



УДК 547.461.5:612.015.6

СИНТЕЗ ДВУХ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АЦЕТАНИЛИДА И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ВЛИЯНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ВИТАМИНОВ-АНТИОКСИДАНТОВ (А, Е, С) И МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС

© 2005 г. Ф. Каратас, А. Кансиз, Х. Кара*, М. Каратепе, М. Копарир[#]

*Химический факультет, колледж научного отдела**

Школы наук о здоровье Элазига, Университет Фирата, 23119, Элазиг, Турция

Поступила в редакцию 10.12.2004 г. Принята к печати 14.04.2005 г.

Синтезированы и охарактеризованы два соединения, содержащие фрагмент ацетанилида – 2,2'-тиобис[*N*-(4-нитрофенил)ацетамид] и 2,2'-тиобис[*N*-(4-хлорфенил)ацетамид]. Показано, что эти соединения вызывают значительный окислительный стресс у крыс.

Ключевые слова: ацетанилид, витамины (А, Е, С), антиоксиданты, МДА.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что производные ацетанилида обладают широким спектром биологического действия на живые организмы, проявляя анестезирующие [1], жаропонижающие [2, 3], противовоспалительные [4–6] и антибактериальные [7] свойства. Такие производные, содержащие фрагмент ацетанинофена, проявляют также седативный эффект, являются антагонистами гистаминовых рецепторов [8], оказывают болеутоляющее действие [9–11] и обладают некоторой антиэстрогенной активностью [12]. Поэтому многие лекарства содержат ацетанилид или его производные.

Целью этой работы является синтез новых производных ацетанилида – 2,2'-тиобис[*N*-(4-нитрофенил)ацетамид] и 2,2'-тиобис[*N*-(4-хлорфенил)ацетамид]

тамида], и изучение их антиоксидантных свойств. Для этого тестируемые соединения вводили подкожно крысам и анализировали затем содержание витаминов-антиоксидантов (А, Е и С) и малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови животных. Величина содержания МДА является показателем уровня окисления жиров в организме.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве исходных были выбраны 2-хлор-*N*-(4-нитрофенил)ацетамид (**IIa**) и 2-хлор-*N*-(4-хлорфенил)ацетамид (**IIb**), которые синтезировали по известной методике [13]. 2,2'-Тиобис[*N*-(4-нитрофенил)ацетамид] (**IIIa**) и 2,2'-тиобис[*N*-(4-хлорфенил)ацетамид] (**IIIb**) синтезировали по описанным методикам [14, 15].

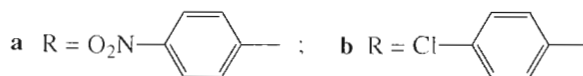
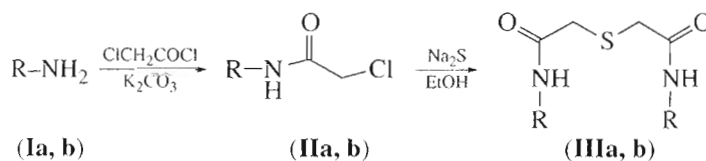


Схема.

Последовательность реакций, использованная для синтеза соединений (**IIIa**)–(**IIIb**), представлена на схеме. Соединения (**IIa**)–(**IIb**) легко образуются

при добавлении хлорацетилхлорида к аминам в присутствии поташа. Взаимодействие соединений (**IIa**)–(**IIb**) с Na₂S в этаноле дает замещенные

[#] Автор для переписки (эл. почта: mkoparir@hotmail.com).

Содержание МДА и витаминов-антиоксидантов (А, Е и С) в сыворотке крови крыс контрольной группы и подвергшихся воздействию соединений (IIIa) и (IIIb)*

Антиоксидант	Контрольная группа	Группа после введения соединения		P
		(IIIb)	(IIIa)	
Витамин А, мкг/дл	76.2 + 8.6	54.1 + 9.2	48.8 + 8.7	<0.001
Витамин Е, мкг/мл	9.6 + 1.6	5.3 + 1.4	5.8 + 1.3	<0.001
Витамин С, мкг/мл	12.4 + 2.0	8.6 + 1.9	8.9 + 1.7	<0.002
МДА, нмоль/мл	0.63 + 0.15	1.51 + 0.3	1.4 + 0.31	<0.001

* Число животных в каждой группе 24.

сульфиды (IIIa)–(IIIb). Структуры всех полученных соединений охарактеризованы данными ИК- и ¹H-ЯМР-спектроскопий и элементным анализом.

Степень возврата составила 98.1% для витамина А, 99.5% для витамина Е, 96.4% для витамина С и 98.2% для МДА.

Найденные значения содержания витаминов-антиоксидантов (А, Е и С) и МДА в сыворотке представлены в таблице.

Как видно из данных таблицы, при введении соединений (IIIa) и (IIIb) крысам в их крови значительно уменьшается содержание витаминов А, Е ($P < 0.001$) и С ($P < 0.002$), а содержание МДА – увеличивается.

В то время как супероксидные радикалы в организме удаляются диспропорционированием ферментов соединения-антиоксиданты, такие, как витамины А, Е и С, понижают уровень радикалов кислорода в крови по сравнению с контрольной группой [16].

Сообщалось, что ацетаминофен как производное ацетанилида повреждает ткани печени [17–19] и повышает уровень образования окиси азота [6]. Полагают, что высокие дозы парацетамола уменьшают уровень ферментов антиоксидантов у детей и крыс [20, 21]. Кроме того, сообщается, что парацетамол катализирует окисление жиров [22].

Обнаруженное в наших исследованиях увеличение уровня МДА в крови подтверждают исследования Капиотиса с сотр. [22]. Мы показали, что изучаемые соединения повышают уровень образования свободных радикалов, а это в свою очередь отражается на увеличении содержания МДА в результате перекисления жиров. Также полагают, что витамины-антиоксиданты А, Е и С служат для обезвреживания повышенного уровня свободных радикалов в крови.

Наличие заместителей в бензольном кольце синтезированных соединений не влияет на содержание витаминов и МДА в сыворотке, обе группы демонстрируют одинаковый эффект и не наблюдается значимых отличий между ними.

На основании полученных нами результатов можно заключить, что, поскольку в процессе метаболизма двух исследованных производных ацетанилида повышается уровень свободных радикалов в организме, при приеме лекарств, содержащих производные ацетанилида, весьма полезно употреблять витамины-антиоксиданты.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Точки плавления определяли на приборе Thomas Hoover и не исправляли, после чего их проверяли на дифференциальном сканирующем калориметре (DSC). ИК-спектры регистрировали на спектрофотометре Mattson 1000 FT-IR в таблетках КВг. Спектры ЯМР регистрировали на спектрометрах Varian Gemini 200 и Jeol FX-90Q с рабочей частотой 200 МГц в дейтерохлороформе, внутренний стандарт – тетраметилсилан. Использовали исходные вещества фирм “Merck” и “Aldrich”.

Общий метод получения соединений (IIIa) и (IIIb). Раствор хлорацетилхлорида (0.05 моль) в ацетоне по каплям прибавляли к раствору ариламина (0.05 моль) в ацетоне при 0°C, после чего перемешивали реакционную смесь 2 ч при комнатной температуре. Выливали реакционную смесь в ледяную воду и собирали выпавшие светлые кристаллы целевых соединений (IIIa) и (IIIb).

2-Хлор-N-(4-нитрофенил)ацетамид (IIIa): выход 82%, т. пл. 161–162°C. ИК, ν , см⁻¹: 1680 (C=O), 3277 (NH). ¹H-ЯМР: 7.59–8.66 (5 H, м, Ar, NH); 4.24 (2 H, с, CH₂). Найдено, %: С 44.68, Н 3.11, N 13.00. C₈H₇ClN₂O₃. Вычислено, %: С 44.77, Н 3.29, N 13.05.

2-Хлор-N-(4-хлорфенил)ацетамид (IIIb): выход 65%, т. пл. 182–183°C. ИК, ν , см⁻¹: 1670 (C=O), 3263 (NH). ¹H-ЯМР: 8.27 (H, ш.с., NH); 7.23–7.82 (4 H, м, Ar); 4.21 (2 H, с, CH₂). Найдено, %: С 44.98, Н 3.40, N 6.81. C₈H₇Cl₂NO. Вычислено, %: С 47.09, Н 3.46, N 6.81.

Общий метод получения соединений (IIIa) и (IIIb). К перемешиваемому раствору соединения (IIIa) или (IIIb) (0.2 моль) в 200 мл этанола при кипячении прибавляли по каплям раствор Na₂S · 9H₂O (0.1 моль) в 65 мл воды в течение 25 мин, причём

скорость прибавления постепенно уменьшали с тем, чтобы избежать оранжевого окрашивания раствора. После окончания прибавления реакционную смесь кипятили еще 25 мин и медленно охлаждали. Выпали достаточно чистые кристаллы соединений (**IIIa**) или (**IIIb**).

2,2'-Тиобис[N-(4-нитрофенил)ацетамид] (IIIa): выход 68%, т. пл. 220–221°C. ИК, ν , см^{-1} : 1679 ($\text{C}=\text{O}$), 3280 (NH). ^1H -ЯМР: 10.27 (2 H, ш.с., NH); 7.45–8.54 (8 H, м, Ar); 3.57 (4 H, с, CH_2S). Найдено, %: C 49.29, H 3.59, N 14.21, S 8.31. $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$. Вычислено, %: C 49.23, H 3.61, N 14.35, S 8.21.

2,2'-Тиобис[N-(4-хлорфенил)ацетамид] (IIIb): выход 74%, т. пл. 271–272°C. ИК, ν , см^{-1} : 1671 ($\text{C}=\text{O}$), 3268 (NH). ^1H -ЯМР: 9.98 (2 H, ш.с., NH); 7.40–7.70 (8 H, м, Ar); 3.54 (4 H, с, CH_2S). Найдено, %: C 52.01, H 3.79, N 7.51, S 8.59. $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$. Вычислено, %: C 49.23, H 3.61, N 14.35, S 8.21.

Экспериментальные животные. В работе использовали 72 мужские особи крыс породы Wistar (14–16 недель, 200–220 г). Животные акклиматизировались 2 недели, затем содержались в боксах из нержавеющей стали при контролируемой температуре (22–25°C) с 12-часовым циклом освещения. Они получали сухой корм (Elazig Food Factory) и воду *ad libitum*. Животные были разделены на три группы (одна контрольная и две экспериментальные) по 24 особи каждая.

Крысы из экспериментальных групп получали инъекции по 250 мкл раствора соединений (**IIIa**) или (**IIIb**) в 10%-ном растворе DMSO в кукурузном масле (20 мг/кг). Животные из контрольной группы получали инъекции 10%-ного раствора DMSO в кукурузном масле (250 мкл) через день. В это время все крысы получали нормальное питание. После 15 инъекций всех животных умерщвляли под эфирной анестезией. Образцы сыворотки собирали и хранили при –20°C.

Определение уровня витаминов А и Е в сыворотке крови. Образцы крови центрифугировали при 3000 об/мин⁻¹ в течение 5 мин при 4°C, отделяли сыворотку и в ней определяли содержание МДА и витаминов-антиоксидантов (А, Е и С). Анализ с помощью HPLC проводили как описано в работах [23, 24], используя колонку (250 × 4.6 ID) с носителем Techsphere OSD-2 (5 мкм, размер пор – 80 Å), элюент – смесь метанол–ацетонитрил–хлороформ, 47 : 42 : 11 (по объему), скорость элюирования – 1.0 мл/мин. Витамин А определяли по полюсе 326 нм, витамин Е – 296 нм.

Определение содержания витаминов С и МДА в сыворотке крови. Экстракцию витамина С и МДА проводили как описано в работе [25], насыщенный раствор фильтровали и содержание витамина С определяли по методу, приведенному в работе [26], уровень МДА – в [27]. ВЭЖХ осуществляли на колонке с обращенной фазой Тесорак С 18 (250 × 3.9 ID, 10 мкм), для определения содер-

жания витамина С в качестве элюента использовали 3.7 мМ фосфатный буфер, рН 4.0, скорость элюирования – 1.0 мл/мин. Для определения содержания МДА – 3 мМ KH_2PO_4 , буфер, рН 4.0 с H_3PO_4 и метанолом, 65 : 35 по объему, скорость элюирования – 1.5 мл/мин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Isaeva G.A., Dmitriev A.V., Isaev P.P. // Rus. J. of Physical Chemistr. 2001. V. 75. P. 1716–1719.
2. Pernerstorfer T., Schmid R., Bieglmayer C., Eichler H.G., Kapiotis S., Jilma B. // Clin. Pharmacol. Ther. 2000. V. 67. P. 70–71.
3. Vargas R., Maneatis T., Bynum L., Peterson C., McMahon F.G. // J. Clin. Pharmacol. 1994. V. 34. P. 848–853.
4. Roche J.J., Cisneros G.J., Acs G. // Angle Orthod. 1997. V. 67. P. 231–236.
5. Peterson J.M., Trappe T.A., Mylona E., White F., Lambert C.P., Evans W.J., Pizza F.X. // Med. Sci. Sports Exerc. 2003. V. 35. P. 892–896.
6. Moore P.K., Marshall M. // Dig. Liver Dis. 2003. V. 35. P. 49–60.
7. Ye C.M., Wang X.J., Zheng H.H. // J. Environ. Sci. (China). 2002. V. 14. P. 524–592.
8. Lacey J.V., Sherman M.E., Hartge P., Schatzkin A., Schairer C. // Int. J. Cancer. 2004. V. 108. P. 281–286.
9. Viitanen H., Tuominen N., Vaaraniemi H., Nikanne E., Annala P. // Br. J. Anaesth. 2003. V. 91. P. 363–367.
10. Diener H.C., Limmroth V. // Curr. Med. Res. Opin. 2001. V. 17. P. 13–16.
11. Brune K. // Agents Actions Suppl. 1988. V. 25. P. 9–19.
12. Dowdy J., Brower S., Miller M.R. // Toxicol. Sci. 2003. V. 72. P. 57–65.
13. Chaturvedi B., Tiwari N., Nizamuddin. // Indian J. of Chemistry. 1989. V. 28. P. 358–361.
14. Miyahara Y., Inazu T., Yoshino T. // Bull. Chem. Soc. of Japan. 1980. V. 53. P. 1187–1188.
15. Koparr M., Cansz A., Ahmedzade M., Cetin A. // Heteroatom. Chemistry. 2004. V. 15. P. 26–31.
16. Jain S.K., Levine S.N. // Free Radic. Biol. Med. 1995. V. 18. P. 337–341.
17. Blazka M.E., Elwell M.R., Holladay S.D., Wilson R.E., Luster M.I. // Toxicol. Pathol. 1996. V. 24. P. 181–189.
18. Bromer M.Q., Black M. // Clin. Liver Dis. 2003. V. 7. P. 351–367.
19. Hattori A., Yamada N., Nishikawa T., Fukuda H., Fujino T. // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2001. V. 65. P. 2555–2557.
20. Kozar E., Evans S., Barr J., Greenberg R., Soriano I., Bulkowstein M., Petrov I., Chen-Levi Z., Barzilay B., Berkovitch M. // Br. J. Clin. Pharmacol. 2003. V. 55. P. 234–240.
21. Suhail M., Ahmad I. // Indian J. Exp. Biol. 1995. V. 33. P. 269–271.
22. Kapiotis S., Sengoelge G., Hermann M., Held I., Seelos C., Gmeiner B.M. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1997. V. 17. P. 2855–2860.
23. Catignani G.L., Bieri J.G. // Clin. Chem. 1983. V. 29. P. 708–712.

24. Miller K.W., Lorr N.A., Yang C.S. // *Anal. Biochem.* 1984. V. 138. P. 340–345.
25. Cerhata D., Bauerova A., Ginter B. // *Caska Slov. Farm.* 1994. V. 43. P. 166–168.
26. Tavazzi B., Lazzarino G., Di-Piero D., Giardina B. // *Free Radic. Biol. Med.* 1992. V. 13. P. 75–78.
27. Karatas F., Karatepe M., Baysar A. // *Anal. Biochemistry.* 2002. V. 311. P. 76–79.

Synthesis of Two New Acetanilide Derivatives and Their Effect on the Serum Antioxidant Vitamins (A, E, and C) and the MDA Level in Rats

F. Karataş*, A. Cansız*, H. Kara**, M. Karatepe*, and M. Koparır**

#E-mail: mkoparir@hotmail.com

*Department of Chemistry, College of Science Department, Elazığ School of Health Sciences, Firat University, Elazığ, 23119 Turkey

**Elazığ School of Health Sciences, Firat University, Elazığ, 23119 Turkey

Acetanilide derivatives, 2,2'-thiobis[*N*-(4-nitrophenyl)acetamide] and 2,2'-thiobis[*N*-(4-chlorophenyl)acetamide], were synthesized and characterized. They were shown to cause a considerable oxidative stress in rats. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2005, vol. 31, no. 5; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: acetanilide; antioxidant vitamins A, E, and C; malondialdehyde