

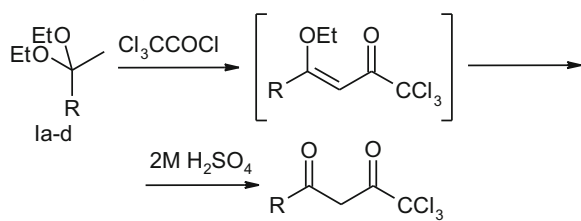
**АНТИНОЦИЦЕПТИВНАЯ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ  
1-ЗАМЕЩЕННЫХ 4,4,4-ТРИХЛОРБУТАН-1,3-ДИОНОВ**<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО "Пермский государственный национальный исследовательский университет", Россия, Пермь; e-mail: lisovn@mail.ru<sup>2</sup> ФБУН "Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения", Россия, Пермь.

Исследована анальгетическая и противомикробная активность 1-замещенных 4,4,4-трихлорбутан-1,3-дионов.

**Ключевые слова:** 1-замещенные 4,4,4-трихлорбутан-1,3-дионы; антиноцицептивная активность; анальгетическая активность.

Введение трихлорметильной группы в органические соединения может привести к значительным изменениям в физических, химических и биологических свойствах последних, что в результате позволяет получить новые соединения, пригодные для фармакологических, агрохимических, аналитических или синтетических целей [1, 2]. Наше внимание привлек ряд 1-замещенных 4,4,4-трихлорбутан-1,3-дионов, которые являются не только прекурсорами для многих гетроциклических соединений, но и проявляют некоторые виды биологической активности [3, 4].

Нами по известному способу реакцией 1-замещенных 1,1-диэтоксиацеталей (Ia – d) [5] с хлорангидридом трихлоруксусной кислоты и последующим кислотным гидролизом были получены 1-замещенные 4,4,4-трихлорбутан-1,3-дионы (IIa – d).

R = 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (a), 4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (b), 2-фурил (c), 2-тиенил (d).

ИК-, ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C спектры полученных соединений IIa – d полностью соответствуют описанными в литературе спектральным данным [1 – 3, 6].

**Экспериментальная биологическая часть**

Оценку антиноцицептивной активности 1-замещенных 4,4,4-трихлорбутан-1,3-дионов IIa – d проводили на белых нелинейных мышах (самцах) массой 20 ± 1 г при болевом, термическом раздражении лап в тесте "горячей пластинки" [7]. Исследуемые вещества вводили внутривентриально в дозе 50 мг/кг в виде взвеси в 2 % крахмальном растворе за 0,5 ч до помещения животных на нагретую до 53,5 °С металлическую пластинку.

Максимальной длительностью латентного периода (период cut off) выбран интервал 40 с, так как нахождение животного на пластинке более длительное время могло привести к ожогу лап и причинению животному физических страданий. Показателем анальгетической активности служила длительность пребывания

животного на "горячей пластинке" до наступления оборонительной реакции — облизывания задних лапок, потряхивания ими, либо попытки выпрыгнуть, измеряемая в секундах. Эффект оценивали через 0,5; 1; 1,5 и 2 ч после введения соединений. В опыте использовали животных с исходным временем наступления оборонительного рефлекса не более 15 с. Каждое соединение испытывали на 6 животных.

Результаты оценивали по увеличению времени наступления оборонительного рефлекса по сравнению с исходными данными. Контрольной группе животных вводили 2 % крахмальную слизь, в качестве препарата сравнения использовали коммерчески доступную субстанцию метамизола натрия ООО "Фармхимкомплект" в дозе 93 мг/кг (ЕД<sub>50</sub>).

Статистическую обработку данных эксперимента проводили с использованием *t* критерия Стьюдента. Эффект считали достоверным при *p* ≤ 0,05 по сравнению с контролем и препаратами сравнения [8].

Подопытных животных содержали в условиях вивария (с естественным режимом освещения; при температуре 22 – 24 °С и относительной влажности воздуха 40 – 50 %) с использованием стандартной диеты (ГОСТ Р 50258-92). Эксперименты проводили в соответствии с правилами качественной лабораторной практики (GLP) при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 1000.4-96), а также правилами и Международными рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1986 г.).

Анализ результатов экспериментов по оценке антиноцицептивной активности показал, что новые производные 1-замещенных 4,4,4-трихлорбутан-1,3-дионов обладают способностью увеличивать время болевого оборонительного рефлекса у мышей (табл. 1). Отмечено, что обезболивающий эффект соединений IIa – d превышает активность препарата сравнения метамизола натрия.

Определение антимикробного действия синтезированных соединений проводили методом двукратных серийных разведений в питательном бульоне [9], содержащем различные концентрации изучаемых соединений.

Таблица 1  
Антиноцицептивная активность соединений Па – d по тесту “горячей пластины”

Соединение	Латентный период оборонительного рефлекса, с	
	90 мин	120 мин
	Па	26,20 ± 2,82
Пб	26,60 ± 3,79	25,40 ± 2,69*
Пс	20,80 ± 0,46	20,10 ± 0,40*
Пд	26,80 ± 1,16	24,20 ± 4,50*
Контроль 2 % крахмальная слизь	–	10,30 ± 0,54
Метамизол натрия	–	16,33 ± 3,02

\* Достоверно по сравнению с контролем  $p < 0,05$ .

В качестве тест-культур использовали условно-патогенные микроорганизмы: грамотрицательные *Escherichia coli* (АТСС 1257); грамположительные *Staphylococcus aureus* (АТСС 906).

Штаммы микроорганизмов культивировали в пробирках на скошенной агаризированной питательной среде. Из суточной агаровой культуры бактерий по оптическому стандарту мутности на 10 МЕ ОСО готовили взвесь. Микробная нагрузка соответствовала  $2,5 \cdot 10^5$  микробных тел в 1 мл. В приготовленные серии разведений исследуемых соединений (растворитель диметилсульфоксид) микробную взвесь вносили по 0,25 мл. После культивирования пробирок при  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  через 20 – 24 ч отмечали факт ингибирования и через 7 сут — наличие бактерицидных свойств. В случае непрозрачности исследуемых растворов соединений проводили обязательный высеv на твердую скошенную питательную среду. Максимально испытанная концентрация соединений соответствовала 1000 мкг/мл. Противомикробную (ингибирующую, бактерицидную) активность оценивали по минимально действующей концентрации.

Результаты исследований показали, что соединения Па и Пб обладают избирательным действием только на грамположительную флору. Ингибирующая концентрация для Па составила 31,2 мкг/мл, а для Пб — 250 мкг/мл. Бактерицидные свойства у Па обнаружены в концентрации 62,5 мкг/мл, а у Пб — в концентрации 250 мкг/мл.

У соединений Пс и Пд обнаружены одинаковые противомикробные свойства, как в отношении *E. coli*, так и в отношении *St. aureus*. Соединения Пс и Пд, ингибируют рост *E. coli* при концентрации < 500 мкг/мл, а гибель вызывают при концентрации 500 мкг/мл. Рост культуры *St. aureus* ингибируется концентрацией

Таблица 2  
Противомикробная активность соединений Па – d

Соединение	Противомикробная активность, мкг/мл			
	<i>E. coli</i>		<i>St. aureus</i>	
	МИК*	МБК**	МИК*	МБК**
Па	–	–	31,2	62,5
Пб	–	–	250,0	250,0
Пс	< 500,0	500,0	31,2	125,0
Пд	< 500,0	500,0	31,2	125,0
Фенилсалицилат [10]	–	–	750	2000
Контроль среды	рост	рост	рост	рост

Примечание: “–” отсутствие противомикробного действия в испытанных концентрациях.

\* МИК — минимальная ингибирующая концентрация; \*\* МБК — минимальная бактерицидная концентрация.

обоих соединений, равной 31,2 мкг/мл, а бактерицидный эффект наступает от воздействия 125 мкг/мл концентрации.

1-Замещенные 4,4,4-трихлорбутан-1,3-дионы, по данным биологических испытаний, являются перспективными объектами для поиска в их ряду новых лекарственных препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ-14-03-96012 урал\_a. и Министерства образования Пермского края (проект МИГ).

## ЛИТЕРАТУРА

1. S. Brondani, N. Zanatta, A. Rosa, M. A. P. Martins, *Tetrahedron Let.*, **43**, 8701 – 8705 (2002).
2. M. A. P. Martins, S. Brondani, V. L. Leidens, et al., *Can. J. Chem.*, **83**, 1171 – 1177 (2005).
3. Патент США US 3636214 А 19720118 (1972). Database: CAPLUS.
4. Патент Китай CN 101711760 А 20100526 (2010). Database: CAPLUS.
5. R. A. Wohl, *Synthesis*, 38 – 40 (1974).
6. A. F. C. Flores, M. J. Martins, L. M. Frigo, et al., *Synthetic Commun.*, **42**, 727 – 737 (2012).
7. А. Н. Миронов, *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Часть первая, Гриф и К, Москва (2012).
8. М. Л. Беленький, *Элементы количественной оценки фармакологического эффекта*, Медицинская литература, Ленинград (1963), сс. 81 – 106.
9. Г. Н. Першин (ред.), *Методы экспериментальной химиотерапии*, Медицина, Москва (1971), с. 109.
10. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая волна, Москва (2010), сс. 950 – 951.

Поступила 02.07.14

## STUDY OF ANTINOCICEPTIVE AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF 1-SUBSTITUTED 4,4,4-TRICHLOROBUTANE-1,3-DIONES

N. Yu. Lisovenko<sup>1\*</sup>, D. G. Chemadurov<sup>1</sup>, S. Yu. Balandina<sup>1</sup>, and R. R. Makhmudov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Perm State University, Perm, 614990 Russia

<sup>2</sup> Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045 Russia

\* e-mail: lisovn@mail.ru

A series 1-substituted 4,4,4-trichloro-1,3-butanedione have been synthesized and studied in respect of their analgesic properties and antimicrobial activity.

**Keywords:** 1-substituted 4,4,4-trichlorobutane-1,3-diones; antimicrobial activity; antinociceptive activity; analgesic properties.