

УДК 547.551.42: 615.25

СИНТЕЗ ТА АНДРОГЕННА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ПОХІДНИХ 4-НІТРО-3-ФЛУОРМЕТИЛАНІЛІНУ

Важливим завданням медицини є лікування патологічних станів (рак передміхурової залози, гірсутизм, та ін.), які виникають в наслідок надлишкової продукції чоловічих статевих гормонів або гормонорецепторної взаємодії. Виходячи з уявлень щодо дії гормонів через рецепторні білки органів та тканин-мішеней, увагу багатьох дослідників в останні роки привернула проблема блокади андрогенних впливів під дією конкурентних антагоністів андрогенів – антиандрогенів. Таким чином, антиандрогени – це клас біологічно активних речовин, які здатні блокувати дію андрогенів в органах-мішенях на рівні гормональних рецепторів.

Антиандрогени за будовою поділяються на стероїдні і нестероїдні. Стероїдні антиандрогени, на відміну від нестероїдних, мають побічну гормональну активність, що обмежує їх застосування. Тому важливе значення має пошук антиандрогенів серед сполук нестероїдної природи і, в першу чергу, серед похідних 4-нітро-3-трифлуорметиланіліну. Раніше показано [1,2], що *N*-(4'-нітро-3'-трифлуорметилфеніл)пропанамід характеризується високою антиандрогенною активністю і під назвою "Флутофарм", впроваджений в практику охорони здоров'я для лікування андрогенозалежних захворювань.

Метод визначення антиандрогенної активності базується на вимірюванні маси додаткових статевих залоз та м'язу levator ani після дії на кастровані тварини досліджуваних речовин на фоні замісної андрогенної терапії, що проводилась. Він є простим і в той же час надійним тестом для скрінінгу нових сполук [3]. Кастрованим нестатевозрілим самцям шурів на фоні замісної терапії вводили флутофарм та похідні 4-нітро-3-трифлуорметиланіліну в дозах 0,5, 1,0, 5,0 і 10,0 мг/кг протягом 7 днів підшкірно. Антиандрогенну активність оцінювали через добу після останнього введення препаратів на основі зміни відносної маси додаткових статевих залоз (у відсотках до аналогічної величини у контрольних шурів).

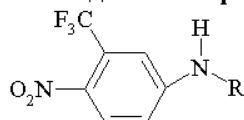
З метою розширення арсеналу потенційних препаратів з антиандрогенною активністю було протестовано 9 сполук. При тестуванні кожної сполуки ставили відповідний контроль для виключення можливих неконтрольованих вікових і сезонних коливань активності ендокринної системи або чуттєвості відповідних тканин організму до дії екзогенних андрогенів. Як правило, в кожній групі використовувалося 5-7 нестатевозрілих кастрованих шурів.

Вивчення біологічних властивостей флутофарму (табл. 1, сполука 1) показало, що дана речовина має виражену антиандрогенну активність. Під час його дії спостерігається повне блокування фізіологічних доз тестостеронпропанату, який вводили з замісною метою кастрованим шурам. У піддослідних шурах маса вентральної простати зменшувалася в 2,6 рази, сім'яні пухирці – в 2,8 рази, м'яз levator ani – в 1,6 рази. Детальне вивчення цієї речовини дозволило рекомендувати її як лікарський засіб (під назвою "Флутофарм") андрогенозалежних станів. З його антиандрогенною активністю порівнювали активність синтезованих речовин.

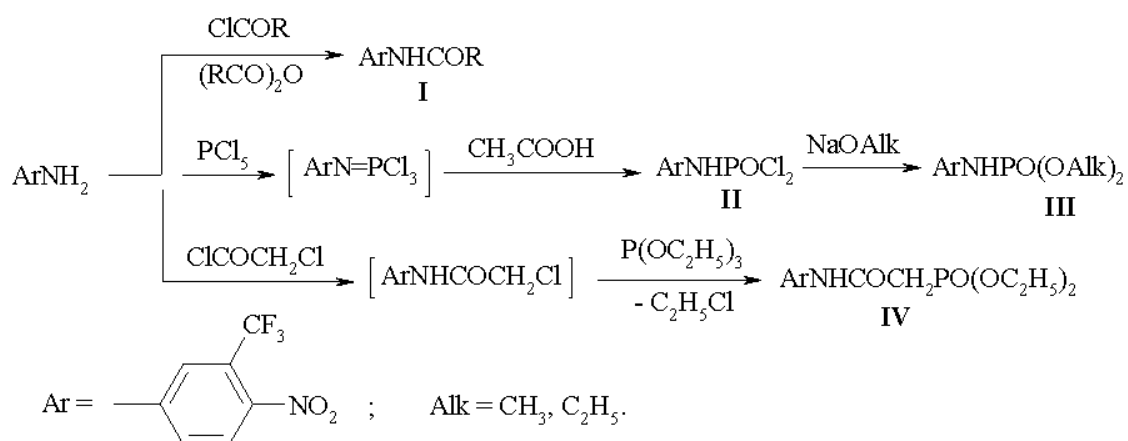
Результати біологічних досліджень синтезованих похідних 4-нітро-3-трифлуорметиланіліну свідчать про те, що їх антиандрогенна активність суттєво залежить від будови алкільного фрагменту молекули. Заміна в молекулі флутофарму атома гідрогену на метильну групу (табл. 1, сполука 2) призводить до різкого зниження антиандрогенної активності. Аналогічна ситуація спостерігається за умов інших модифікацій в алкільного фрагменту молекули флутофарму – подовження за рахунок метиленових груп або введення фрагментів імідів фталевої і 1,8-нафтилдикарбонової кислот, а також діалкілових естерів фосфатної кислоти (табл. 1, сполуки 3-9). Представлені результати доцільно використовувати для синтезу нових нестероїдних антиандрогенів – похідних 4-нітро-3-трифлуорметиланіліну.

Таблиця 1

Антиандрогенна активність похідних 4-нітро-3'-трифлуорметиланіліну



№ сполуки	R	n	Зміна маси органів, % до контролю		
			вентральна доля передміхурової залози	сім'яні пухирці	м'яз levator ani
1	COCH(CH ₃) ₂ (флутофарм)	14	37.7±5.6	35.6±3.8	63.1±7.0
2	COC(CH ₃) ₃	7	41.2±10	53.3±2.3	83.7±4.4
3	CO(CH ₂) ₂ CONHC ₆ H ₄ -4-NO ₂ -3-CF ₃	6	92.7±7.5	69.9±4.3	85.4±5.2
4		7	117.0±7.6	106.6±13.2	93.2±6.0
5		7	96.8±9.5	116.0±12.9	101.1±6.8
6	COCH(C ₆ H ₄ -Cl-4) ₂	6	101.7±6.7	102.1±12.4	80.9±6.9
7	P(O)(OCH ₃) ₂	6	92.1±10.0	71.1±3.6	78.7±4.0
8	P(O)(OC ₂ H ₅) ₂	6	93.0±11.2	74.5±6.0	79.8±5.8
9	COCH ₂ P(O)(OC ₂ H ₅) ₂	7	77.9±10.2	87.9±14.2	95.5±13.7

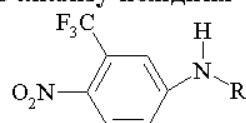


Сполуки (I) утворюються при кип'ятінні в інертному розчиннику протягом 2-6 год. 4-нітро-3-трифлуорметиланіліну з відповідним ангідридом або хлорангідридом карбонової кислоти в присутності каталітичних кількостей безводного хлористого цинку.

N-(4'-нітро-3'-трифлуорметилфеніл)аміди карбонових кислот (I) – світло-жовті кристалічні речовини, добре розчинні в ацетоні, ДМСО, ДМФА, рослинних оліях; погано – в спирті, бензені; нерозчинні – в гексані, воді. Будова амідів (I) підтверджується даними елементного аналізу, ІЧ, ЯМР ¹H та ЯМР ¹⁹F спектроскопії. В ІЧ спектрах цих сполук є інтенсивні смуги поглинання в ділянці 1650-1730 см⁻¹ (C=O) і 3320-3375 см⁻¹ (NH).

Таблиця 2

Виходи, константи і дані елементного аналізу похідних 4-нітро-3'-трифлуорметиланіліну (1-9)



№	R	Вихід, %	Т. топл., °C	Знайдено, %			Формула	Вирахувано, %		
				C	H	N		C	H	N
1	COCH(CH ₃) ₂ (флутофарм)	80	111-112	47.76	4.11	10.11	C ₁₁ H ₁₁ F ₃ N ₂ O ₃	47.83	4.02	10.14
2	COC(CH ₃) ₃	83	132-133	49.34	4.43	9.63	C ₁₂ H ₁₃ F ₃ N ₂ O ₃	49.66	4.51	9.65
3	CO(CH ₂) ₂ CONHC ₆ H ₄ -4-NO ₂ -3-CF ₃	74	236-238	43.81	2.54	11.27	C ₁₈ H ₁₂ F ₆ N ₄ O ₆	43.74	2.45	11.33
4		69	260-262	51.78	2.48	10.63	C ₁₇ H ₁₀ F ₃ N ₃ O ₅	51.78	2.54	10.68
5		64	218-219	58.31	3.35	8.82	C ₂₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₅	58.54	3.39	8.88
6	COCH(C ₆ H ₄ -Cl-4) ₂	92	221-222	53.48	2.83	5.89	C ₂₁ H ₁₃ Cl ₂ F ₃ N ₂ O ₃	53.73	2.78	5.90
7	P(O)(OCH ₃) ₂	72	119-120	34.37	3.19	8.89	C ₉ H ₁₀ F ₃ N ₂ O ₅ P ^b	34.41	3.21	8.92
8	P(O)(OC ₂ H ₅) ₂	69	117-118	38.57	4.09	8.16	C ₁₁ H ₁₄ F ₃ N ₂ O ₅ P ^b	38.61	4.12	8.19
9	COCH ₂ P(O)(OC ₂ H ₅) ₂	87	138-139	40.39	4.09	7.20	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₂ O ₆ P ^a	40.62	4.17	7.29

^a Знайдено %: P 8,06; Вирахувано %: P 8,07. ^b Знайдено %: P 9,86; Вирахувано %: P 10,04. ^c Знайдено %: P 9,01; Вирахувано %: P 9,05.

Експериментальна хімічна частина

ІЧ спектри записані на спектрофотометрі UR-20 в таблетках з KBr, спектри ЯМР ¹H – на спектрометрі Varian VXR-300 з робочою частотою 300 МГц при 25°C, внутрішній стандарт TMS, а спектри ЯМР ¹⁹F – на спектрометрі Varian VXR-200 з робочою частотою 188.143 МГц, внутрішній стандарт CFC₃. Індивідуальність синтезованих сполук встановлювали методом ТІХ на пластинках Silufol UV-254 (елюент – хлороформ : діетиловий етер, 5:1).

N-(4'-нітро-3'-трифлуорметилфеніл)аміди карбонових кислот (I). Суміш 0.5 моль 4-нітро-3-трифлуорметиланіліну, 0.65 моль ангідриду або хлорангідриду відповідної карбонової кислоти, 0.5 г безводного ZnCl₂ в 300 мл безводного бензену кип'ячать 2-6 год. до припинення (у випадку хлорангідридів кислот) виділення HCl. Осад, який утворився після охолодження, відфільтровують, сушать і кристалізують з етанолу або бензену.

Дихлорангідрид 4-нітро-3-трифлуорметиламідофосфатної кислоти (II). Суміш 0.05 моль 4-нітро-3-трифлуорметиланіліну, 0.055 моль пентахлориду фосфору в 20 мл сухого CCl₄ кип'ячать до припинення виділення HCl (2,5 год.). Після упарювання розчинника до залишку додають 50 мл сухого бензену і по краплях при перемішуванні 0.055 моль льодяної оцтової кислоти. Осад, що випав, відфільтровують і кристалізують з бензену. Вихід 90%, Т. топл. 105-106°C. Знайдено, %: C 25.93; H 1.20; N 8.60; P 9.52. C₇H₄Cl₂F₃N₂O₃P. Вирахувано, %: C 26.03; H 1.25; N 8.67; P 9.56.

Аміди діалілових естерів фосфатної кислоти (III, сполуки 6, 7). До 0.01 моль сполуки (II) в 20 мл абсолютного спирту додають 0.012 моль відповідного алкоголяту натрію і перемішують при кімнатній температурі протягом 2 год. Реакційну суміш виливають в льодяну воду, підкислюють до слабкої кислотної реакції. Утворений осад відфільтровують, сушать і кристалізують з суміші бензен-гексан (1:1). Спектр ЯМР ¹H сполуки 6, ДМСО-d₆, δ, м.ч.: 1.28 м (6H, 2CH₃), 3.08-3.15 д (2H, OCH₂), 4.08 м (2H, CH₂P), 8.26-8.24 м (3H, C₆H₃), 10.91 с (1H, NH). Спектр ЯМР ¹⁹F: -59.02 с (CF₃-C₆H₃).

О,О-Діетиловий естер 2(4'-нітро-3'-трифлуорметил)аніліно-2-оксоетилфосфатної кислоти (IV, сполука 9) Кип'ячать суміш 0.01 моль N-(4'-нітро-3'-трифлуорметилфеніл)хлорацетаміду [4], 0.012

моль триетилфосфіту в 30 мл хлоробензену до припинення виділення хлористого етилу (~2,5 год.). Розчинник відганяють у вакуумі, залишок кристалізують з бензену. Спектр ЯМР ¹H, ДМСО-d₆, δ, м.ч.: 3.70-3.74 д (6H, 2CH₃), 8.06-8.09 м (3H, C₆H₃), 9.16-9.19 д (1H, NH). Спектр ЯМР ¹⁹F: 58.89 с (CF₃-C₆H₃).

Експериментальна біологічна частина

Дослідження біологічної активності синтезованих сполук проводили в дослідах на кастрованих нестатевозрілих самцях шурів Вістар, масою 50-60 г, які отримали замісну терапію тестостерону пропіонатом в дозі 200 мкг на 1 кг маси тіла в день. Піддослідні тварини одержували додатково тестовані сполуки із розрахунку 10 мг/кг в день. Тестостерону пропіонат і сполуки, які вивчалися, вводилися підшкірно впродовж 7 днів відповідно у вигляді 0.01 % і 0.5% розчинів, приготовлених на суміші бензил-бензоат-кісточкове масло (1:5). Антиандрогенну активність препаратів визначали за величиною зниження відносної маси вентральної долі передміхурової залози, сім'яних пухирців і м'язу levator ani (в міліграмах на 100 г маси тіла) і оцінювали у відсотках до маси цих органів у шурів, що одержали замісну терапію.

РЕЗЮМЕ

Синтезовано ряд нових *N*-арилзаміщених амідів карбонових кислот та вивчено їх антиандрогенні властивості. Найбільшою антиандрогенною активністю характеризується 2-метил-*N*-(4'-нітро-3'-трифлуорметилфеніл)пропанамід (флутофарм), який впроваджено в практику охорони здоров'я для лікування андрогенозалежних захворювань.

РЕЗЮМЕ

Синтезирован ряд новых *N*-арилзамещенных амидов карбоновых кислот и изучены их антиандрогенные свойства. Наибольшей антиандрогенной активностью обладает 2-метил-*N*-(4'-нитро-3'-трифторметилфенил)пропанамид (флутофарм), который внедрен в практику здравоохранения для лечения андрогензависимых заболеваний.

SUMMARY

A number of new *N*-aryl-substituted amides of carbon acids have been synthesized, and their antiandrogenic properties studied. 2-methyl-*N*-(4'-nitro-3'-trifluoromethylphenyl) propane amide (Flutofarm) has the highest antiandrogenic activity, and this preparation has been introduced in medical practice for the treatment of androgen-dependent disorders.

ЛІТЕРАТУРА

1. Резников А.Г., Варга С.В. Антиандрогены. М.: Медицина, 1988. - 208 с.
2. Резников А.Г., Варга С.В. Антиандрогены // Пробл. эндокринологии. - 1979. - № 3. - С.79-86.
3. Dorfman R.I. Anti-androgenic substances // Methods in Hormone Research / Ed. By R.I. Dorfman. New York, London: Academic Press, 1962. - Vol. 2. - P.315-323.
4. Бальон Я.Г., Варга С.В., Резников А.Г. и др. Синтез и антиандрогенная активность замещенных карбоксанилидов // Хим. фарм. журн. - 1987. - Т.21, № 6. - С.681-685.

Поступило до редакції 31.03.2008 р.

*М.В. Стасевич, С.І. Сабат, Р.Я. Мусянович, В.П. Новіков
Національний університет „Львівська політехніка”*

УДК 547-304.9-32-304.2

СИНТЕЗ КОНДЕНСОВАНИХ S-, N-ВМІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СИСТЕМ НА ОСНОВІ 2-АМІНО-4,9-ДІОКСО-4,9-ДИГІДРОНАФТО[2,3-*b*]ТІОФЕН-3-ЕТИЛКАРБОКСИЛАТУ

Оксазинові та піримідинові похідні характеризуються високою біологічною активністю, тому знайшли застосування як фармакологічні препарати. Значний інтерес до похідних 1,4-нафтохінону зумовлений їх високою реакційною здатністю та можливістю синтезу на їх основі нових різноманітних біологічно активних сполук [1-5]. Враховуючи вище вказані властивості хіноїдного та тіофенового циклів у поєднанні з оксазіліноном, можна спрогнозувати розширення спектру біологічної дії або синергізму властивостей. [7-12].

Метою даної роботи був синтез нових гетероциклічних систем на основі 2-аміно-3-карбетоксинафто[2,3-*b*]тіофен-4,9-діону [13], а саме – оксазинтрионів, піримідинтрионів та піримідинтететраону.