

# ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ ТА ПРОТИСУДОМНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ПОХІДНИХ N-ЗАМІЩЕНИХ АМІНОТІАДІАЗОЛІЛФОСФІНОСУКЦИНІМІДІВ

<sup>1</sup>О.В. Вельчинська, к.хім.н., <sup>1</sup>І.В. Ніженковська, д.мед.н.,

<sup>2</sup>Н.Є. Чумак, <sup>1</sup>Ю.П. Шамрай, <sup>1</sup>В.В. Вільчинська

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, Київ

<sup>2</sup>Інститут екогігієни і токсикології ім. Л.І. Медведя МОЗ України, Київ

**РЕЗЮМЕ:** Здійснено синтез похідних N-заміщених амінотіадиазолілфосфіносукуцинімідів, вивчено їх фізико-хімічні властивості. Будову синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу, ІЧ- та ЯМРІН — спектрів. Чистоту контролювали методами тонкошарової та газорідної хроматографії. Встановлено, що синтезовані сполуки не проявляють протисудомної активності, а потенціюють судомну дію коразолу, викликаючи кровотечі у піддослідних тварин. Значення LD50 синтезованих сполук знаходяться в межах 258 мг/кг — 221 мг/кг. Однак нові N-заміщені амінотіадиазолілфосфіносукуциніміди можуть бути перспективними як потенційно біологічно активні для подальшого вивчення їх фізіологічних властивостей.

Ключові слова: сукуцинімід, синтез, токсичність, протисудомна активність.

**РЕЗЮМЕ:** Осуществлен синтез производных N-замещенных аминотиадиазолилфосфиносукцинимидов, изучены их физико-химические свойства. Строение синтезированных соединений подтверждено данными элементного анализа, ИК- и ЯМРІН — спектров. Чистоту контролировали методами тонкослойной и газожидкостной хроматографии. Установлено, что синтезированные соединения не проявляют противосудорожной активности, а потенцируют судорожное действие коразола, вызывая кровотечения у подопытных животных. Значения LD50 синтезированных соединений находятся в пределах 258 мг/кг — 221 мг/кг. Однако новые N-замещенные аминотиадиазолилфосфиносукцинимиды могут быть перспективными как потенциально биологически активные для дальнейшего изучения их физиологических свойств.

Ключевые слова: сукуцинимид, синтез, токсичность, протисудорожная активность.

**SUMMARY.** Synthesis of derivatives of N-substituted aminothiadiazoilphosphinosuccinimides has been performed and their physical and chemical properties have been studied. The structure of synthesized compounds has been confirmed by data of element analysis, IR- and NMRІН-spectra. The purity has been tested by method of thin-layer and gas-liquid chromatography. It has been determined absents of anticonvulsant action of the synthesized compounds. The increasing of the convulsing action of the corazole and provoking the bleedings for the experimental animals during the investigation were fixed. Meaning of LD50 of the synthesized compounds are between 258 mg/kg — 221 mg/kg. But new N-substituted aminothiadiazoilphosphinosuccinimides can be perspective as potential biological active for future investigations of its physiological properties.

Key words: succinimide, synthesis, toxicity, anticonvulsant activity.

Давно відомими і найбільш перспективними є похідні сукуцинімідів, що мають протисудомну активність, на основі яких були розроблені та успішно застосовуються у медичній практиці такі лікарські засоби: етосуксимід, фенсуксимід, морсуксимід, метсуксимід, пуфемід. Їх призначають при лікуванні малих нападів епілепсії, а також при міоклонічних, пікнолептичних та непікнолептичних приступах у підлітків, які супроводжуються короткочасною втратою свідомості, при короткочасних зомліннях у маленьких дітей, атипових загальних приступах при вторинній епілепсії, а також тяжких комплексних нападах [1].

Сполуки із ряду заміщених малеїнімідів у порівнянні з похідними барбітурової кислоти, гідатоїну та оксазолідин 2,4-діону справляють меншу побічну та токсичну дію, а також їх можна синтезувати за допо-

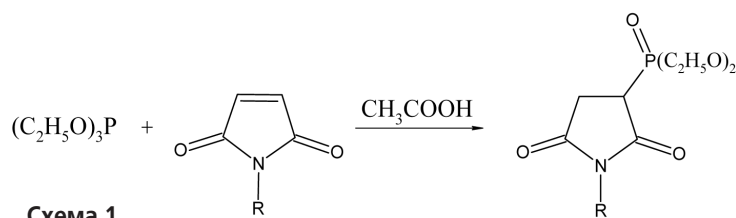
могою відносно простих методів синтезу.

Незважаючи на значні успіхи терапії при лікуванні нападів епілепсії та судом, результати її застосування залишаються незадовільними.

Останнім часом значно зросла кількість досліджень щодо синтезу нових похідних сукуцинімідів, вивчення їхньої біологічної активності. Виявлено залежність і спрямованість фізіологічної дії речовини від будови введеного замісника в молекулу малеїнімідів. Синтезовано похідні сукуцинімідів з анксіолітичним типом дії, які впливають на постсинаптичні рецептори; психот-

ропні агенти та похідні з іншими типами дії [2, 3].

Щодо можливості введення фосфоромісних синтонів до молекули малеїнімідів з утворенням нового похідного сукуцинімідів, то з літературних джерел відомо, що N-фенілмалеїнімід реагує з трифенілфосфіном з утворенням фосфорану. Реакція триметил-, триетилфосфітів з малеїнімідом, N-фенілмалеїнімідом або п-хлорфенілмалеїнімідом у присутності оцтової кислоти проходить за подвійним зв'язком з утворенням 2-діалкоксифосфінілсукуцинімідів (схема 1) [4-5].



Аніліди діалкілфосфористих кислот реагують з п-хінонами з утворенням імідофосфатів, тобто реакція протікає по карбонільній групі хінону. В малеїнімідах електрофільна активність карбонільних груп дещо знижена у порівнянні з п-хінонами внаслідок р-π спряження їх з атомом азоту, тому приєднання протікає за подвійним зв'язком. Як результат реакції N-феніл-, -N-ацетил- і N,N-діалкіламідів діалкілфосфористих кислот із заміщеними та незаміщеними малеїнімідами утворюються відповідні сукциніміди (схема 2).

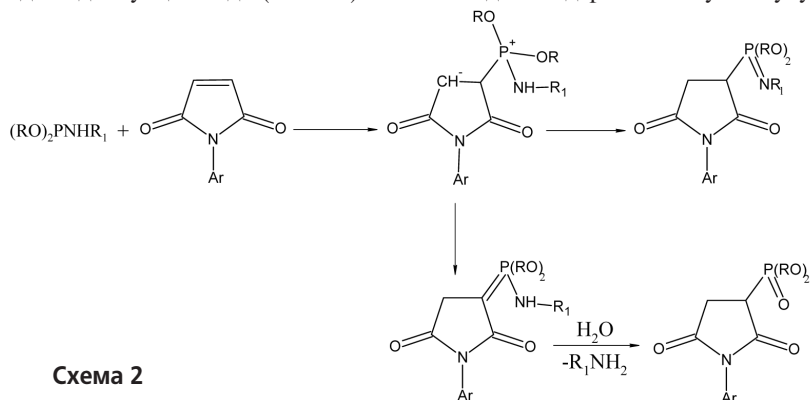


Схема 2

Стабілізація проміжного біполярного іона проходить шляхом міграції протону гетероциклу з утворенням іліду. Повні аміді діалкілфосфористої кислоти реагують з малеїнімідами та заміщеними малеїнімідами з утворенням ілідів (схема 3) [6, 7].

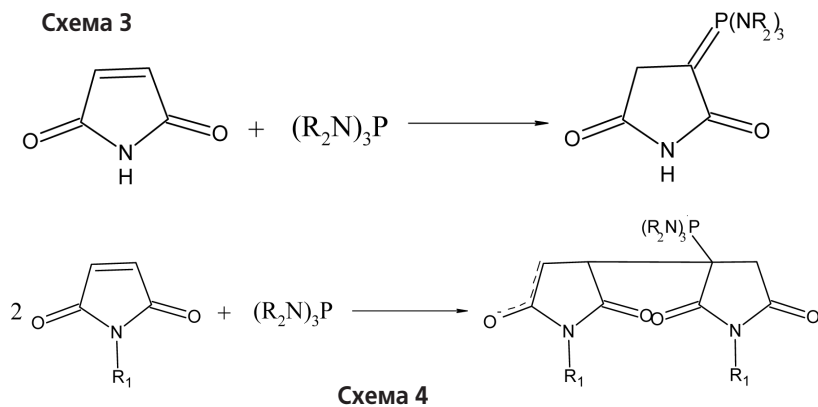


Схема 3

Реакція повних амідів фосфористої кислоти протікає дещо інакше. Вважається, що у цьому випадку до утвореного спочатку реакційно здатного фосфорного іліду приєднується молекула малеїніміду, з утворенням біполярного іона (схема 4).

Реакція циклопентадієнілідентрифенілфосфору з малеїнімідом проходить як нуклеофільне приєднання за подвійним зв'язком (схема 5).

Шляхом С-фосфорилування N,N-діалкіл-N'-гетарил-формамідинів одержано нову сполуку 5-

(2-амінотіазоліл)дифенілфосфін, яка аналогічно може реагувати з малеїнімідами шляхом нуклеофільного приєднання за подвійним зв'язком [8].

5-Фосфорильовані 2-амінотіазоли — маловивчені сполуки, які отримують шляхом фосфорилування

N,N-діалкіл-N'-(2-тіазоліл)формамідинів, є унікальними реагентами, які раніше не досліджувалися в реакціях з гетероциклами [9].

З метою дослідження реакційної здатності п'ятичленних гетероциклів — N-фенілзаміщених малеїнімідів з фосфоровмісними синтонами нами синтезовано нові похідні на основі N-фенілзаміщених малеїнімідів і фосфорильованого амінотіазолу.

Шляхом взаємодії фосфорильованого амінотіазолу (5-(2-амінотіазоліл)дифенілфосфін) з N-заміщеними малеїнімідами у мольному співвідношенні 1:1 синтезовано оригінальні фосфорильовані N-фенілзаміщені сукциніміди 1-7.

Реакції синтезу сполук 1-7 проведено у системі безводних розчинників (бензол — піридин) при температурі 60-80°C та перемішуванні реакційної суміші 4-7 годин з наступною обробкою продуктів реакції розчином етилового спирту у воді (1:1) та безводним бензолом, фільтруванням, сушкою у вакуумі водострумного насоса (схема 6).

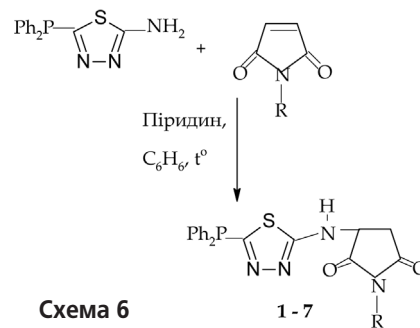


Схема 6

де R = Ph (1); R = PhCH<sub>2</sub>- (2), R = CF<sub>3</sub>Ph- (o-) (3), R = ClPh- (o-) (4), R = ClPh- (p-) (5), R = BrPh- (o-) (6), R = BrPh- (p-) (7)

Оскільки структурних аналогів синтезованих сполук у літературі не описано, препаратом порівняння під час дослідження гострої токсичності (ЛД<sub>50</sub>) був відомий протипухлинний лікарський засіб 5-фторурацил (5-FU). Препарат порівняння відноситься до малотоксичних сполук і має середньотоксичну дозу 375 мг/кг.

Для визначення середньотоксичної дози ЛД<sub>50</sub> синтезованих сполук використано експрес-метод В.Б. Прозоровського [10].

Визначення одного з головних фармакологічних індексів гетероциклічних похідних — гострої токсичності показало, що сполуки 1-7 відносяться до малотоксичних:

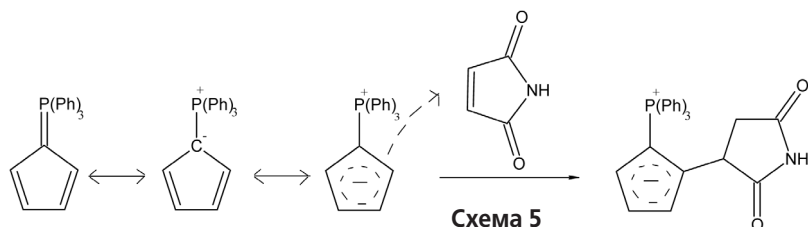


Схема 5

Параметри гострої токсичності похідних N-заміщених амініотіадиазолілфосфіносуццинімідів у порівнянні з 5-фторурацилом

№ п/п	Похідне N-фенілзаміщеного малеїніміду та фосфорильованого амініотіадиазолу	ЛД <sub>50</sub> , мг/кг
1.	N-феніл-3-[5'-(2"-амінотіадиазоліл)дифенілфосфіно]-суццинімід (1)	250
2.	N-бензил-3-[5'-(2"-амінотіадиазоліл)дифенілфосфіно]-суццинімід (2)	234
3.	N-о-трифторметилфеніл-3-[5'-(2"-амінотіадиазоліл)дифенілфосфіно]-суццинімід (3)	258
4.	N-о-хлорфеніл-3-[5'-(2"-амінотіадиазоліл)дифенілфосфіно]-суццинімід (4)	232
5.	N-п-хлорфеніл-3-[5'-(2"-амінотіадиазоліл)дифенілфосфіно]-суццинімід (5)	230
6.	N-о-бромфеніл-3-[5'-(2"-амінотіадиазоліл)дифенілфосфіно]-суццинімід (6)	223
7.	N-п-бромфеніл-3-[5'-(2"-амінотіадиазоліл)дифенілфосфіно]-суццинімід (7)	221
8.	5-FU (контроль)	375

Таблиця 2

Результати дослідження антикоразолової дії похідних N-заміщених амініотіадиазолілфосфіносуццинімідів 2, 3 на білих мишах-самцях

Умови дослід, № сполуки	ЛД <sub>50</sub> , мг/кг	Кількість тварин*	Тварин із синдромом судом, %	Тварин, що загинули, %
Коразол, 100 мг/кг (контроль)		10/10	100	50
N-бензил-3-[5'-(2"-амінотіадиазоліл)дифенілфосфіно]-суццинімід (2), 70,8 мг/кг	234	10/10	100	100
N-о-трифторметилфеніл-3-[5'-(2"-амінотіадиазоліл)дифенілфосфіно]-суццинімід (3), 70,8 мг/кг	258	10/10	100	100

Примітка: кількість тварин з судомами/кількість тварин у досліді

значення ЛД<sub>50</sub> їх коливається між 258 мг/кг та 221 мг/кг. Сполуки 1-7 токсичніші за препарат порівняння.

Можна припустити, що гостра токсичність сполук 1-7 збільшилася у порівнянні із токсичністю препарату порівняння (значення ЛД<sub>50</sub> дорівнює 375 мг/кг) за рахунок введення у склад молекули фрагменту фосфорильованого амініотіадиазолу.

При введенні сполук 1-7 внутрішньоочеревним шляхом у дослідних тварин спостерігалися тонічні судоми впродовж 1-2 годин, блювота, кровотеча з рота, після 3-5 годин — тремор (табл. 1).

Для деяких із нових сполук — аналогів суцциніміду та інших протисудомних лікарських засобів за хімічною будовою проведено первинний лабораторний скринінг з метою визначення їх потенційної біологічної активності, а саме протисудомної дії.

Досліджувані сполуки 1-7 отримано на основі N-фенілзаміщених малеїнімідів та фосфорильованого амініотіадиазолу та відібрано для проведення лабораторного скринінгу згідно із фармакофорними особливостями їх хімічної будови, оскільки синтезовані молекули є гібридами, що утворилися при взаємодії N-фенілзаміщених малеїнімідів та фосфорильованого амініотіадиазолу. Крім фрагмента молекули N-фенілзаміщених малеїнімідів до їх хімічної будови синтетичним шляхом введено фрагмент молекули фосфорильованого амініотіадиазолу. Це робить оригінальні сполуки 1-7 поліфункціональними як у хімічному, так і біологічному значенні, а також хімічно відмінними від відомих лікарських засобів протисудомної дії.

Біологічна активність подібного поєднання фармакофорів у молекулах сполук у літературі не описана.

Протисудомну активність нових сполук N-бензил-3-[5'-(2"-амінотіадиазоліл)дифенілфосфіно]-суццинімід (2), N-о-трифторметилфеніл-3-[5'-(2"-амінотіадиазоліл)дифенілфосфіно]-суццинімід (3) (з різним значенням ЛД<sub>50</sub> 234 мг/кг та 258 мг/кг, відповідно) наступної формули (схема 7): досліджували як антикоразолову дію і проводили на білих нелінійних мишах-самцях вагою 17,0±2,0 г.

Оскільки в молекулах сполук 2, 3 присутні малеїнімідні фрагменти, вони розглядалися як потенційні протисудомні речовини.

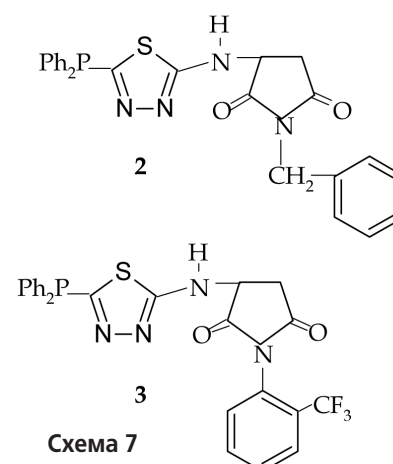
Коразол вводився у дозі 100 мг/кг внутрішньоочеревним шляхом. При введенні цієї дози впродовж першої хвилини після введення коразолу в 100% випадків розвивалися клоніко-тонічні судоми, на максимальному рівні яких 50% піддослідних тварин гинуло.

Розчини сполук 2, 3 вводилися за 30 хвилин до введення коразолу.

Оцінку протисудомної активності синтезованих сполук проведено за показниками % піддослідних тварин із синдромом судом, % піддослідних тварин, що загинуло.

Як показали досліді, сполуки 2, 3 не мають протисудомної дії, більше того, вони потенціюють судомну дію коразолу, що проявляється у підвищенні частоти та часу судомних нападів та збільшенні відсотка тварин, що загинуло (табл. 2).

Таким чином, дія фосфорильованих похідних 2, 3, які є більш токсичними за препарат порівняння 5-FU (значення ЛД<sub>50</sub> їх становить 234 мг/кг та 258 мг/кг, відповідно), призводила до 100%-ї загибелі піддослідних тварин.



**Висновок.** Визначення одного з головних фармакологічних індексів похідних N-заміщених аміно-тіадиазолілфосфіносукцинімідів 1-7 — гострої токсичності показало, що вони відносяться до малотоксичних:

значення  $LD_{50}$  їх коливається між 258 мг/кг та 221 мг/кг. Сполуки 1-7 токсичніші за препарат порівняння у 0,58-0,69 раза.

Для синтезованих сполук 2, 3 протисудомна дія не притаманна,

більше того, вони потенціюють судомну дію коразолу, що проявляється у підвищенні частоти та часу судомних нападів та збільшенні відсотка тварин, що загинули.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ковтуненко В.О. Лікарські засоби з дією на центральну нервову систему / В.О. Ковтуненко. — К.: Наука, — 1974. — С. 87-90.
2. Magid Abou — Gharbia. Polycyclic aryl- and heteroarylpiperazinyl imides as 5-HT<sub>1A</sub> receptor ligands and potential anxiolytic agents: synthesis and structure-activity relationship studies / Abou — Gharbia Magid, R.P. Usha et al. // J. Med. Chem. — 1988. — Vol. 31, № 7. — P. 1382-1385.
3. Richards M.N. (Merrel D., Res. Inst. 67084, Strasbourg, Fr.). Relative potencies of agonists and differential sensitivity to N-ethylmaleimide on muscarinic auto receptors and postsynaptic receptors in rat hippocampus / M.N. Richards // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1990. — Vol. 255, № 1. — P. 83-89.
4. Amagat P. Thermal cycloaddition of maleimides to bicyclic reagents / P. Amagat // Traite de Chem. Organique. — 1941. — Vol. 13. — P. 502-521.
5. Лулукян К.К. Реакции нуклеофильного присоединения к имидам малеиновой кислоты / К.К. Лулукян, С.Г. Агбальян // Арм. хим. журн. — 1987. — Т. 40, № 5. — С. 296-312.
6. Лулукян К.К. О влиянии N-заместителей в малеимидах на направление реакции с енаминами / К.К. Лулукян, Р.Т. Григорян, С.Г. Агбальян // Арм. хим. журн. — 1982. — Т. 35, № 12. — С. 780-785.
7. Лулукян К.К. Реакции первичных и вторичных енаминов с N-замещенными малеимидами / К.К. Лулукян, С.Г. Агбальян // Арм. хим. журн. — 1981. — Т. 34, № 3. — С. 232-235.
8. Ошовский Г.В. Тиадиазолілфосфины с азотсодержащими заместителями / Г.В. Ошовский, Ф.Ф. Толмачев, А.С. Меркулов, А.М. Пинчук // Хим. гетероцикл. соед. — 1997. — № 10. — С.1422-1424.
9. Толмачев А.А. Фосфорилирование N,N-диметил-N'-(2-тиазоліл)формамидина — простой путь к 5-фосфорилированним 2-аминотиазолам / А.А. Толмачев, Г.В. Ошовский, А.С. Меркулов, А.М. Пинчук // Хим. гетероцикл. соед. — 1996. — № 9. — С. 1288-1290.
10. Прозоровский В.Б. Экспресс метод определения средней эффективности дозы и ее ошибки / В.Б. Прозоровский, В.П. Прозоровский, В.М. Демченко // Фармакол. и токсикол. — 1978. — Т. 41, № 4. — С. 407-509.

Надійшла до редакції 07.05.2010 р.