

УДК 547.551.42: 615.25

СИНТЕЗ И АНТИАНДРОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ N-(4-НИТРО-3-ТРИФТОРМЕТИЛФЕНИЛ)-2-ГИДРОКСИ- 2-МЕТИЛАМИДА ПРОПИОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕГО О-АЦИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ

Я.Г.Бальон, А.В.Симуров

Государственное учреждение “Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко АМН Украины”,
04114, г. Киев, ул. Вышгородская, 69. E-mail: Alsimur@gmail.com

Ключевые слова: амиды; ацильные производные; простата; антиандрогенная активность; флутофарм

Предложен метод получения N-(4-нитро-3-трифторметилфенил)-2-гидрокси-2-метиламида пропионовой кислоты и его O-ацильных производных. Изучена антиандрогенная активность синтезированных соединений.

THE SYNTHESIS AND ANDROGENIC ACTIVITY OF N-(4-NITRO-3-TRIFLUOROMETHYLPHENYL)-2-HYDROXY-2-METHYLAMIDE OF PROPIONIC ACID AND ITS O-ACYLIC DERIVATIVES

Ya. G. Balyon, A. V. Simurov

The method for preparation of N-(4-nitro-3-trifluoromethylphenyl)-2-hydroxy-2-methylamide of propionic acid and its O-acylic derivatives has been proposed. The androgenic activity of the compounds obtained has been investigated.

СИНТЕЗ І АНТИАНДРОГЕННА АКТИВНІСТЬ N-(4-НИТРО-3-ТРИФЛУОРОМЕТИЛФЕНІЛ)-2-ГІДРОКСИ-2-МЕТИЛАМІДУ ПРОПІОНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ЙОГО О-АЦИЛЬНИХ ПОХІДНИХ

Я.Г.Бальйон, О.В.Сімуров

Запропоновано метод одержання N-(4-нітро-3-трифлуорометилфеніл)-2-гідрокси-2-метиламіду пропионової кислоти і його O-ацильних похідних. Вивчена антиандрогенна активність синтезованих сполук.

Важнейшим достижением молекулярной биологии и экспериментальной эндокринологии конца XX столетия явилось открытие рецепторных белков, обеспечивающих распознавание, специфическое связывание и транспорт гормона в клеточное ядро для реализации действия на матричном уровне. Благодаря этому были заложены основы для создания новых представлений о молекулярных механизмах действия стероидных гормонов, патогенеза эндокринных заболеваний, подходах к их лечению и поиску новых лекарственных средств [1-4].

Известно, что мужские половые гормоны тестостерон, дигидротестостерон (андрогены) контролируют морфологическую и функциональную дифференциацию органов системы размножения, рост и созревание организма, появление вторичных половых признаков у кастрированных животных. Они управляют поведением животных и человека, процессами воспроизводства, оказывают выраженное влияние на кости, мышцы, а также на рост волос, секрецию кожного жира, кроветворение и другие функции, не связанные с репродукцией. Кроме этого, усиливают биосинтез нуклеиновых кислот и белков, в том числе и ферментов, принимающих участие в регуляции

физиологических функций. Естественно, что нарушение биодинамики этих основных гормонов может стать причиной поражения различных систем и тканей организма. Так, при гиперандрогенизации организма возникает ряд заболеваний (рак предстательной железы, интерсексуальные аномалии развития, преждевременное половое созревание мальчиков, герсутизм, алопеция, угреватость и себорея у женщин, гиперсексуальность у мужчин), что диктует необходимость поиска средств их эффективной терапии. В первую очередь это относится к соединениям с антиандрогенной активностью, т.е. способных блокировать проявление специфического действия мужских половых гормонов в организме [1, 5].

До недавнего времени было известно, что антиандрогенный эффект проявляют только природные вещества (эстрогены, прогестины, кортикостероиды). Однако проявление основных гормональных свойств ограничивает возможность их широкого применения в качестве антагонистов андрогенов.

В последнее десятилетие была выявлена антиандрогенная активность у ряда синтетических производных прогестерона [ципротерон, ципротеронацетат (андрокур)], тестостерона (бенортерон) и

Таблица 1

N-(4-Нитро-3-трифторметил)-2-гидрокси-2-метиламид пропионової кислоти
и его O-ацильные производные

R	Выход, %	Т.пл., °С	Найдено, %			Формула	Вычислено, %		
			С	Н	N		С	Н	N
H	72	152-153*	45,09	3,69	9,52	C ₁₁ H ₁₁ F ₃ N ₂ O ₄	45,20	3,76	9,58
COCH ₃	87	95-96	46,80	4,01	8,19	C ₁₃ H ₁₃ F ₃ N ₂ O ₅	46,71	3,92	8,38
COC ₂ H ₅	85	91-92	48,13	4,30	8,05	C ₁₄ H ₁₅ F ₃ N ₂ O ₅	48,28	4,34	8,04
COC ₃ H ₇ -н	82	92-93	49,60	4,71	7,70	C ₁₅ H ₁₇ F ₃ N ₂ O ₅	49,73	4,73	7,72
COC ₆ H ₁₃ -н	63	85-86	53,40	5,67	7,05	C ₁₈ H ₂₃ F ₃ N ₂ O ₅	53,46	5,73	6,93
COC ₈ H ₁₇ -н	52	89-90	55,42	6,19	6,47	C ₂₀ H ₂₇ F ₃ N ₂ O ₅	55,55	6,29	6,48
COC ₁₅ H ₃₁ -н	51	83-84	61,08	7,80	5,23	C ₂₇ H ₄₁ F ₃ N ₂ O ₅	61,12	7,79	5,28
COCF ₃	81	94-95	40,21	2,59	7,21	C ₁₃ H ₁₀ F ₆ N ₂ O ₅	40,22	2,60	7,22
P(O)(OC ₂ H ₅) ₂	75	масло**	41,98	4,68	6,49	C ₁₅ H ₂₀ F ₃ N ₂ O ₇ P****	42,05	4,67	6,51
P(O)(OC ₃ H ₇ -н) ₂	80	масло	44,69	5,25	6,09	C ₁₇ H ₂₄ F ₃ N ₂ O ₇ P****	44,74	5,30	6,14
P(O)(OC ₅ H ₁₁ -н) ₂	77	масло	49,14	6,14	5,38	C ₂₁ H ₃₂ F ₃ N ₂ O ₇ P*****	49,61	6,20	5,42

* - 152-153,5 [6];

** - Спектр ЯМР ¹H δ, м.д.: 1,26-1,31 т (6H, 2 CH₃), 3,99-4,21 м (4H, 2 CH₂), 1,52 с (6H, 2 CH₃), 7,26-8,10 (3H, C₆H₃), 9,45 с (1H, NH). Спектр ЯМР ¹⁹F: -66,3 с (CF₃-C₆H₃). Спектр ЯМР ³¹P: 2,38 с;

*** - Найдено, %: P - 7,17. Вычислено, %: P - 7,23;

**** - Найдено, %: P - 6,82. Вычислено, %: P - 6,79;

***** - Найдено, %: P - 5,97. Вычислено, %: P - 6,04.

андростана. Однако присущие этим препаратам побочные гормональные эффекты (андрогенный, гестагенный, эстрогенный) создают трудности и ограничения при их применении в течение продолжительного времени.

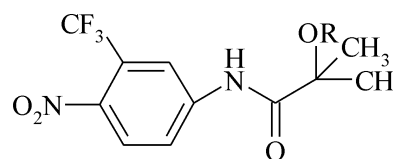
В идеале антиандроген должен обладать высоким сродством к рецепторам андрогенов и низкой токсичностью, не оказывать побочного действия. Этим требованиям в наибольшей мере отвечает нестероидный антиандроген N-(4-нитро-3-трифторметилфенил)-2-метиламид пропионової кислоты, который под названием “Флутофарм” (“Фармак”, Киев) внедрен в практику здравоохранения для лечения андрогензависимых состояний. С антиандрогенной активностью этого препарата сравнивают активность других его аналогов.

С целью расширения арсенала веществ, проявляющих антиандрогенную активность, нами синтезированы аналоги флутофарма **1-11** (табл. 1), содержащие у β-углеродного атома алкильного фрагмента гидроксильную, ацилокси- и диалкоксифосфорильную группы.

Известен способ получения с 15% выходом соединения **1** нагреванием (180-190°C) в течение 20-24 ч 4-нитро-3-трифторметиланилина с α-гидроксиизомасляной кислотой [6]. Нами разработан более эффективный способ синтеза данного соединения — гидролизом соответствующего бромпроизводного амида пропионової кислоты в присутствии углекислого калия в растворе ДМФА.

При взаимодействии соединения **1** с ангидридами или хлорангидридами карбоновых кислот, а

также с диалкилхлорфосфитами легко образуются его O-ацильные производные.



Способ определения антиандрогенной активности основан на измерении массы добавочных половых желез и мышцы levator ani после воздействия на кастрированных животных исследуемых веществ на фоне производимой заместительной андрогенной терапии. Метод простой и надежный для скрининга новых соединений [7].

Результаты биологических испытаний (табл. 2) показали, что наиболее выраженными антиандрогенными свойствами обладают соединения **1** и **3**, антиандрогенная активность которых превышает активность флутофарма на 30-40%. Другие соединения **2, 4-8** проявляют активность, сравнимую с таковой флутофарма при расчете на молекулярную массу соединений. Антиандрогенные свойства соединений **4-8** несколько снижаются с возрастанием молекулярной массы вещества. Возможно, это связано с худшей всасываемостью препаратов желудочно-кишечным трактом вследствие больших размеров молекул или более медленным их метаболизмом в печени и освобождением за единицу времени меньшего количества активного продукта. Отличительным свойством соеди-

Таблица 2

Антиандрогенная активность N-(4-нитро-3-трифторметил)-2-гидрокси-2-метиламида пропионовой кислоты и его O-ацильных производных

R	n*	Масса органов в % к контролю		
		вентральная простата	семенные пузырьки	мышца levator ani
Флутофарм (OR = H)	14	37,7±5,6	35,6±3,8	63,1±7,0
H	6	21,9±3,0	24,8±3,1	70,6±2,3
COCH ₃	5	37,6±4,4	32,5±5,1	66,8±1,5
COC ₂ H ₅	6	28,8±2,4	25,8±7,1	71,0±3,9
COC ₃ H ₇ -H	6	42,0±3,1	36,8±2,6	63,0±3,9
COC ₆ H ₁₃ -H	6	60,0±7,9	52,2±9,3	89,3±9,6
COC ₈ H ₁₇ -H	5	79,5±11,4	68,5±11,8	99,6±9,4
COC ₁₅ H ₃₁ -H	6	68,6±13,8	71,5±3,8	106,0±2,1
COCF ₃	6	64,5±7,5	45,7±5,8	57,4±4,4
P(O)(OC ₂ H ₅) ₂	8	14,4±1,9	9,7±0,7	22,1±1,6
P(O)(OC ₃ H ₇ -H) ₂	20	10,2±11,5	9,0±0,31	18,4±0,6
P(O)(OC ₅ H ₁₁ -H) ₂	7	16,7±1,7	9,2±0,5	19,8±0,8

*n - количество крыс

нений **2-8** является более высокая, чем у флутофарма и соединения **1** растворимость в растительных маслах. В перспективе это может позволить создать более эффективные лекарственные формы — масляные растворы антиандрогенов для парентерального введения и суппозитории.

Очень высокой антиандрогенной активностью обладают диалкиловые эфиры фосфорной кислоты **9-11** (табл. 2). Такое действие объясняется, очевидно, тем, что предстательная железа, обладая высокой фосфатной активностью, способствует более интенсивному накоплению препарата внутри клеток железы. В дальнейшем в результате метаболизма легко образуются соединения **1**, способные взаимодействовать с внутриклеточными рецепторами и оказывать антиандрогенный эффект. На основе соединений **1** и **10** разрабатываются лекарственные формы (таблетки, свечи, мази, растворы) для лечения андрогенозависимых заболеваний.

Экспериментальная часть

ИК-спектры соединений **1-8** записаны на спектрофотометре UR-20 в таблетках KBr, **9-11** — в вазелиновом масле. Спектры ЯМР ¹H зарегистрированы на спектрофотометре Varian VXR-300 (300 МГц, DMSO-d₆, внутренний стандарт — TMC). Спектры ЯМР ¹⁹F записаны на приборе Varian VXR-200 (183,143 МГц, внутренний стандарт — CFCl₃). УФ-спектры измеряны на спектрофотометре Shimadzu UV-3100 в этаноле. ТСХ проведена на пластинках Silufol UV-254, элюент — хлороформ/диэтиловый эфир, 5/1.

N-(4-Нитро-3-трифторметилфенил)-2-гидрокси-2-метиламид пропионовой кислоты (1, табл. 1). Смесь 0,5 Моль 4-нитро-3-трифторметиланилина, 0,55 Моль хлорангидрида 2-бром-2-метилпропионовой кислоты, 0,5 г безводного ZnCl₂ в 200 мл сухого бензола кипятят до прекращения выделения хлористого водорода (~3,5 ч). Охлаждают, выпавший осадок отфильтровывают, промывают гексаном, сушат. К раствору 0,2 Моль N-(4-нитро-3-трифторметилфенил)-2-бром-2-метиламида пропионовой кислоты в 400 мл диметилформамида при перемешивании прибавляют небольшими порциями раствор 0,3 Моль прокаленного углекислого калия в 50 мл воды. Смесь нагревают при 130-135°C в течение 2 ч. После охлаждения смесь выливают в 1,3-1,5 л ледяной воды. Выпавший твердый продукт отфильтровывают, промывают водой до нейтральной реакции промывных вод, сушат и кристаллизуют из бензола или 70%-ного спирта.

ИК-спектр, (ν, см⁻¹): 1640 (C=O), 3280 (NH), 3460 (OH).

УФ-спектр 0,02% раствора в спирте имеет два максимума при 225 и 293 нм.

Спектр ЯМР ¹H δ, м.д.: 1,38 с (6H, 2CH₃), 5,81 с (1H, OH), 8,12 д, 8,30 д (2H, C₆H₃), 8,55 с (1H, C₆H₃), 10,46 (1H, NH).

Спектр ЯМР ¹⁹F: -58,90 с (CF₃-C₆H₃).

N-(4-Нитро-3-трифторметилфенил)-2-ацилокси-2-метиламиды пропионовой кислоты (2-8, табл. 1). К раствору 0,01 Моль соединения **1** в 30 мл тетрагидрофурана прибавляют 0,012 Моль ангидрида или хлорангидрида карбоновой кислоты. Реакционную смесь кипятят 2 ч, охлаждают и выливают в ледяную воду. Выпавший осадок отфильтровывают, сушат и кристаллизуют из 70%-ного метанола.

ИК-спектр, (ν, см⁻¹): 1680-1710 (C=O), 1150-1160 (C-O), 1520-1550 (амид-II), 3360-3370 (NH).

O,O-Диалкил-O-[1-оксо-1-(4-нитро-3-трифторметилфениламино)]-2-метилпропилфосфаты (9-11, табл. 2). К раствору 0,02 Моль соединения **1** в 60 мл абсолютного тетрагидрофурана, охлажденного до -90°C, в атмосфере аргона прибавляют 0,025 Моль бутиллития в 10 мл гексана и 5 мл гексаметилфосфортриамида. Реакционную смесь перемешивают 10 мин и прибавляют 0,02 Моль диалкилхлорфосфата в 10 мл тетрагидрофурана, перемешивают 2 ч при -85°C, а затем температуру повышают в течение 12 ч до 20-25°C. Растворитель удаляют в вакууме водоструйного насоса, к остатку добавляют 60 мл насыщенного раствора бикарбоната натрия, экстрагируют хлористым метиленом, промывают водой, сушат сульфатом натрия, отгоняют растворитель, остаток растворяют в 30 мл эфира и осаждают гексаном. Выпавший маслообразный светло-желтый продукт сушат при 40-50°C в вакууме масляного насоса до постоянного веса.

ИК-спектр, (ν , cm^{-1}): 1640-1660 (C=O), 1230-1250 (P=O), 1080, 1050 (P-O-C), 3280-3330 (NH).

Выводы

1. Предложен альтернативный метод получения N-(4-нитро-3-трифторметилфенил)-2-гидрокси-2-метиламида пропионовой кислоты гидролизом N-(4-нитро-3-трифторметилфенил)-2-бром-2-метиламида пропионовой кислоты в присутствии углекислого калия в растворе ДМФА.

2. Взаимодействием N-(4-нитро-3-трифторметилфенил)-2-гидрокси-2-метиламида пропионовой кислоты с ангидридами или хлорангидридами карбоновых кислот, а также с диалкилхлорфосфатами получены O-ацильные производные.

3. Показано, что N-(4-нитро-3-трифторметилфенил)-2-гидрокси-2-метиламид пропионовой кислоты и некоторые его O-ацильные производные проявляют антиандрогенную активность, которая на 30-40% выше, чем у лекарственного препарата "Флутофарм".

Литература

1. Резников А.Г., Варга С.В. Антиандрогены. — М.: Медицина, 1988. — 208 с.
2. Сергеев П.В., Шимановский Н.А. Рецепторы. — М.: Медицина, 1987. — 400 с.
3. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний. — М.: Медицина, 2002. — 752 с.
4. Физиология человека / Под ред. В.М.Покровского, Г.Ф.Коротько. — М.: Медицина, 2003. — 656 с.
5. Варга С.В., Резников А.Г., Бальон Я.Г. и др. // Пробл. эндокринологии. — 1983. — №2. — С. 67-70.
6. Пат. 3875229 (1975). США // РЖХим. — 1976. — 3 О55 П.
7. 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.

Надійшла до редакції 03.07.2008 р.