

Н. Ф. Кириллов¹, Р. Р. Махмудов^{1, 2}, П. М. Кашкин¹,
Е. А. Никифорова¹, Л. Г. Марданова¹

СИНТЕЗ, АНТИОЦИЦЕПТИВНАЯ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОМЕТИЛОВЫХ ЭФИРОВ ОКСОДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Россия, 614990, Пермь, ул. Букирева, 15; e-mail: kirillov@psu.ru

² ФГУН "Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения" Россия, Пермь

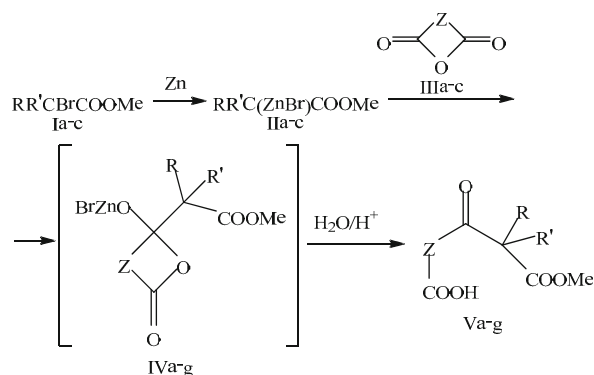
При взаимодействии реактивов Реформатского с ангидридами дикарбоновых кислот образуются монометилвые эфиры оксодикарбоновых кислот, обладающие антиноцицептивной и противовоспалительной активностью.

Ключевые слова: оксодикарбоновые кислоты; метилвые эфиры; антиноцицептивная и противовоспалительная активность; реакция Реформатского; карбоциклические реактивы Реформатского.



Ранее установлено, что в результате взаимодействия реактивов Реформатского с ангидридами дикарбоновых кислот образуются моноэфиры оксодикарбоновых кислот [1, 2]. С целью получения подобных соединений, содержащих циклоалкановый фрагмент и обладающих биологической активностью, нами изучено взаимодействие реактивов Реформатского с ангидридами дикарбоновых кислот. Как показали наши исследования, реактивы Реформатского (IIa – c), полученные из метилвых эфиров 2-бром-2-метилпропановой (Ia), 1-бромциклогексанкарбоновой (Ib) и 1-бромциклопентанкарбоновой (Ic) кислот присоединяются к ангидридам янтарной (IIIa), *цис*-циклогексан-1,2-дикарбоновой (IIIb) и фталевой (IIIc) кислот с образованием промежуточных соединений (IVa – g), которые после разложения реакционной массы с выходами 52 – 71 % дают монометилвые эфиры соответствующих оксодикарбоновых кислот (Va – g). Состав и строение синтезированных соединений (Va – g) подтверждены данными элементного анализа и ИК- и ЯМР ¹H спектроскопии. В ИК-спектрах соединений (Va – g) присутствуют полосы поглощения в области 1726 – 1766 см⁻¹, принадлежащие карбонильным группам сложного эфира, и уширенная полоса в области 1688 – 1714 см⁻¹, принадлежащая карбонилам кетонных и карбоксильных групп, связанных водородными связями, а также широкие полосы поглощения в области 3100 – 3384 см⁻¹, принадлежащие валентным колебаниям связанных водородными связями гидроксильных групп.

Так как карбоновые кислоты и их производные часто проявляют анальгетическую активность [3], была изучена антиноцицептивная активность синтезированных соединений. Данные эксперимента представлены в таблице. Как видно из таблицы, исследуемые соединения обладают антиноцицептивной активностью, которая колеблется от 19,30 до 27,20 с против 10,20 с в контроле. Они вызывают увеличение времени оборотного рефлекса на пике действия более чем на


50 % по сравнению с исходными данными. Антиноцицептивная активность соединений (Vf, g, d, e, a, b, c) превышает на 18, 19, 23, 24, 27, 53, 66 % соответственно антиноцицептивную активность эталонного препарата — метамизола натрия.




I, II: R = R' = Me (a); R + R' = (CH₂)₅ (b); R + R' = (CH₂)₄ (c).

III: Z = (CH₂)₂ (a);  (b);  (c).

IV, V: Z = (CH₂)₂, R + R' = (CH₂)₅ (a); R + R' = (CH₂)₄ (b);

Z = , R + R' = Me (c); R + R' = (CH₂)₅ (d); R + R' = (CH₂)₄ (e);

Z = , R + R' = (CH₂)₅ (f), R + R' = (CH₂)₄ (g).

При сравнении антиноцицептивной активности соединения (Va) с соединением (Vb) обнаружено, что переход от 5- к 6-членному циклу снижает эту активность. Замена циклических фрагментов соединений (Vd, e) на метильные заместители в соединении Vc приводит к увеличению активности. У самых активных соединений Vb и Vc исследована противовоспалительная активность (таблица). Проведенные исследования показали, что эти соединения проявили флоголитическую активность, которая уступает диклофенаку натрия (27 и 30 против 49 %).

Изучение острой токсичности соединений Va – g показало, что их ЛД₅₀ превышает 1500 мг/кг, и по классификации К. К. Сидорова [4] соединения относятся к малотоксичным. Исследованные соединения

менее токсичны при внутривенном введении, чем диклофенак натрия (ЛД₅₀ 74 мг/кг).

Таким образом, исследования показали, что перспективен поиск антиноцицептивной активности в ряду производных монометиловых эфиров оксидикарбоновых кислот.

Экспериментальная химическая часть

ИК-спектры соединений Va – g получены на Фурье-спектрометре Spectrum Two фирмы PerkinElmer в вазелиновом масле. Спектры ЯМР ¹H растворов этих соединений в CDCl₃ записаны на спектрометре Mercury Plus-300 (300 МГц), внутренний стандарт — ГМДС. Данные элементного анализа соответствуют вычисленным.

Общая методика получения соединений (Va – g).

К смеси 7,0 г измельченного в мелкую стружку цинка, каталитического количества сулемы, 0,06 моль ангидрида дикарбоновой кислоты Ша – с, 20 мл безводного бензола, 20 мл безводного этилацетата прибавляют по каплям при перемешивании 0,07 моль бромэфира Ia – с в 20 мл безводного бензола. Реакционную смесь кипятят 2 ч, охлаждают, декантируют, гидролизуют 5 % раствором уксусной кислоты, органический слой отделяют, из водного слоя продукты реакции дважды экстрагируют этилацетатом. После сушки органической фазы безводным сульфатом натрия растворители отгоняют и продукты дважды перекристаллизовывают из толуола.

4-[1-(Метоксикарбонил)циклогексил]-4-оксобутановая кислота (Va). Выход 9,74 г (67 %), *T*_{пл} 48 – 49 °С. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 1743, 1713 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м.д.: 1,30 – 2,16 [м, 10H, (CH₂)₅], 2,61 (т, 2H, CH₂, J 6,3 Гц), 2,77 (т, 2H, CH₂, J 6,3 Гц), 3,72 (с, 3H, CH₃O), 11,34 (уш. с., 1H, COOH). C₁₂H₁₈O₅.

4-[1-(Метоксикарбонил)циклопентил]-4-оксобутановая кислота (Vb). Выход 8,08 г (59 %), *T*_{пл} 55 – 56 °С. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 1742, 1714 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м.д.: 1,59 – 1,74 м, 2,10 – 2,20 [м, 8H, (CH₂)₄], 2,64 (т, 2H, CH₂, J 6,3 Гц), 2,76 (т, 2H, CH₂,

J 6,3 Гц), 3,72 (с, 3H, CH₃O), 11,26 (уш. с., 1H, COOH). C₁₁H₁₆O₅.

2-(3-Метокси-2,2-диметил-3-оксoproпаноил)циклогексанкарбоновая кислота (Vc). Выход 10,92 г (71 %), *T*_{пл} 83 – 84 °С. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 1742, 1701 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м.д.: 1,30 – 2,22 [м, 8H, (CH₂)₄]; 1,38 (с, 3H, Me), 1,44 (с, 3H, Me), 2,60 (м, 1H, CHCOOH), 3,33 (м, 1H, CHCO), 3,71 (с, 3H, OMe), 11,10 (уш. с., 1H, COOH). C₁₃H₂₀O₅.

2-[1-(Метоксикарбонил)циклогексанкарбонил]циклогексанкарбоновая кислота (Vd). Выход 10,31 г (58 %), *T*_{пл} 105 – 106 °С. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 1741, 1700 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м.д.: 1,22 – 2,30 [м, 18H, (CH₂)₅, (CH₂)₄], 2,51 м (1H, CHCOOH), 3,34 м (1H, CHCO), 3,70 с (3H, MeO), 11,42 (уш. с., 1H, COOH). C₁₆H₂₄O₅.

2-[1-(Метоксикарбонил)циклопентанкарбонил]циклогексанкарбоновая кислота (Ve). Выход 8,81 г (52 %), *T*_{пл} 139 – 140 °С. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 1739, 1698 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м.д.: 1,30 – 2,26 [м, 16H, (CH₂)₄, (CH₂)₄], 2,69 (м, 1H, CHCOOH), 3,15 (м, 1H, CHCO), 3,70 (с, 3H, MeO), 10,70 (уш. с., 1H, COOH). C₁₅H₂₂O₅.

2-[1-(Метоксикарбонил)циклогексанкарбонил]бензойная кислота (Vf). Выход 12,37 г (71 %), *T*_{пл} 82 – 84 °С. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3283 (OH), 1726, 1688 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м.д.: 0,75 – 2,40 [м, 10H, (CH₂)₅], 3,85 (с, 3H, OCH₃), 6,02 (уш. с., 1H, COOH), 7,58 т, 7,60 д, 7,69 т, 7,83 д (4H, H_{аром.}, J 7,8 Гц). C₁₆H₁₈O₅.

2-[1-(Метоксикарбонил)циклопентанкарбонил]бензойная кислота (Vg). Выход 10,44 г (63 %), *T*_{пл} 71 – 72 °С. ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3384 (OH), 1766, 1708 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м.д.: 1,06 – 2,43 [м, 8H, (CH₂)₄], 3,83 (с, 3H, OCH₃), 6,92 (уш. с., 1H, COOH), 7,59 т, 7,62 д, 7,69 т, 7,86 д (4H, H_{аром.}, J 7,5 Гц). C₁₅H₁₆O₅.

Экспериментальная биологическая часть

Антиноцицептивную активность синтезированных соединений Va – g изучали на беспородных белых мы-

Антиноцицептивная и противовоспалительная активность монометиловых эфиров оксидикарбоновых кислот

| Соединение | Время оборонительного рефлекса на пике действия, с | Прирост каррагенинового отека в сравнении с исходным фоном, % | Торможение каррагенинового отека в сравнении с контролем, % |
|----------------------------------|--|---|---|
| Va | 20,80 ± 0,93 (<i>p</i> < 0,01) | – | – |
| Vb | 25,00 ± 3,24 (<i>p</i> < 0,001) | 52,38 ± 5,78 (<i>p</i> < 0,02) | 26,6 |
| Vc | 27,20 ± 3,92 (<i>p</i> < 0,001) | 50,19 ± 5,74 (<i>p</i> < 0,01) | 29,6 |
| Vd | 20,10 ± 0,68 (<i>p</i> < 0,01) | – | – |
| Ve | 20,20 ± 0,66 (<i>p</i> < 0,01) | – | – |
| Vf | 19,30 ± 0,58 (<i>p</i> < 0,01) | – | – |
| Vg | 19,50 ± 0,62 (<i>p</i> < 0,01) | – | – |
| Контроль, 2 % крахмальна́я слизь | 10,20 ± 0,37 | 71,34 ± 8,14 | – |
| Метамизол натрия | 16,33 ± 3,02 (<i>p</i> < 0,02) | – | – |
| Диклофенак натрия | – | 36,74 ± 6,50 (<i>p</i> < 0,001) | 48,8 |

p — в сравнении с контролем.

шах-самцах массой 18–22 г по методу термического раздражения (“горячая пластинка” по N. V. Eddy and D. J. Leimbach [5]). В опытах использовали животных с исходным временем наступления оборонительного рефлекса не более 15 с. В качестве препарата сравнения антиноцицептивного действия использовали коммерчески доступную субстанцию метамизола натрия ООО “Фармхимкомплект”. Исследуемые соединения вводили внутривентриально в дозе 50 мг/кг, а метамизол натрия — в дозе 93 мг/кг, соответствующей ED_{50} по тесту “горячая пластинка” [6], за 0,5 ч до помещения мышей на нагретую до 53,5 °С металлическую пластинку. Показателем изменения болевой чувствительности служила измеряемая в секундах длительность пребывания животных на горячей пластине до момента облизывания ими задних лапок. Эффект оценивали через 0,5, 1,0, 2,0 и 2,5 ч после введения соединений, чтобы выбрать пик действия. Каждое соединение испытывали на 10 животных. Контрольным мышам вводили эквивалентное количество 2 % раствора крахмальной слизи.

Противовоспалительную активность изучали на беспородных белых крысах обоего пола массой 180–220 г на модели каррагенинового отека, вызываемого субплантарным введением 0,1 мл 1 % водного раствора каррагенина [6]. Исследуемые соединения вводили внутривентриально за 1 ч до введения флогогена в 2 % растворе крахмальной слизи в дозе 50 мг/кг, препарат сравнения — диклофенак натрия — в дозе 10 мг/кг. Объем стопы измеряли онкометрически до опыта и через 4 ч после введения каррагенина. Расчет прироста отека воспаленной стопы проводили в сравнении с исходным объемом. Торможение отека вычис-

ляли в сравнении с контролем — 2 % крахмальной слизью. Каждое соединение испытывали на 5 животных.

Острую токсичность (LD_{50}) определяли по экспресс-методу В. Б. Прозоровского [7] на белых мышах массой 18–22 г при однократном внутривентриальном введении соединений с учетом гибели животных в течение 24 ч.

Статистическую обработку экспериментального материала проводили с использованием критериев достоверности Стьюдента [8]. Эффект считали достоверным при $p \leq 0,05$.

ЛИТЕРАТУРА

1. К.-Н. Schwarz, K. Kleiner, R. Ludwig, H. Schick, *Chem. Ber.*, **126**, 1247–1249 (1993).
2. К.-Н. Schwarz, K. Kleiner, R. Ludwig, H. Schick, *J. Org. Chem.*, **57**, 4013–4015 (1992).
3. Р. С. Вартамян, *Синтез основных лекарственных средств*, МИА, Москва (2004), сс. 61–81.
4. К. К. Сидоров, *Токсикология новых промышленных химических веществ*, Медицина, Москва (1973), вып. 3, сс. 47–51.
5. N. V. Eddy, D. J. Leimbach, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **107**(3), 385–393 (1953).
6. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, часть 1, Мионов А. Н. (ред.), Министерство здравоохранения и социального развития РФ, ФГБУ “Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва (2012).
7. В. Б. Прозоровский, *Практическое пособие по ускоренному определению среднеэффективных доз и концентраций биологически активных веществ*, НПП — Наука, Санкт-Петербург (1992), сс. 81–106.
8. М. Л. Беленький, *Элементы количественной оценки фармакологического эффекта*, Медгиз, Ленинград (1963), 146 с.

Поступила 27.01.16

SYNTHESIS, ANTINOCICEPTIVE AND ANTIPHLOGISTIC ACTIVITY OF MONOMETHYL ESTERS OF OXODICARBOXYLIC ACIDS

N. F. Kirillov¹, R. R. Makhmudov^{1,2}, P. M. Kashkin¹, E. A. Nikiforova¹, and L. G. Mardanova¹

¹ Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, 614990 Russia

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

* e-mail: kirillov@psu.ru

It is established that the interaction of Reformatsky reagents and dicarboxylic acid anhydrides leads to monomethyl esters of oxodicarboxylic acids possessing antinociceptive and antiphlogistic activity.

Keywords: oxodicarboxylic acids; methyl esters; antinociceptive activity; antiphlogistic activity.