін. (Україна). — №3984548. — Заявл.: 04.12.1985. Опубл.: 15.07.2003. — Бюл. №7.
10. Awouters F., Megens A.A.H.P., Niemegeers C.J.E. et al. // Jap. Pharmacol. Therapy. — 1991. — Vol. 19. — P. 73-89.
11. Chena M., Betz W.J. // Biophys. J. — 1991. — Vol. 59, №6. — P. 1251- 1260.
12. Collins K.S., Franzblau S.G. // Antimicrob. Agents and Chemotherapy. — 1997. — Vol. 41. — P. 1004-1009.
13. Gentry C., Melarange R., Durie M. et al. // Clin. Drug. Invest. — 1996. — Vol. 11, №1. — P. 49-59.
14. Geerts W.H., Sayr M. // N. Engl. J. Med. — 1996. — №36. — P. 701-707.
15. Haykawa J., Ando S.H. // J. Jap. Dent. Mater. — 1997. — Vol. 7, №7. — P. 79-82.
16. Isayev S.G. Prospects of drug creation with cation-anion action // Drug for men: Internacionnal science collected articles 5 of science-practice conference in creating and approving new medicinal preparations. — Kaunas, 1997. — Vol. 5. — P. 382-383.
17. Janyian M. // J. of Pharmac. Care in Pain and Symptom Control. — 1999. — Vol. 7, №4. — P. 37-46.
18. Morgenstern O. // Ibid. — 2000. — Vol. 50, №12. — P. 871-891.

19. Negwer M. *Organic-chemical drugs and their synonyms (an international survey)*. — Berlin: Academie Verlag, 1994. — Vol. I. — 2855 p.
20. *The world book Encyclopedia*. — Vol. 2B. — Chicago; London; Sydney; Toronto; World Book Inc., 1994. — 770 p.

УДК 547.461.2:547.466.3

СИНТЕЗ И ДИУРЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ γ -(R-БЕНЗОЛОКСАМИДО)-БУТАНОВЫХ КИСЛОТ

В.А.Георгиянц, Н.И.Банная, В.Н.Савченко

С целью поиска веществ с диуретической активностью осуществлен синтез новой группы химических соединений γ -(R-бензолоксамидо)-бутиловых кислот, которые получены по реакции амидирования этиловых эстеров замещенных оксаниловых кислот γ -аминобутиловой кислотой. Структура синтезированных соединений доказана методами элементного анализа, ИК- и ПМР-спектроскопии. Фармакологические исследования показали, что острая токсичность новых соединений находится в диапазоне 1145-1430 мг/кг. Влияние синтезированных соединений на выделительную функцию почек изучено на белых крысах. Установлено, что большинство соединений повышает выделительную функцию почек. Два вещества превышают по диуретической активности гипотиазид.

UDC 547.461.2:547.466.3

SYNTHESIS AND DIURETIC PROPERTIES OF THE γ -(R-PHENYLOXAMIDO)-BUTANOIC ACIDS

V.A.Georgiyants, N.I.Bannaya, V.N.Savchenko

The object of investigation is search of substances with diuretic properties among the derivatives of γ -(R-phenyloxamido)-butanoic acids. The synthesis was carried out. The new group of chemical compounds was synthesized by the amination reaction of ethyl esters of substituted oxanylic acids with γ -aminobutanoic acid. Structure of synthesized compounds was proved by methods of elemental analysis, IR- and NMR-spectroscopy. The pharmacologic reserches showed that acute toxicity of new compounds is in range of 1145-1430 mg/kg. The influence of synthesized compounds on isolate function of kidneys was learned on white rats. It was stated that majority of compounds synthesized increases isolate function of kidneys. Two from substances synthesized exceed the diuretic activity hypothiazide.