

Комплексні
дослідження

УДК 547.785.5:547.461.2:615.011.4:612.014.46]001.8

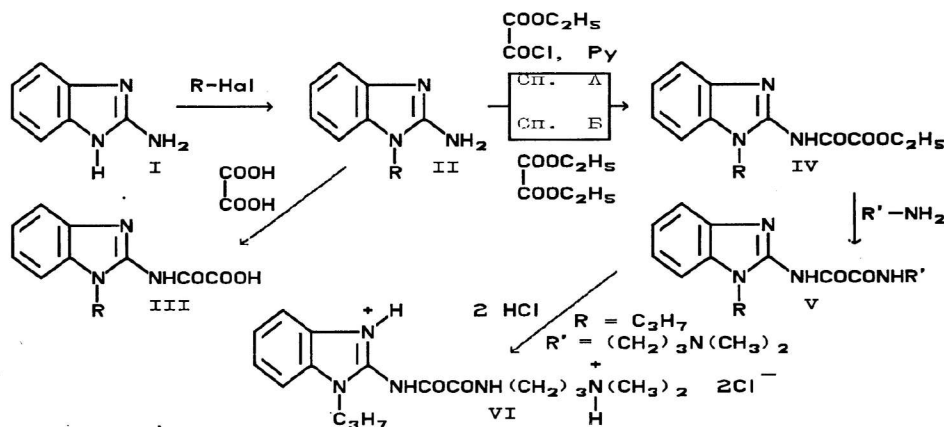
СИНТЕЗ І БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ 1-R-БЕНЗИМІДАЗОЛІЛ- 2-ОКСАМІНОВИХ КИСЛОТ

В.П.Черних, Г.А.Чалий, О.В.Корольова, В.В.Пічугін,
В.К.Прусаченко, Є.Л.Снітковський, С.М.КоваленкоКафедра органічної хімії Української фармацевтичної академії
Кафедра органічної хімії Курського медичного інституту

Здійснено синтез 1-R-бензімідазоліл-2-оксамінових кислот, їх етилових ефірів і N-R'-амідів. Проведено фармакологічний скринінг синтезованих сполук, який дозволив виявити речовини, що мають протигіпоксичну та антиаритмічну активність, а також з'ясувати деякі закономірності зв'язку "структура-активність" для сполук досліджуваного ряду.

Похідні бензімідазолу являються цікавою як в хімічному, так і в біологічному аспектах групою речовин. Серед них знайдені сполуки з антиалергічною, імуномодулюючою, кардіотропною та іншими діями [1, 10]. З другого боку, відомо, що оксамоїльний залишок зарекомендував себе у ролі фармакофору, введення якого в структуру біологічно-активних речовин сприятливо впливає на розширення діапазону фармакологічної дії та зменшення токсичності [4, 9]. У зв'язку з цим цікаво було об'єднати в одній молекулі активні фрагменти—бензімідазолний і оксамоїльний та провести порівняльний аналіз біологічної активності добутих сполук.

Для досягнення поставленої мети були одержані 1-R-бензімідазоліл-2-оксамінові кислоти та їх похідні за такою схемою:



Вихідні 1-R-бензімідазоліл-2-аміни (II) отримані алкілуванням 2-амінобензімідазолу (I) первинними алкіл-, бензил- і діетиламіноетил-

галогенідами в лужному середовищі за методом [8]. Прямим оксамоїлюванням гетериламінів II за методикою [6] здійснений синтез 1-R-бензімідазоліл-2-оксамінових кислот (III) (табл. 1).

робки спиртового розчину його основної форми сухим хлороводнем.

Отримані кислоти III, ефіри IV й аміді V (табл. 1)—це безбарвні кристалічні речовини, роз-

Таблиця 1

1-R-Бензімідазоліл-2-оксамінові кислоти та їх похідні

Сполука	R	R'	Вихід, %	Т. пл., °С*	Вирахувано, % N	Брутто-формула	Знайдено, % N	Rf**
IIIa	C ₃ H ₇ -H	—	82	201+202	17,15	C ₁₂ H ₁₃ N ₃ O ₃	16,99	—
IIIб	C ₄ H ₉ -H	—	85	211+212	16,10	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O ₃	16,08	—
IIIв	CH ₂ -C ₆ H ₅	—	72	207+209	14,13	C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	14,23	0,45
IIIг	CH ₂ -H ₂ C (C ₂ H ₅) ₂ N	—	78	116+118	18,32	C ₁₅ H ₂₀ N ₄ O ₃	18,41	0,63
IVa	C ₃ H ₇ -H	—	70	190+101	15,32	C ₁₄ H ₁₇ N ₃ O ₃	15,26	0,74
IVб	C ₄ H ₉ -H	—	75	102+103	14,93	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₃	14,52	0,70
IVв	CH ₂ -H ₂ C (C ₂ H ₅) ₂ N	—	68	107+109	16,95	C ₁₇ H ₂₄ N ₄ O ₃	16,85	0,48
Va	C ₃ H ₇ -H	H	71	216+218	22,67	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₃	22,75	0,20
Vб	C ₃ H ₇ -H	C ₃ H ₇ -H	80	166+167	19,48	C ₁₅ H ₂₀ N ₄ O ₂	19,43	0,38
Vв	C ₃ H ₇ -H	CH ₂ CH ₂ OH	63	159+160	19,38	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	19,30	0,45
Vг	C ₃ H ₇ -H	CH ₂ CH ₂ CH ₂ (CH ₃) ₂ N	67	125+126	21,21	C ₁₇ H ₂₅ N ₅ O ₂	21,13	—
Vд	C ₄ H ₉ -H	H	73	209+211	21,48	C ₁₃ H ₁₆ N ₄ O ₂	21,52	0,27
Ve	C ₄ H ₉ -H	C ₃ H ₇ -H	85	181+182	18,62	C ₁₆ H ₂₂ N ₄ O ₂	18,53	0,35
Ve	C ₄ H ₉ -H	CH ₂ CH ₂ OH	73	156+157	18,50	C ₁₅ H ₂₀ N ₄ O ₃	18,41	0,42

* Сполуки IIIa, IIIб, IVa-в, Va, Vд кристалізуються з етанолу; IIIв—з 50%-ного водного етанолу; IIIг і Vг—з води; Vб, Vв, Ve, Ve—з суміші ацетон-гексан (1:1).

** Константи Rf визначали на платівках "Silufol UV-254" в системах розчинників: хлороформ-метанол (1,4:1) для сполуки IIIв, ацетон—для сполуки IIIг, хлороформ-ацетон (4:1)—для сполук IVa та IVб, ацетон-дихлоретан (5:1)—для сполуки IVв, хлороформ-етанол (16:3)—для сполук Va-в і Vд-е.

Взаємодією гетериламінів II з етоксалілхлоридом у середовищі піридину (спосіб А), а також з надлишком діетилоксалату (спосіб Б) синтезовані етилові ефіри 1-R-бензімідазоліл-2-оксамінових кислот (IV), константи яких співпадають з даними літератури [6]. Співставлення результатів дозволило зробити висновок, що більш раціональним є спосіб Б, який не потребує трудомісткого синтезу вихідного етоксалілхлориду та використання сухого піридину.

N-R'-аміді 1-R-бензімідазоліл-2-оксамінових кислот (V) були синтезовані амінолізом ефірів IV первинними жирними амінами в спиртовому середовищі та водним розчином аміаку з виходами 63+85%. Диметиламінопропіламід 1-пропілбензімідазоліл-2-оксамінової кислоти був виділений також у вигляді дигідрохлориду VI шляхом об-

чинні у звичайних органічних розчинниках, і нерозчинні у воді. Будову синтезованих сполук підтверджено методами елементного аналізу та ІЧ-спектроскопії, а їх чистоту—за допомогою тонкошарової хроматографії.

У спектрах 1-R-бензімідазоліл-2-оксамінових кислот (III) спостерігається дублетна смуга валентних коливань $\nu_{C=O}$ карбоксильної та карбамільної груп (1680+1700 cm^{-1}). В області коливань зв'язків Х-Н знаходиться розширена смуга ν_{OH} , на фоні якої прорисовується смуга, зумовлена коливаннями ν_{NH} (3300+3400 cm^{-1}). При переході до ефірів IV та амідів V характер ІЧ-спектрів істотно не змінюється. У спектрах ряду похідних відмічається чітке розщеплення "карбонільних" смуг і поява другої смуги ν_{NH} (оксаміди V і VI).

Сполуки III - V були піддані фармакологічному

скринінгу на виявлення протигіпоксичної (табл. 2) та антиаритмічної активності.

підвищувати тривалість життя мишей в 1,5±2 рази, при цьому у стільки ж разів знижується ток-

Таблиця 2

Протигіпоксична активність 1-R-Бензімідазоліл-2-оксамінових кислот та їх похідних

Сполука	Доза (1/10 ЛД ₅₀), мг/кг	Нормобарична гіпоксія		Гемічна гіпоксія		Гістотоксична гіпоксія	
		Тривалість життя		Тривалість життя		Тривалість життя	
		хв., М ± σ	%	хв., М ± σ	%	хв., М ± σ	%
III	2,5	57,0 ± 2,3	119*	12,1 ± 0,6	48*	7,3 ± 0,5	84*
III	3,4	59,1 ± 2,7	123*	14,5 ± 0,9	62*	7,8 ± 0,5	90
III	25	53,4 ± 4,8	111	35,4 ± 2,0	151*	8,1 ± 1,5	94
III	15	68,0 ± 4,2	142*	21,4 ± 4,1	92	10,8 ± 1,4	126*
IVa	40	39,3 ± 3,0	82*	23,3 ± 1,1	99	11,7 ± 1,3	151*
IVб	61	40,4 ± 2,7	84*	22,8 ± 3,2	97	13,0 ± 0,4	151*
IVв	160	47,2 ± 4,3	99	20,0 ± 1,9	85*	6,5 ± 1,1	76*
Vб	15	45,9 ± 2,3	96	23,6 ± 3,6	101	6,6 ± 1,6	77*
Vг	21	41,1 ± 3,0	86	18,5 ± 4,6	79*	7,9 ± 1,3	92
Vд	50	46,3 ± 2,2	97	23,0 ± 2,1	98	13,6 ± 1,1	158*
Ve	30	48,9 ± 3,3	101	41,5 ± 4,0	177*	11,9 ± 0,6	138*
Ve	45	43,4 ± 2,9	91	20,3 ± 2,7	87	9,6 ± 1,4	112
Контроль (фізрозчин)		47,9 ± 5,1	100	23,4 ± 3,2	100	8,6 ± 1,3	100
Оксибутират натрію	200	69,0 ± 4,1	144*	—	—	—	—
Метиленовий синій	1	—	—	47,3 ± 1,2	202**	13,8 ± 1,5	160*
Дибазол	20	57,4 ± 5,0	120*	—	—	—	—

* Достовірна відміна від контролю при $P \leq 0,05$.

** Середнє з шести визначень (одна миша вижила).

В умовах гіпоксичної гіпоксії кислоти IIIa - IIIг виявляють протигіпоксичну активність і підвищують тривалість життя тварин у середньому на 24%, а кислота IIIг діє на рівні препарату порівняння—оксибутирату натрію, але в дозі, меншій в 13 разів. Введення складноєфірної групи замість карбоксильної веде до протилежного ефекту—єфіри IV підвищують чутливість до кисневого голодування і в середньому скорочують тривалість життя мишей на 17% відносно контролю та в 1,5 рази у порівнянні з кислотами III. Аміди V виявилися неактивними. В умовах гемічної та тканинної гіпоксії напрямок і сила дії залежать від характеру замісників як в оксамоїльній частині молекули, так і в 1-му положенні ядра бензімідазолу. Кислоти IIIa та IIIб, які виявляють високу токсичність, підвищують чутливість тварин до дії гіпоксанту. Заміна пропільного радикалу бензильним зумовила появу у кислоти IIIв протигіпоксичного ефекту в умовах гемічної гіпоксії (51%). В ряду амідів V подовження алкільного ланцюга радикала R на CH₂-групу збільшує здатність сполук

сичність. Деякі сполуки виявляють протигіпоксичну активність на рівні метиленового синього (препарату порівняння), але у вищих дозах.

Аналіз результатів вивчення антиаритмічної активності сполук досліджуваних груп показав, що на її проявлення основний вплив чинить замісник в оксамоїльній частині молекули. Так, первинні аміди Va та Vд не запобігають загибелі тварин, але заміна атому водню біля оксамідного азоту на пропільний та оксиетильний радикали дозволяє амідам Ve та Ve забезпечити виживання 43 і 86% тварин відповідно. Диметиламінопропіламід Vг не виявив очікуваної антиаритмічної дії. З випробуваних сполук III лише 1-бензилзаміщена кислота IIIв зумовила виживання 57% пацюків, але в дозі, яка відповідає ЛД₅₀ неактивної кислоти IIIa.

Результати дослідження гострої токсичності показують, що на значення ЛД₅₀ впливає природа замісників як в оксамоїльній, так і в гетерильній частинах молекул досліджуваних речовин.

Експериментальна хімічна частина

ІЧ-спектри були виміряні на спектрофотометрі «Specord M-80» у таблетках броміду калію (концентрація речовин 0,5%).

Етиловий ефір 1-пропілбензimidазоліл-2-оксамінової кислоти (IVa).

Спосіб А. До розчину 1,75 г (0,01 моль) 1-пропілбензimidазоліл-2-аміну (II, R = C₃H₇-H) у сухому піридині додають по краплям протягом 30 хв. при перемішуванні та охолоджуванні (0+5⁰C) 1,5 г етоксалілхлориду (0,011 моль). Витримують при кімнатній температурі протягом години, додають рівний об'єм води. Осад відфільтровують і сушать. Перекристалізують з етанолу. Вихід 1,79 г. Аналогічно добувають сполуки IVб і IVв.

Спосіб Б. 1,75 г (0,01 моль) 1-пропілбензimidазоліл-2-аміну нагрівають 12 годин при 70+80⁰C у надлишку діетилоксалату (0,03 моль). Осад розтирають з ефіром, відфільтровують, повторюють цю операцію 2+3 рази. Вихід 1,93 г. Аналогічно добувають ефіри IVб і IVв. Суміш речовин, добутих за способами А та Б, депресії температури плавлення не дає.

1-пропілбензimidазоліл-2-оксамінова кислота (IIIa). До розчину 1,75 г (0,01 моль) 1-пропілбензimidазоліл-2-аміну в 15 мл етанолу додають 0,9 г (0,01 моль) щавлевої кислоти та кип'ятять протягом 3 годин. Реакційну суміш охолоджують, осад відфільтровують, сушать і перекристалізують з етанолу. Вихід 2,03 г. Аналогічно добувають сполуки IIIб - IIIг.

N-пропіламід 1-бутилбензimidазоліл-2-оксамінової кислоти (Ve). До суспензії 2,89 г (0,01 моль) етилового ефіру 1-бутилбензimidазоліл-2-оксамінової кислоти у 2 мл етанолу додають розчин 0,84 г (0,01 моль) пропіламіну в етанолі та залишають на 12 годин. Кристали відфільтровують, сушать і перекристалізують з етанолу або ацетону. Вихід 2,57 г. Аналогічно добувають сполуки Va - Vд і Ve.

N,N-диметиламінопропіламіду 1-пропілбензimidазоліл-2-оксамінової кислоти дигідрохлорид (VI). 1,66 г (0,005 моль) N,N-диметиламінопропіламіду 1-пропілбензimidазоліл-2-оксамінової кислоти (Vг) розчиняють в сухому діоксані та скрізь розчин пропускають хлороводень. Осад відфільтровують і сушать. Вихід 1,50 г (82%). Т.пл. 300⁰C. Вираховано, %N: 17,32. Знайдено, %N: 17,64.

Експериментальна біологічна частина

Гостру токсичність синтезованих сполук визначали за методом Штабського [7] на сірих мишах обох статей масою 18-22 г при внутрішньочеревному способі введення. Смертність ус-

тановлювали через 24 години й оцінювали за тестом середньосмертельної дози ЛД₅₀.

Вивчення протигіпоксичної активності проводили на трьох моделях: 1) гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією; 2) гострої гемічної гіпоксії; 3) гострої гістотоксичної гіпоксії [5]. Нормобаричну гіпоксію з гіперкапнією відтворювали, вміщуючи сірих мишей обох статей масою 18+22 г в гермокамеру об'ємом 250 см³ через 30 хв. після внутрішньочеревного введення досліджуваних сполук. В кожному досліді використовували по 7 тварин. Гемічну та гістотоксичну гіпоксії моделювали на білих мишах масою 15+17 г через 1 годину після внутрішньочеревного введення випробуваних речовин. Гемічну гіпоксію відтворювали підшкірним введенням летальної дози розчину нітриту натрію (300 мг/кг), гістотоксичну гіпоксію—внутрішньочеревним введенням розчину нітропрусиду натрію в дозі 20 мг/кг. Препаратами порівняння були оксibuтират натрію, метиленовий синій та структурний аналог сполук досліджуваного ряду — дибазол в дозах 200, 1 і 20 мг/кг відповідно. В досліді і контрольних групах враховували поведінку і виживання тварин в стані гіпоксії.

Антиаритмічну активність сполук вивчали на моделі гострої шлуночкової аритмії, викликаній хлоридом кальцію [2]. Досліди проводилися на білих пацюках масою 180+250 г, по 7 тварин в кожному досліді. Мерехтіння шлуночків і фібриляції відтворювали введенням у стегену вену наркотизованих етаміналом натрію (40 мг/кг) тварин розчину хлориду кальцію в дозі 200 мг/кг. Досліджувані речовини вводили внутрішньочеревним способом в дозі 1/10 ЛД₅₀ за 30 хв. до введення аритмогену. В контрольній серії тварин, які одержували фізрозчин, після введення хлориду кальцію спостерігали розвиток аритмій, які призводили до загибелі 100% тварин. Про наявність антиаритмічної активності у сполук, які вивчалися, робили висновки на підставі їх здатності запобігати загибелі тварин.

Статистичну обробку цифрового матеріалу проводили за методом вираховування середнього арифметичного (M) і квадратичного (σ) відхилення. Істотність розбіжностей оцінювали за допомогою критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні при P ≤ 0,05 [3].

ВИСНОВКИ

1. Здійснено синтез і вивчено фізико-хімічні властивості 1-R-бензimidазоліл-2-оксамінових кислот, їх етилових ефірів і N-R'-амідів.

2. Установлено, що при обробці N,N-диметиламінопропіламіду 1-пропілбензimidазоліл-2-оксамінової кислоти в етанолі сухим хлороводнем

солеутворення перебігає як за ендциклічним атомом азоту (N^3) бензимидазольного ядра, так і за третинною аміногрупою, сполученою з оксамідним фрагментом молекули.

3. Проведено первинне фармакологічне

дослідження синтезованих сполук, в результаті якого знайдені речовини, котрі виявляють протигіпоксичну й антиаритмічну активність і обговорено закономірності зв'язку між структурою досліджуваних сполук та їх активністю.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барышев М.Д., Введенская Г.П. // *Мед. паразитол.* 1986. № 3. С. 59 - 62.
2. Гацура В.В. *Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ.* М: Медицина, 1974. 143 С.
3. *Применение непараметрических критериев в медико-биологических исследованиях.* Л: Медицина, 1973. - 141 С.
4. Кабачний В.І., Черних В.Ф., Самура Б.А. // *Фармац. журн.* 1988. № 5. С. 29 - 34.
5. Кораблев М.Д., Лукиенко П.И. *Противогипоксические средства.* Минск. 1976. 127 С.
6. Симонов А.М., Кошчиенко Ю.В., Суворова Г.М. и др. // *Химия гетероциклических соединений.* 1976. № 10. С. 1391 - 1395.
7. Штабский Б.М., Гжегоцкий М.И., Гжегоцкий М.Г. и др. // *Гигиена и санитария.* 1980. № 10. С. 49 - 51.
8. Kikigawa Y. // *Synthesis.* 1981. S. 124.
9. Negwer M. *Organisch-Chemische Arzneimittel und Ihre Synonyma.* Berlin: Academic, 1978. Bd. 1/3. S. 13 - 1228.
10. Rastogi R., Sharma S. // *Synthesis.* 1983. S. 861 - 881.

УДК 547.785.5:547.461.2:615.011.4:612.014.46]001.8

Синтез и биологическая активность производных 1-*R*-бензимидазолил-2-оксаминовых кислот

Черных В.П., Чалый Г.А., Королева Е.В., Пичугин В.В., Прусаченко В.К., Снитковский Е.Л., Коваленко С.Н.

Осуществлен синтез 1-*R*-бензимидазолил-2-оксаминовых кислот, их этиловых эфиров и *N-R'*-амидов. Установлено, что обработка *N*, *N*-диметиламинопропиламида 1-пропилбензимидазолил-2-оксаминовой кислоты в этаноле током сухого хлороводорода приводит к его дигидрохлориду. Проведен фармакологический скрининг синтезированных соединений, позволивший выявить вещества, проявляющие противогипоксическую и антиаритмическую активность, а также выяснить некоторые закономерности связи "структура-активность" для соединений изучаемого ряда.

UDC 547.785.5:547.461.2:615.011.4:612.014.46]001.8

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF 1-*R*-2-BENZIMIDAZOLYLOXAMINIC ACID DERIVATIVES

V.P.Chernykh, G.A.Chalyj, E.V.Korolyova, V.V.Pichugin, V.K.Prusachenko, E.L.Snitkovsky, S.N.Kovalenko

The authors obtained a series of new 1-*R*-2-benzimidazolyl-oxaminic acids, their ethyl esters and *N-R'*-amides. As a result of the pharmacological screening some of the compounds examined were found to possess an antihypoxant and antiarrhythmic activities as compared with known preparations. The analysis of the structure-activity relations of the synthesized substances has been also carried out.

МИНИСТЕРСТВО ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ УКРАИНЫ

ДОНЕЦКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

ДОНЕЦКИЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЦЕНТР

1 октября 1993 г. в г. Донецке проводит научную конференцию,

**ПОСВЯЩЕННУЮ 50-ЛЕТИЮ РАЗВИТИЯ
ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ НАУКИ В ДОНБАССЕ**

Адрес оргкомитета: 340098, г. Донецк, просп. Ильича, 16, ДонМИ, тел. 22-58-09