



## КУРАРЕПОДОБНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ КАМФОРЫ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

© 2015 г. А. С. Соколова<sup>\*,\*\*</sup>, Е. А. Морозова<sup>\*</sup>, В. Г. Васильев<sup>\*</sup>, О. И. Яровая<sup>\*,\*\*,\*</sup>,  
Т. Г. Толстикова<sup>\*,\*\*</sup>, Н. Ф. Салахутдинов<sup>\*,\*\*</sup>

<sup>\*</sup>ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения РАН,  
630090, Новосибирск, пр. академика Лаврентьева, 9

<sup>\*\*</sup>Новосибирский государственный университет,  
630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 2

Поступила в редакцию 25.06.2014 г. Принята к печати 27.08.2014 г.

Описан синтез симметричных производных камфоры, содержащих в своем остове два четвертичных атома азота, и результаты исследования их миорелаксантами активности на мышцах. В качестве сравнения описан синтез и проведено исследование активности солей на основе *мета*- и *пара*-замещенных ксилитендибромидов.

**Ключевые слова:** камфора, миорелаксантами активность, вращающийся стержень, наклонная пластина, мышцы.

DOI: 10.7868/S0132342315020153

### ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее эффективных современных подходов к синтезу биологически активных соединений является функционализация заведомо биоактивной молекулы различными фармакофорными группами. Главным источником исходных биомолекул являются природные ресурсы. В настоящее время, особое внимание специалистов, работающих в области медицинской химии, уделяется синтезу и изучению симметричных молекул, имеющих в своем остове два или более природных фрагмента. При этом тип природных фрагментов крайне разнообразен, это могут быть алкалоиды [1, 2], стероиды [3], моно- или дитерпены [4, 5] и др. Симметричные азотсодержащие соединения, сочетающие в себе природные фрагменты, связанных линкером и имеющие в своем остове еще и два четвертичных атома азота, обладают широким спектром биологической активности. Однако наибольшую известность данные соединения имеют в качестве миорелаксантов или, как их еще называют, курареподобных соединений.

Биологическая активность кураре – концентрированных экстрактов южноамериканских растений видов *Strychnos* и *Chondodendron* – изучается уже на протяжении нескольких столетий. Кураре и курареподобные препараты применяют в медицине для расслабления скелетной мускулатуры, главным образом при хирургических опера-

циях. К таким веществам относятся разные с химической точки зрения классы соединений – алкалоиды, содержащие одну или несколько третичных аминогрупп, моно- и дикватернизованные по атому азота соединения с различными остовами, а также структуры, содержащие отличные от азота положительно заряженные гетероатомы [6].

С тех пор, как структура действующего вещества “трубочного” кураре – алкалоида d-тубокурарина (I) была установлена в 1953 г., в практику анестезиологии было введено множество препаратов его аналогов, вызывающих мышечное расслабление [7] (рис. 1). Синтетическим соединением, имеющим структурное сходство с тубокурарином и применяющимся в медицинской практике, является атракуриум (II). Дитилин (сукцинилхоллин) (III) – основной представитель деполаризующих миорелаксантов, который при внутривенном введении нарушает проведение нервно-мышечного возбуждения и вызывает расслабление скелетных мышц. Этот препарат оказывает быстрое и кратковременное действие, однако обладает целым рядом побочных эффектов [8], несмотря на которые активно применяется в медицинской практике. Миорелаксанты со стероидным остовом, будучи недеполяризующими блокаторами с миорелаксантами активностью, близкой к тубокурарину, не обладают гормональной активностью. В медицинскую практику введены, например, ардуан (IV) и панкурорий (V) [9] (рис. 1). В настоящее время стероидные миорелаксанты во многих медицинских учреждениях мира вытеснили дитилин благодаря их большей безопасно-

<sup>#</sup> Автор для связи (тел.: +7 (383) 330-88-70; эл. почта: ooo@nioch.nsc.ru).

сти при использовании для расслабления скелетной мускулатуры.

Тем не менее, ни один из используемых в настоящее время миорелаксантов не соответствует критериям идеального миорелаксанта [10]. Эти критерии, выведенные в 70-х годах прошлого столетия, включают в себя быстрое начало и заведомо необходимую продолжительность действия, антидеполяризующий механизм действия, быстрое развитие эффекта, отсутствие кумулирования, отсутствие побочных эффектов со стороны сердечно-сосудистой системы, быструю и полную обратимость эффекта при использовании антихолинэстеразных препаратов, а также быструю элиминацию из организма вне зависимости от состояния функции почек и/или печени или биотрансформацию в неактивные метаболиты [11].

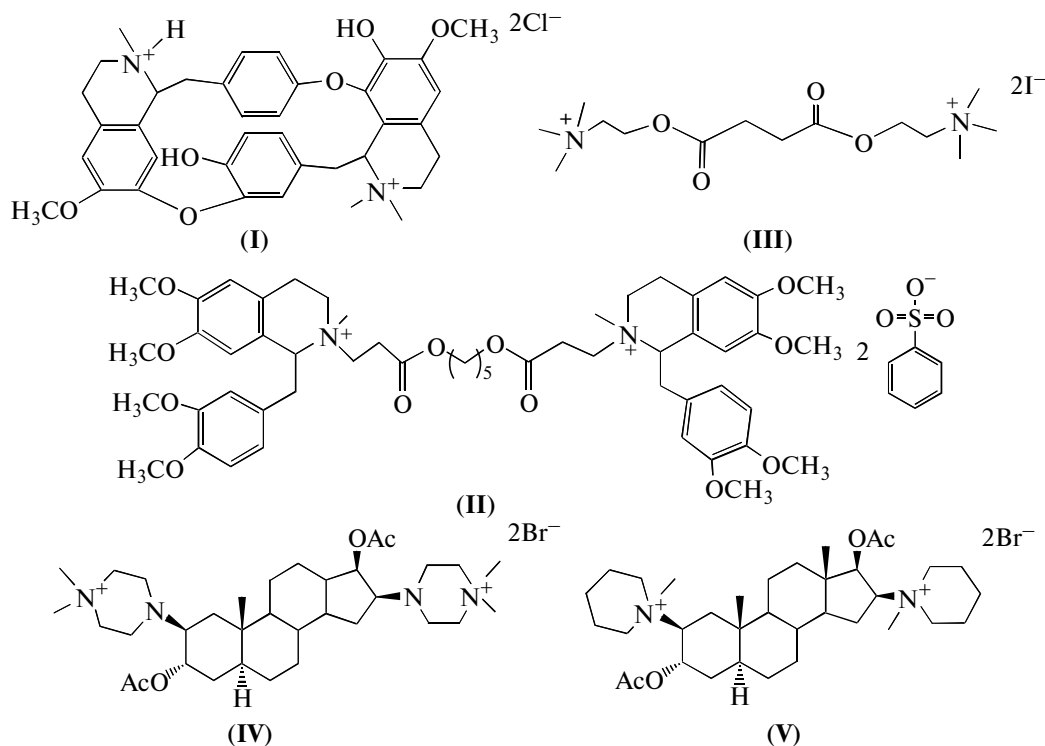
В 70-х годах прошлого столетия группой исследователей под руководством Д.А. Харкевича были проведены систематические исследования по поиску наиболее активных производных труксилевой кислоты [12]. Наиболее эффективные соединения этого ряда анатруксоний [13] и циклобутоний [14] вошли в медицинскую практику в СССР. В настоящее время исследований, посвященных поиску новых синтетических миорелаксантов, практически нет. Исключение составляет группа казанских исследователей, изучающих миорелаксантные действия некоторых производных урацила [15]. Эксперименты на животных осложнены существенным недостатком миорелаксантов: чрезвычайно малым диапазоном доз, в

которых вещества вызывают специфический (лечебный) эффект, и дозами, в которых они парализуют дыхательные мышцы и вызывают апноэ.

Цель данного исследования — синтез симметричных куареподобных соединений, содержащих в своем остове два фрагмента природной молекулы камфоры и два четвертичных атома азота, разделенных линкерами разной длины и жесткости. В работе изучена миорелаксантная активность полученных соединений, проведено сравнение со структурно-подобными аналогами и выявление связи структура—активность в ряду данных соединений.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве природной молекулы, являющейся основой для последующего синтеза симметричных производных, нами было выбрано широко распространенное соединение монотерпенового ряда — (+)-камфора (VI). Ранее было показано, что симметричные иминопроизводные камфоры проявляют выраженный противовирусный эффект [16], амидоспирты на основе камфорного остова являются высокоэффективными противотуберкулезными агентами [17]. Характерная особенность структуры молекулы камфоры — жесткий углеродный скелет, имеющий определенное сходство с остовом адамантана; при этом известно, что четвертичные аммонийные производные адамантана, разделенные алифатической цепочкой, проявляют выраженный миорелаксантный эффект [6].



**Формулы.** Химическая структура миорелаксантов, используемых в медицинской практике.

Для синтеза целевых соединений взаимодействием галогенида с третичным амином нами были синтезированы азотсодержащие производные камфоры, имеющие в своем остове иминную и третичную аминную группу (схема 1, VII–XIII). В работе [18] нами был описан синтез соединений (VIII–XIII) и показана их активность как эффективных ингибиторов вируса гриппа. Иминоамин (VII), используемый в качестве стартовой молекулы в синтезе производных, был получен взаимодействием камфоры (VI) с *N,N*-диэтилэтан-1,2-диамином в условиях азеотропной отгонки

воды в толуоле в присутствии  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  с выходом 85–90%. Для получения симметричных “димерных” молекул в качестве линкеров использовались дигалогениды алифатического строения с разной длиной цепи (R, схема 1). Для изучения влияния жесткости и электронной структуры линкера получено соединение с ароматическим кольцом в нем (XI, схема 1). Действием йодистого метила или бромистого этила на исходный иминоамин (VII), были синтезированы соответствующие четвертичные аммонийные основания (XII) и (XIII) (схема 1).

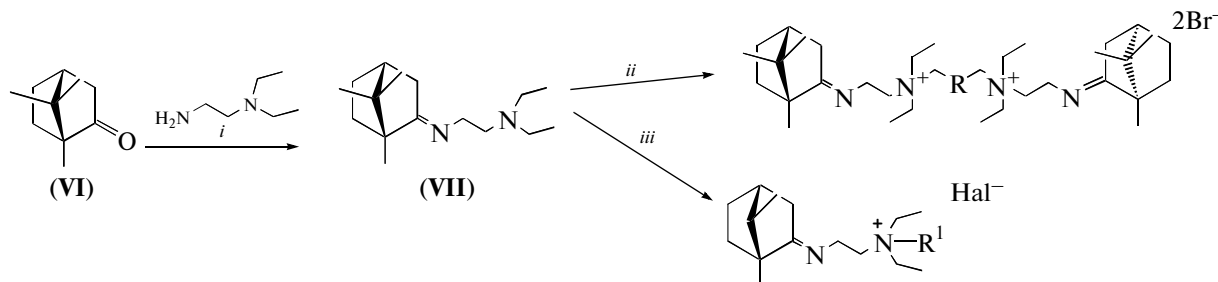


Схема 1. Схема синтеза соединений (VII)–(XIII).

i) PhMe,  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (1–5 моль%); ii)  $\text{Br}-\text{CH}_2-\text{R}-\text{CH}_2-\text{Br}$  (0.5 моль),  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; iii)  $\text{R}^1\text{Hal}$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$ .  
 –R– (VIII)  $-(\text{CH}_2)_3-$ ; (IX)  $-(\text{CH}_2)_4-$ ; (X)  $-(\text{CH}_2)_6-$ ; (XI) *p*-Ph- $\text{R}^1$  (XII)  $-\text{CH}_3$ , Hal – I; (XIII)  $-\text{C}_2\text{H}_5$ , Hal – Br.

Исследование миорелаксантажной активности соединений (VIII)–(XIII), содержащих камфорный остов и четвертичные атомы азота, показало, что в этом ряду только соединение (XI), содержащее *para*-замещенное ароматическое кольцо в линкерной цепочке, способно вызывать мышечное расслабление у мышей в дозах 10 мг/кг и 15 мг/кг (таблица). В тесте “вращающийся стержень” у животных, которым вводили это соединение, снижалась способность удерживаться на стержне, в результате чего существенно сокращалось латентное время первого падения со стержня. Контрольные животные не падают в течение всего времени тестирования, а животные с введенным дитилином падают сразу же после помещения их на стержень. Также часть животных (от 14 до 33%, в зависимости от дозы), которым вводили соединение (XI), проявили неспособность удерживаться на наклонной пластине, что явилось еще одним показателем, подтверждающим миорелаксантажную активность введенного им агента. Контрольные животные в этом тесте поднимаются вверх по наклонной пластине, а животные с вызванным мышечным расслаблением съезжают по пластине вниз и падают с нее, что и наблюдается в группе с дитилином (таблица).

Монокватернизованные соли иминоамина камфоры (XII) и (XIII), содержащие один заряженный атом азота, в дозах 10–20 мг/кг не проявили миорелаксантажной активности ни в одном

из использованных тестов (таблица). В ряду соединений (VIII–X) также не было выявлено агента, способного вызывать заметную миорелаксацию у животных. Надо отметить, что удлинение линкерной цепочки в этом ряду соединений, никак не влияет на способность агентов вызывать мышечное расслабление, но влияет на токсичность соединений: вещество (X) с самой длинной алифатической цепочкой оказалось самым токсичным ( $\text{LD}_{50}$  4.1 мг/кг), тогда как для всех остальных соединений из этой группы величина  $\text{LD}_{50}$  находилась в интервале 9.2–12.5 мг/кг.

С целью изучения влияния экранированности заряженного атома азота в иминопроизводных камфоры на биологическую активность исследуемых соединений нами в качестве другой стартовой молекулы был синтезирован иминоамин (XIV) путем взаимодействия камфоры с *N,N*-диметил-1,2-диамином. Соединение (XV) получено нами в аналогичных условиях, взаимодействием иминоамина (XIV) с *para*-ксилилендибромидом. Для изучения влияния взаимного расположения заместителей в ароматическом кольце линкера и расстояния между четвертичными атомами азота “димерной” молекулы, аналогичным взаимодействием *meta*-ксилилендибромидом с соединением (XIV) получено соединение (XVI) (схема 2).

## Биологическая активность соединений (VIII–XIII) в опытах на мышах

Агент	Доза агента, мг/кг	Латентное время падения со стержня, с (макс 120 с)			Миорелаксация на наклонной пластине, % животных	ЛД <sub>50</sub> , мг/кг
		1-я попытка	2-я попытка	3-я попытка		
Контроль		120	120	120	0	
(VIII)	5	120	120	120	0	9.2
	10	115 ± 5	110 ± 10	120	33.3	
(IX)	10	120	120	120	0	10.3
	15	109 ± 8	87 ± 16	98 ± 13	25	
(X)	5	120	120	120	0	4.1
	7	114 ± 6	91 ± 19	93 ± 14	25	
(XI)	5	120	120	120	0	12.3
	10	117 ± 2	65 ± 15*	106 ± 6	14.3	
	15	103 ± 8	63 ± 21*	90 ± 30	33.3	
(XII)	10	120	120	120	0	Не опред.
	20	120	120	120	0	
(XIII)	5	120	120	120	0	Не опред.
	10	120	120	120	0	
	20	120	115 ± 5	120	0	
(XV)	5	120	120	120	0	14.9
	10	109 ± 8	53 ± 13**	108 ± 5	16.7	
	15	104 ± 9	43 ± 14***	48 ± 16**	33.3	
(XVI)	10	120	60 ± 35	115 ± 5	0	12.5
(XVII)	10	120	75 ± 14*	110 ± 5	0	27.2
	15	98 ± 9*	56 ± 15**	49 ± 9***	0	
	20	120	25 ± 6**	68 ± 13***	0	
(XVIII)	5	120	120	120	0	13.9
	10	85 ± 9**	32 ± 5***	84 ± 11*	20	
(XIX)	10	118 ± 3	30 ± 30**	68 ± 21*	0	22.7
	15	100 ± 14	20 ± 20***	100 ± 20	0	
	20	90 ± 30	—	—	0	
(XX)	10	95 ± 15	98 ± 13	118 ± 3	0	20.6
	15	94 ± 13	60 ± 19*	90 ± 19	0	
(XXI)	5	10	—	—	0	4.3
(XXII)	10	120	83 ± 13**	108 ± 6*	0	30.4
	15	120	35 ± 16***	105 ± 6*	0	
	20	110 ± 10	40 ± 20*	55 ± 5*	0	
Дитилин	2.5	0***	0***	107 ± 8	100	1.8

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$  по сравнению с контролем.

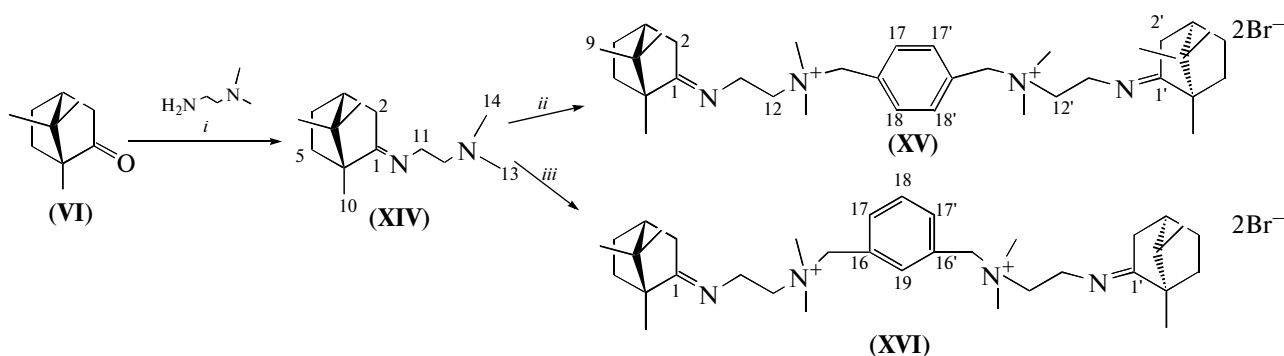


Схема 2. Синтез соединений (XIV)–(XVI).

i) PhMe,  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (1–5 моль%); ii) *p*-BrCH<sub>2</sub>–Ph–CH<sub>2</sub>Br (0.5 моль),  $\text{CH}_3\text{CN}$ ;  
iii) *m*-BrCH<sub>2</sub>–Ph–CH<sub>2</sub>Br (0.5 моль),  $\text{CH}_3\text{CN}$ .

Исследование активности солей (XV) и (XVI) показало, что соединение (XV) проявляет миорелаксантную активность, аналогичную по величине выявленной у агента (XI): в дозе 10 мг/кг сокращается латентное время падения животных со стержня и у 16% их проявляется невозможность удерживаться на наклонной пластине. А соль (XVI) вовсе не проявляла миорелаксантную активность: сокращение латентного времени падения животного со стержня было недостоверным, а в тесте “наклонная пластина” положительного результата не наблюдалось. При этом токсичность этих солей не отличалась от токсичности агента (XI). Следовательно, можно предположить, что экранированность заряженного атома азота (замена этильных радикалов на метильные) в изученных “димерных” молекулах не влияет на миорелаксантную активность соединений, а

уменьшение расстояния между четвертичными атомами азота приводит к снижению способности соединений вызывать мышечное расслабление у животных.

Для выяснения влияния наличия терпенового остова в изучаемых нами солях на биологическую активность, нами был синтезирован ряд дикватернизованных соединений (XVII)–(XXII) на основе соответствующих *para*- и *meta*-ксилилендидбромидов (схема 3). При этом соли (XVII), (XVIII), (XX) и (XXI) получены прямым взаимодействием ароматического дибромпроизводного с соответствующим третичным амином, а соли (XIX) и (XXII) – через образование третичных аминов с дальнейшей кватернизацией йодистым метилом.

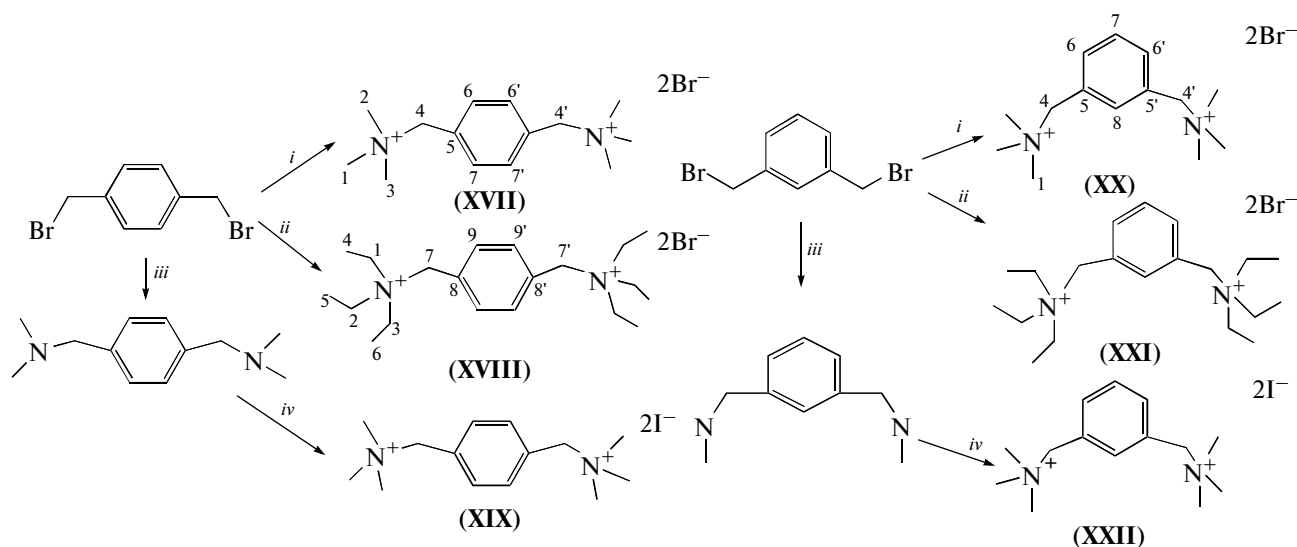


Схема 3. Синтез соединений (XVII)–(XXII). i)  $\text{NMe}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; ii)  $\text{NEt}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ;  
iii)  $\text{NHMe}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; iv)  $\text{CH}_3\text{I}$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$ .

Исследование миорелаксантами активности этих соединений показало, что практически все они в дозах от 10 до 20 мг/кг при внутрибрюшинном введении значительно сокращают время, в течение которого животные способны удерживаться на стержне. При этом только соединение (XVIII) изменяло способность животных удерживаться на наклонной пластине (таблица). Следовательно, в данном случае имеет смысл говорить о нарушении двигательной координации животных, вызванном нейротоксическим эффектом агентов, а не о проявлении ими миорелаксантами эффекта. В пользу этого свидетельствует тот факт, что под влиянием практически всех соединений из этой группы (кроме (XVIII)) у животных после физической нагрузки (в качестве которой можно рассматривать попытку удержаться на вращающемся стержне) появлялся тремор, а в некоторых случаях даже судороги, приводившие к гибели животных.

Самым токсичным в ряду дикватернизованных соединений (XVII)–(XXII) оказалось соединение (XXI): величина  $LD_{50}$  для него составила 4.3 мг/кг, в то время как для остальных веществ из этой группы – в пределах от 13.9 до 30.4 мг/кг. Также не было выявлено принципиальных различий в биологической активности между парами соединений – бромидов и иодидов (XVII)–(XIX) и (XX)–(XXII), что позволило установить отсутствие влияния противоиона на активность исследуемых агентов (таблица).

Таким образом, нами проведено систематическое исследование нового класса курареподобных соединений – дикватернизованных производных природного бициклического монотерпеноида – камфоры. На основании проведенных исследований биологической активности можно сделать следующие выводы. Увеличение длины алифатической цепочки в ряду соединений (VIII)–(X) приводит к увеличению токсичности; экранированность заряженного атома, то есть наличие этильного или метильного радикала у четвертичного атома азота в соединениях (XI) и (XV) не оказывает существенного влияния на миорелаксантами активность изученных агентов; соединения, содержащие *para*-замещенное ароматическое кольцо в линкере “димерных” молекул проявляют более выраженные миорелаксантами свойства, нежели аналогичные с *meta*-замещенным ароматическим кольцом; природа противоиона не существенна для биологических свойств изученных соединений. Сравнение биологической активности димерных четвертичных оснований азота (XV)–(XVI) показывает, что отсутствие природного камфорного фрагмента приводит к исчезновению миорелаксантами активности и появлению нейротоксического эффекта.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Химическая часть

Использованы: (1*R*)-(+)-камфора (Alfa Aesar, 98%,  $[\alpha]_D^{25} -45.5$  (CHCl<sub>3</sub>, с 0.8)), *n*-ксилилендибромид (abcr, 97%), *m*-ксилилендибромид (abcr, 97%), N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-диэтилэтан-1,2-диамин (Sigma, 99%), N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-диметилэтан-1,2-диамин (Acros, 99%).

Спектры <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР ( $\delta$ , м.д., *J*, Гц) соединения (XIV) регистрировали на спектрометре Bruker AV-600 (<sup>1</sup>H: 600.30 МГц, <sup>13</sup>C: 150.95 МГц), соединений (XV)–(XVI) на спектрометре Bruker DRX-500 (<sup>1</sup>H: 500.13 МГц, <sup>13</sup>C: 125.76 МГц), соединений (XVII)–(XXII) Bruker AV-400 (<sup>1</sup>H: 400.13 МГц, <sup>13</sup>C: 100.78 МГц). Внутренние стандарты: хлороформ ( $\delta_H$  7.24,  $\delta_C$  76.90 м.д.), DMSO ( $\delta_H$  2.50,  $\delta_C$  39.50 м.д.), MeOH ( $\delta_H$  3.31,  $\delta_C$  49.00). Спектры <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР соединения (XV) регистрировали в смеси дейтерированного метанола и недеийтерированного триэтиламина (CD<sub>3</sub>OD + NEt<sub>3</sub>) в соотношении 10 : 1. Строение полученных соединений установлено на основе анализа спектров <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР с привлечением спектров двойного резонанса <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H, двумерных спектров гомоядерной <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H корреляции (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY) и двумерных спектров гетероядерной <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H корреляции на прямых (C-H-COSY, <sup>1</sup>J<sub>C,H</sub> 160 Гц) и дальних константах спин-спиновой взаимодействия (COLOC, <sup>2,3</sup>J<sub>C,H</sub> 10 Гц). Масс-спектры высокого разрешения записывали на спектрометре DFSThermoScientific в режиме полного сканирования в диапазоне *m/z* 0–500, ионизация электронным ударом 70 эВ при прямом вводе образца. Колоночную хроматографию для конечной очистки соединений проводили на силикагеле (60–200  $\mu$ , Masherey-Nagel).

Для подтверждения структуры дикватернизованных соединений применялась ВЭЖХ-МС-система, включающая жидкостной хроматограф Agilent 1200 и гибридный квадруполь-времяпролетный масс-спектрометр micrOTOF-Q (Bruker) (ионизация электростатическим распылением при атмосферном давлении (API-ES)). Сканирование положительных ионов в диапазоне *m/z* 80–3000. Поток газа-осушителя (азот) 4 л/мин, температура: 190°C, давление на распылителе: 1.0 бар. Раствор вещества в метаноле (5 мкл) подавался в распылительную камеру масс-спектрометра. Наблюдаемые при этом относительные интенсивности изотопных ионов и величины *m/z* хорошо совпадали с рассчитанными для ожидаемых ионов.

Нумерация атомов в соединениях дана для отнесения сигналов в спектрах ЯМР и не совпадает с нумерацией атомов в номенклатурном названии. Растворители очищали по стандартным ме-

тодикам. Хлороформ, который в дальнейшем использовали для колоночной хроматографии, промывали водным аммиаком и сушили прокаленными молекулярными ситами. Синтез и спектральные характеристики соединений (VII)–(XI) описаны в работе [18].

Содержание основного компонента в образцах, исследуемых для биологических испытаний не менее 98%.

Аналитические и спектральные исследования были выполнены в Химическом Сервисном Центре коллективного пользования СО РАН.

**(E)-N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-Диметил-N<sup>2</sup>-((1R,4R)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илиден)этан-1,2-диамин (XIV).** К раствору 10 г (1R)-(+)-камфоры (66 ммоль) в толуоле (80 мл) добавили 5.8 г N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-диэтилэтан-1,2-диамина (66 ммоль), BF<sub>3</sub> · Et<sub>2</sub>O (3.9 ммоль) в 3 мл толуола, реакционную смесь кипятили в течение 15 ч с использованием насадки Дина-Старка. Затем добавили насыщенный раствор NaCl (10 мл), экстрагировали CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, отгоняли растворитель. Вакуумной перегонкой полученной смеси (14 г) выделяли соединение (XIV) (9.8 г, 67%) т. кип 93–98°C (5 мм.рт.с).

<sup>1</sup>H-ЯМР: 0.57 (3H, с, Me-9), 0.74 (3H, с, Me-10), 0.77 (3H, с, Me-8), 1.02 (1H, ддд, <sup>2</sup>J = 12.3, J<sub>4endo,5endo</sub> = 9.3, J<sub>4endo,5exo</sub> = 4.2, H<sub>4endo</sub>), 1.16 (1H, ддд, <sup>2</sup>J = 12.3, J<sub>5endo,4endo</sub> = 9.3, J<sub>5endo,4exo</sub> = 4.5, H<sub>5endo</sub>), 1.47 (1H, ддд, <sup>2</sup>J = J<sub>5exo,4exo</sub> = 12.3, J<sub>5exo,4endo</sub> = 4.2, H<sub>5exo</sub>), 1.67 (1H, д, <sup>2</sup>J = 16.9, H<sub>2exo</sub>), 1.67 (1H, ддд, <sup>2</sup>J = J<sub>4exo,5exo</sub> = 12.3, J<sub>4exo,5endo</sub> = J<sub>4exo,3</sub> = 4.5, J<sub>4exo,2exo</sub> = 3.2, H<sub>4exo</sub>), 1.78 (1H, дд, J<sub>3,2exo</sub> = J<sub>3,4exo</sub> = 4.5, H<sub>3</sub>), 2.10 (6H, с, Me-13 и Me-14), 2.18 (1H, ддд, <sup>2</sup>J = 16.9, J<sub>2exo,3</sub> = 4.5, J<sub>2exo,4exo</sub> = 3.2, H<sub>2exo</sub>), 2.35 (2H, т, J<sub>12,11</sub> = 7.6, H<sub>12</sub>), 3.14 и 3.19 (оба 1H, дт, <sup>2</sup>J = 12.1, J<sub>11,12</sub> = 7.6, H<sub>11</sub>). <sup>13</sup>C-ЯМР: 182.18 с (C1), 59.56 т (C12), 53.11 с (C6), 50.60 т (C11), 46.55 с (C7), 45.51 к (Me-13 и Me-14), 43.40 д (C3), 35.10 т (C2), 31.80 т (C5), 27.07 т (C4), 19.14 к (Me-9), 18.58 к (Me-10), 11.01 к (Me-8). [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> –19.8 (CHCl<sub>3</sub>, с 1.1). Найдено: m/z 222.2092 [M]<sup>+</sup> C<sub>14</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>. Вычислено: M 222.2091.

**(R,R,E)-N,N'-(1,4-Фениленбис(метилен)бис(N,N-диметил-2-((E)-((1R,4R)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илиден)амино)этанаминий)дибромид (XV).** К раствору 0.5 г (2 ммоль) соединения (XIV) в 10 мл сухого ацетонитрила добавили n-ксилилендибромид (0.26 г, 1 ммоль), смесь кипятили 20 ч. Осадок отфильтровали, из него колоночной хроматографией на 5 г силикагеля, элюент (хлороформ/этилацетат + 1% метанола (100 : 0 → 0 : 100)) выделяли соединение XV (0.5 г, 35%) т. пл. 207–210°C.

В спектрах соединения наблюдали 95% дейтерозамещения во 2-ом экзо-положении. Сигналы

дейтерозамещенного соединения, отличные от незамещенного, отмечены звездочкой. <sup>1</sup>H-ЯМР: 0.80 (6H, с, Me-9), 0.96 (6H, с, Me-8), 0.98 (6H, с, Me-10), 1.28–1.40 (4H, м, H<sub>4endo</sub>, H<sub>5endo</sub>), 1.71–1.79 (2H, м, H<sub>5exo</sub>), 1.88–1.95 (2H, м, H<sub>4exo</sub>), 1.98–2.05 (4H, м, H<sub>2endo</sub> и H<sub>3</sub>), 2.01 (2H, шс, H<sub>2endo</sub>\*), 2.02 (2H, д, J<sub>3,4exo</sub> = 4.5, H<sub>3</sub>\*), 2.53 (2H, ддд, <sup>2</sup>J = 16.9, J<sub>2exo,3</sub> = 4.5, J<sub>2exo,4exo</sub> = 3.2, H<sub>2exo</sub>), 3.21 и 3.21 (каждый 6H, с, Me-13 и Me-14), 3.66–3.72 (4H, м, H<sub>12</sub>), 3.72–3.83 (4H, м, H<sub>11</sub>), 4.83 (4H, с, H<sub>15</sub>), 7.84 (4H, с, H<sub>17</sub> и H<sub>18</sub>). <sup>13</sup>C-ЯМР: 188.59 с (C1), 135.12 д (C17 и C18), 131.71 с (C16), 68.95 т (C15), 65.20 т (C12), 55.41 с (C6), 51.48 к (C13 и C14), 48.50 с (C7), 47.18 т (C11), 45.30 д (C3), 45.21 д (C3\*), 36.95 т (C2), 36.67 дт (<sup>1</sup>J<sub>C,D</sub> = 19.7, CHD-2\*), 33.09 т (C5), 28.04 т (C4), 28.01 т (C4\*), 19.99 к (C9), 19.26 к (C10), 11.72 к (C8).

(ESI): m/z [M-Br]<sup>+</sup> 627.394, (расчет для C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>N<sub>4</sub>Br) 627.400, [M-2Br]<sup>2+</sup> 274.239, (расчет для C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>N<sub>4</sub>) 274.240.

**(R,R,E)-N,N'-(1,3-Фениленбис(метилен)бис(N,N-диметил-2-((E)-((1R,4R)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илиден)амино)этанаминий)дибромид (XVI).** К раствору 0.5 г (2 ммоль) соединения (XIV) в сухом ацетонитриле добавили m-ксилилендибромид 0.26 г (1 ммоль), смесь кипятили 30 ч. Из смеси выделяли (см. методику получения XV) соединение (XVI) (0.27 г, 20%), т. пл. 133–136°C. <sup>1</sup>H-ЯМР: 0.77 (6H, с, Me-9), 0.93 (6H, с, Me-8), 0.95 (6H, с, Me-10), 1.25–1.37 (4H, м, H<sub>4endo</sub>, H<sub>5endo</sub>), 1.66–1.78 (2H, м, H<sub>5exo</sub>), 1.83–1.93 (2H, м, H<sub>4exo</sub>), 1.95–2.05 (4H, м, H<sub>2endo</sub> и H<sub>3</sub>), 2.51 (2H, ддд, <sup>2</sup>J = 16.9, J<sub>2exo,3</sub> = 4.5, J<sub>2exo,4exo</sub> = 3.2, H<sub>2exo</sub>), 3.17 (6H, с, Me-13 и Me-14), 3.62–3.68 (4H, м, H<sub>12</sub>), 3.70–3.82 (4H, м, H<sub>11</sub>), 4.80 (4H, с, H<sub>15</sub>), 7.66–7.76 (1H, м, H<sub>18</sub>), 7.87–7.95 (2H, м, H<sub>17</sub>), 8.08 (1H, с, H<sub>19</sub>). <sup>13</sup>C-ЯМР: 187.1 с (C1), 137.6 д (C17, 17'), 135.08 д (C18, 18'), 129.5 д (C19, 19'), 128.6 с (C16, 16'), 67.4 т (C15, 15'), 63.7 т (C12), 53.8 с (C6), 49.8 к (C13 и C14), 45.50 с (C7), 47.18 т (C11), 43.6 д (C3), 35.5 т (C2), 31.5 т (C5), 29.04 т (C4), 18.5 к (C9, 9'), 17.8 к (C10, 10'), 10.2 к (C8, 8'). (ESI): m/z [M-Br]<sup>+</sup> 627.396, (расчет для C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>N<sub>4</sub>Br) 627.400, [M-2Br]<sup>2+</sup> 274.239, (расчет для C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>N<sub>4</sub>) 274.240.

**1,1'-(1,4-Фенилен)бис(N,N,N-триметилметанаминий)дибромид (XVII).** К раствору 0.5 г (2 ммоль) n-ксилилендибромид в метаноле добавили 1 мл 40% раствора триметиламина, смесь кипятили 15 ч. Полученный осадок отфильтровали, высушивали на воздухе. Получали соединение (XVII) (0.32 г, 23%), т. пл. >330°C.

<sup>1</sup>H-ЯМР: 3.04 (18H, с, Me-1, 2, 3, 1', 2', 3'), 4.48 (4H, с, H<sub>4</sub>, H<sub>4'</sub>), 7.62 (4H, с, H<sub>6</sub>, 7, 6', 7'). <sup>13</sup>C-ЯМР: 133.10 д (C6, 7, 6', 7'), 129.5 с (C5, 5'), 68.4 т (C4, 4'), 52.3 к (C1, 2, 3, 1', 2', 3').

(ESI):  $m/z$   $[M-Br]^{-}$  301.127, (расчет для  $C_{14}H_{26}N_2Br$ ) 301.127.

***N,N'*-(1,4-Фениленбис(метилен))бис(*N,N*-диэтилэтанаминий)дибромид (XVIII).** К раствору 0.5 г (2 ммоль) *n*-ксилилен дибромида в сухом ацетонитриле добавили 0.8 мл (6 ммоль) триэтиламина, смесь кипятили 8 ч. Полученный осадок отфильтровали, сушили на воздухе. Получили соединение (XVIII) (0.71 г, 40%), т. пл. 270°C. <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.43 (18H, т,  $J = 7.06$ , Me-4, 5, 6, 4', 5', 6'), 3.32 (12H, т,  $J = 7.2$ , H1, 2, 3, 1', 2', 3'), 4.55 (4H, с, 2H7, 2H7'), 7.70 (4H, с, H9, 10, 9', 10'). <sup>13</sup>C-ЯМР: 133.07 д (C9, 10, 9', 10'), 129.7 с (C8, 8'), 58.9 т (C7, 7'), 52.3 т (C1, 2, 3, 1', 2', 3'), 6.6 к (C-4, 5, 6, 4', 5', 6').

(ESI):  $m/z$   $[M-Br]^{-}$  385.219, (расчет для  $C_{20}H_{38}N_2Br$ ) 385.221.

**1,1'-(1,4-Фенилен)бис(*N,N,N*-триметилметанаминий)дийодид (XIX).** К раствору 0.5 г (2 ммоль) *n*-ксилилендибромида в ацетонитриле добавили 0.5 мл 40% раствора диметиламина, 1 г  $K_2CO_3$ . Смесь кипятили 10 ч, затем, обрабатывали 25% NaOH, экстрагировали диэтиловым эфиром 3 раза по 20 мл. Органический слой сушили  $Na_2SO_4$ , растворитель упарили. Далее к раствору 0.5 г (2.6 ммоль) полученного амина в сухом ацетонитриле добавляли 30 ммоль йодистого метила, оставляли при комнатной температуре, в течение 4 сут. Выпавший осадок фильтровали, получали соединение (XIX) (0.5 г, 50%), т. пл. 281°C. <sup>1</sup>H-ЯМР: 3.14 (18H, с, Me-1, 2, 3, 1', 2', 3'), 4.58 (4H, с, 2H4, 2H4'), 7.71 (4H, с, H6, 7, 6', 7'). <sup>13</sup>C-ЯМР: 135.7 д (C9, 10, 9', 10'), 132.1 с (C8, 8'), 71.0 т (C4, 4'), 54.8 к (C1, 2, 3, 1', 2', 3').

(ESI):  $m/z$   $[M-I]^{-}$  349.112, (расчет для  $C_{14}H_{26}N_2I$ ) 349.114,  $[M-2I]^{-2+}$  111.102 (расчет для  $C_{14}H_{26}N_2$ ) 111.104.

**1,1'-(1,3-Фенилен)бис(*N,N,N*-триметилметанаминий)дибромид (XX).** К раствору 0.5 г (2 ммоль) *m*-ксилилендибромида в метаноле добавляли 1 мл 40% раствора триметиламина, смесь кипятили 20 ч. Осадок фильтровали и высушивали на воздухе. Получали соединение (XX) (0.26 г, 35%), т. пл. 95°C. <sup>1</sup>H-ЯМР: 3.18 (18H, с, Me-1, 2, 3, 1', 2', 3'), 4.68 (4H, с, 2H4, 2H4'), 7.61–8.04 (4H, м, H6, 7, 8, 6'). <sup>13</sup>C-ЯМР: 136.7 д, 135.0 д, 130.0 д, 128.3 с, 68.7 т, 52.4 к. (ESI):  $m/z$   $[M-Br]^{-}$  301.126, (расчет для  $C_{14}H_{26}N_2Br$ ) 301.127,  $[M-2Br]^{-2+}$  111.102 (расчет для  $C_{14}H_{26}N_2$ ) 111.104.

***N,N'*-(1,3-Фениленбис(метилен))бис(*N,N*-диэтилэтанаминий)дибромид (XXI)** К раствору 0.5 г (2 ммоль) *m*-ксилилендибромида в сухом ацетонитриле добавляли 0.8 мл (6 ммоль) триэтиламина, смесь кипятили 12 ч. Выпавший осадок фильтровали, высушивали на воздухе. Получали дибромид (XXI) (0.5 г, 50%). <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.51 (18H, т, Me-4, 5, 6, 4', 5', 6'), 3.39 (12H, к, H1, 2, 3, 1', 2', 3'),

4.68 (4H, с, H7, 7'), 7.69–7.85 (4H, м, H9, 9', 10, 11). <sup>13</sup>C-ЯМР: 136.35 д, 134.4 д, 134.39 д, 128.5 с, 59.2 т, 52.4 т, 6.8 к.

(ESI):  $m/z$   $[M-Br]^{-}$  385.222, (расчет для  $C_{20}H_{38}N_2Br$ ) 385.221,  $[M-2Br]^{-2+}$  153.152 (расчет для  $C_{20}H_{38}N_2$ ) 153.151.

**1,1'-(1,3-Фенилен)бис(*N,N,N*-триметилметанаминий)дийодид (XXII).** К раствору 0.5 г (2 ммоль) *m*-ксилилендибромида в ацетонитриле добавили 0.5 мл 40% водного диметиламина, смесь кипятили 10 ч с добавлением 1 г  $K_2CO_3$ . Далее смесь обработали 25% NaOH, экстрагировали эфиром (3 × 20 мл). Органический слой высушивали, удаляли растворитель. Полученный осадок отфильтровали, полученный третичный амин (0.4 г) растворяли в сухом ацетонитриле, добавляли 20 ммоль йодистого метила, оставляли при комнатной температуре в течение 2 сут и получали в осадке соединение (XXII) (0.6 г, 60%), т. пл. 215°C.

<sup>1</sup>H-ЯМР: 3.15 (18H, с, Me-1, 2, 3, 1', 2', 3'), 4.60 (4H, с, H4,4'), 7.68–7.82 (4H, м, H6, 7, 6', 8). <sup>13</sup>C-ЯМР: 136.7 д, 135.0 д, 130.0 д, 128.3 с, 68.7 т, 52.4 к. (ESI):  $m/z$   $[M-I]^{-}$  349.111, (расчет для  $C_{14}H_{26}N_2I$ ) 349.114.

#### Биологическая часть

Первичную оценку биологической активности соединений проводили в острых опытах на самцах белых беспородных мышей весом 25–30 г. Соединения вводили внутривентриально, в виде водных растворов в дозах от 5 до 20 мг/кг. В качестве показателей токсичности были выбраны среднесмертельные дозы (ЛД<sub>50</sub>, время наблюдения 72 ч), в качестве показателей миорелаксантной активности – невозможность животных удерживаться на вращающемся стержне и на наклонной пластине [19]. В каждой группе было по 6–8 животных. Контрольные животные получали физраствор внутривентриально по 0.1 мл/10 г веса тела.

Тест “вращающийся стержень” (rota-rod test) в различных модификациях широко используется как для оценки миорелаксантной активности соединений, так и для исследования нарушения координации движений животных [20, 21]. Для эксперимента отбирали мышей, демонстрирующих способность оставаться на вращающемся стержне минимум 1 мин. Через 2, 12 и 22 мин после введения агента или физраствора мышью помещали на горизонтальный стержень, вращающийся со скоростью 6.5 об./мин, на 120 с. Регистрировали латентное время первого падения со стержня.

Тест “наклонная пластина” в различных модификациях используется для оценки миорелаксации и атаксии у мышей и крыс [22–24]. Животных помещали на мелкоячеистую пластину, рас-



положенную под углом 60° к горизонтальной поверхности, несколько раз в течение 30 мин после введения агента. Неспособность животных удерживаться на сетке служила критерием миорелаксантажной активности. В каждой группе определяли процент животных, проявивших миорелаксацию.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Guillou C., Mary A., Renko D.Z., Gras E., Thal C. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2000. V. 10. P. 637–639.
2. Riva E., Comi D., Borrelli S., Colombo F., Danieli B., Borlak J., Evensen L., Lorens J.B., Fontana G., Gia O.M., Via L.D., Passarella D. // *Bioorg. Med. Chem.* 2010. V. 18. P. 8660–8668.
3. Svobodva H., Rysava H., Pavlik M., Šaman D., Drašar P., Wimmer Z. // *Bioorg. Med. Chem.* 2010. V. 18. P. 8194–8203.
4. Jung M., Lee S., Ham J., Lee K., Kim H., Kim S.K. // *J. Med. Chem.* 2003. V. 46. P. 987–994.
5. Korochkina M.G., Nikitashina A.D., Khaybullin R.N., Petrov K.A., Strobukina I.Yu., Zobov V.V., Kataev V.E. // *Med. Chem. Commun.* 2012. V. 3. P. 1449–1454.
6. Salakhutdinov N.F., Tolstikov G.A. // *Mini-Rev. Med. Chem.* 2010. V. 10. № 13. P. 1248–1262.
7. Lee C. // *Br. J. Anaesthesia.* 2001. V. 87. P. 755–769.
8. Martyn J.A., Richtsfeld M. // *Anesthesiology.* 2006. V. 104. P. 158–169.
9. McKenzie A.G. // *Anaesthesia.* 2000. V. 55. P. 551–556.
10. Leo H.D., Booi J. // *Rom. J. Anest. Terap. Intensive Care.* 2011. V. 18. P. 136–144.
11. Savarese J.J., Kitz R.J. // *Anesthesiology.* 1975. V. 42. P. 236–239.
12. Харкевич Д.А. Успехи в создании новых лекарственных средств. М.: Медицина, 1973.
13. Харкевич Д.А., Сколдинов А.П., Арендарук А.П. // *Хим. фарм. журнал.* 1974. № 4. С. 59–62.
14. Харкевич Д.А., Сколдинов А.П., Арендарук А.П. // *Хим. фарм. журнал.* 1977. № 2. С. 145–150.
15. Зобов В.В., Петров К.А., Ланцова А.В., Резник В.С., Акамсин В.Д., Галяметдинова И.В. // *Токсикологический вестник.* 2006. № 3. С. 12.
16. Sokolova A.S., Yarovaya O.I., Korchagina D.V., Zarubaev V.V., Tretiak T.S., Anfimov P.M., Kiselev O.I., Salakhutdinov N.F. // *Bioorg. Med. Chem.* 2014. V. 22. P. 2141–2148.
17. Stavrakov G., Philipova I., Valcheva V., Momekov G. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2014. V. 24. P. 165–167.
18. Sokolova A.S., Yarovaya O.I., Shernyukov A.V., Pokrovsky M.A., Pokrovsky A.G., Lavrinenko V.A., Zarubaev V.V., Tretiak T.S., Anfimov P.M., Kiselev O.I., Beklemishev A.B., Salakhutdinov N.F. // *Bioorg. Med. Chem.* 2013. V. 21. P. 6690–6698.
19. Фармакология миорелаксантов. Под ред. Харкевича Д.А., М.: Медицина, 1989. С. 288.
20. Hosseinzadeh H., Nassiri Asl M. // *BMC Pharmacol.* 2003. V. 3. P. 3–8.
21. González-Trujano M.E., Martínez A.L., Reyes-Ramírez A., Reyes-Trejo B., Navarrete A. // *Planta Med.* 2006. V. 72. P. 703–707.
22. Lippa A., Czobor P., Stark J., Beer B., Kostakis E., Gravielle M., Bandyopadhyay S., Russek S.J., Gibbs T.T., Farb D.H., Skolnick P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2005. V. 102. 7380–7385.
23. Pradhan S.N., De N.N. // *Brit. J. Pharmacol.* 1953. V. 8. P. 399–405.
24. Muhammad N., Saeed M., Khan H., Haq I. // *J. Nat. Med.* 2013. V. 67. P. 1–8.

## Curare-Like Camphor Derivatives and Their Biological Activity

A. S. Sokolova<sup>\*,\*\*</sup>, E. A. Morozova<sup>\*</sup>, V. G. Vasilev<sup>\*</sup>, O. I. Yarovaya<sup>\*,\*\*,#</sup>,  
T. G. Tolstikova<sup>\*,\*\*</sup>, N. F. Salakhutdinov<sup>\*,\*\*</sup>

<sup>\*</sup> *Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, ul. Lavrentjeva 9, Novosibirsk, 630090 Russia*

<sup>\*\*</sup> *Novosibirsk State University, ul. Pirogova 2, Novosibirsk, 630090 Russia*

The synthesis and evaluation of muscle relaxant activity of series of dimeric camphor derivatives are described. Compounds in which the quaternary nitrogen atoms are separated by aromatic chain exhibited the highest efficiency as muscle relaxant. It was shown the screening of a charged atom and counter-ion does not have a significant role on the activity of the studied agents.

*Keywords: camphor, muscle relaxant activity, rotating rod, inclined plate*