

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Факультет хімії та фармації
Кафедра фармацевтичної хімії

Д и п л о м н а р о б о т а

на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

на тему: «Синтез та дослідження протисудомної активності етерів

5-ізопропіл-2-метилфенолу»

«Synthesis and anticonvulsant activity investigation of 5-isopropyl-2-methylphenol ethers»

Виконала: студентка денної форми навчання
спеціальності 102 Хімія

Джафарова Руслана Рустамівна

Керівник: к.б.н. Нестеркіна М.В. _____

Рецензент: к.х.н. Ракіпов І.М.

Рекомендовано до захисту:

Протокол засідання кафедри

№ ____ від ____ грудня 2018 р.

Захищено на засіданні ЕК №__

протокол № ____ від « ____ » _____ 2018 р.

Оцінка _____ / _____ /
(за національною шкалою, за шкалою ECTS, бал)

Завідувач кафедри

_____ Андронаті С. А.
(підпис)

Голова ЕК

_____ к.х.н. Чеботарьов О.М.
(підпис)

Одеса – 2018

ЗМІСТ

ЗМІСТ	2
ВСТУП	3
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	6
1.1. 5-ізопропіл-2-метилфенол: загальні відомості та фармакологічні властивості.....	6
1.2. Загальна характеристика TRP-каналів.....	11
1.2.1. Класифікація TRP каналів.....	13
1.2.2. Термочутливі TRP канали.....	14
1.2.3. 5-ізопропіл-2-метилфенол – антагоніст TRPM7.....	15
1.3. Похідні 5-ізопропіл-2-метилфенолу.....	17
1.3.1. Карвакріл ацетат.....	17
1.3.2. Естери 5-ізопропіл-2-метилфенолу з ГАМК.....	19
1.4. ГАМК – мішень для дії протисудомних препаратів.....	21
РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	24
2.1. Матеріали дослідження.....	24
2.2. Методики проведення експериментів.....	25
2.2.1. Синтез етерів 5-ізопропіл-2-метилфенолу.....	25
2.2.2. Визначення протисудомної активності	25
2.2.2.1. Дослідження протисудомної активності сполук при сумісному введенні із фенobarбіталом.....	26
2.2.2.2. Дослідження протисудомної активності сполук при сумісному введенні із гідазепамом.....	26
2.3. Результати та їх обговорення.....	27
2.3.1. Синтез етерів 5-ізопропіл-2-метилфенолу.....	27
2.3.2. Вивчення протисудомної активності	36
2.3.2.1. Дослідження протисудомної активності сполук при сумісному введенні із фенobarбіталом.....	40
2.3.2.2. Дослідження протисудомної активності сполук при сумісному введенні із гідазепамом.....	42
ВИСНОВКИ.....	45
ЛІТЕРАТУРА	46

ВСТУП

Епілепсія є найчастішим неврологічним захворюванням, що характеризується надмірним тимчасовим розрядженням нейронів. Загальна поширеність захворювання становить 1,0% населення та до 50 млн людей по всьому світу. Незважаючи на розробку нових протисудомних препаратів, лікування епілепсії все ще залишається неповноцінним. Близько третини пацієнтів не реагують на наявне зараз лікування, навіть якщо застосовують декілька лікарських засобів з додатковою дією [1]. Крім того, понад 50% пацієнтів із епілепсією зазнають небажаних побічних ефектів від лікування, тому є потреба у відкритті нових антиконвульсивних препаратів з підвищеною ефективністю та мінімальними побічними ефектами. У зв'язку з цим актуальним є дослідження монотерпеноїдів, які є основними складовими ефірних масел – летких речовин, які мають різні біологічні властивості, такі як анагетичні, серцево-судинні та протисудомні [2].

З літератури відомо про протисудомні, антибактеріальні та анагетичні властивості монотерпеноїду тимолу [3]. Також виявлено, що він є позитивним алостеричним модулятором рецепторів гамма-аміномасляної кислоти А-типу, відмінною особливістю яких є широка поширеність в організмі, тому якісні та кількісні зміни їх складу можуть призвести до неврологічних, психічних, соматичних, гормональних розладів. Приведені відомості про тимол привертають увагу до вивчення біологічних властивостей його ізомеру – карвакролу (5-ізопропіл-2-метилфенол) – як потенційного нового потужного протиепілептичного препарату [4].

Завдяки реакційноздатній гідроксильній групі карвакролу є можливим синтез його різноманітних похідних, які проявляють фармакологічну активність. Відомо, що сполуки, синтезовані на основі ацетилювання ОН-групи (наприклад, карвакріл ацетат) демонструють анксіолітичну та антигельмінтну активність [5], а реакція етерифікації призводить до отримання естерів, які проявляють протизапальну, анагетичну та протисудомну активності (естер карвакролу з ГАМК) [6].

Таким чином, **мета** даного дослідження полягає у синтезі похідних 5-ізопропіл-2-метилфенолу з подальшим вивченням протисудомної активності отриманих похідних.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні **задачі**:

1. Здійснити синтез похідних 5-ізопропіл-2-метилфенолу на основі реакційної активності його гідроксильної групи.
2. Встановити будову синтезованих сполук за допомогою ряду фізико-хімічних методів.
3. Вивчити фармакологічну активність сполук як потенційних протисудомних агентів.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

TRP – канали транз'єєтного рецепторного потенціалу

ГАМК – гамма-аміномасляна кислота

ГДЗ – гідазепам

ГЕБ – гематоенцефалічний бар'єр

ЦНС – центральна нервова система

ДКТС – доза, що викликає клоніко-тонічні судоми

ДТЕ – доза, що викликає тонічну екстензію

ЕД₅₀ – ефективна доза

БДЗ – бензодіазепіни

АІТЦ – алілізотіоціанат

ТМС – тетраметилсилан

ЯМР – ядерний магнітний резонанс

ДЗП – діазепам

ФБ – фенобарбітал

ВИСНОВКИ

1. Синтезовано похідні 5-ізопропіл-2-метилфенолу: пропіловий, бутиловий, октиловий та бензиловий етери на основі реакційної активності його гідроксильної групи та її можливості вступати в реакції О-алкілювання.
2. Будову даних сполук підтверджено методами мас-спектрометрії, ІЧ та ^1H ЯМР-спектроскопії.
3. Експериментально підтверджено, що дані сполуки проявляють значну протисудомну активність в часовому інтервалі від 1 години до 24 годин після одноразового перорального введення.
4. За допомогою експерименту сумісного введення з класичними протисудомними препаратами: фенобарбіталом та гідазепамом було запропоновано механізм зв'язування з ГАМК-рецептором похідних 5-ізопропіл-2-метилфенолу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Марценковский И.А. Расстройства психики и поведения при эпилепсиях: клиническая типология и терапевтические стратегии / И.А. Марценковский // НЕЙРОNEWS. – 2015. – №20 (ноябрь). – С. 21-33.
2. Monoterpenoids (thymol, carvacrol and S-(+)-linalool) with anesthetic activity in silver catfish (*Rhamdia quelen*): evaluation of acetylcholinesterase and GABAergic activity / [A.E. Bianchini¹, Q.I. Garlet¹, J.A. da Cunha¹ et al] // Brazilian Journal of Medical and Biological Research. – 2017. – V.50(12). – P. 1414-1431.
3. Sancheti J. Characterization of anticonvulsant and antiepileptogenic potential of thymol in various experimental models / J. Sancheti, M. Shaikh // Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. – 2014. – V. 387. – P. 59–66.
4. Carvacrol: From Ancient Flavoring to Neuromodulatory Agent / [Margherita Zotti et al] // Molecules. – 2013. – V.18. – P.6161-6172;
5. Anxiolytic-like effects of carvacryl acetate, a derivative of carvacrol, in mice / [L.F. Pires et al] // Pharmacology, Biochemistry and Behavior. –2013. – V.112. – P.42–48.
6. Nesterkina M.V. Synthesis and Pharmacological Properties of Novel Esters Based on Monocyclic Terpenes and GABA / M.V. Nesterkina, I.A. Kravchenko // Pharmaceuticals. – 2016. – V.9(32). – P. 31-40.
7. Carvacrol [Electronic source]. – Access mode: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/carvacrol#section=Top>
8. Паштецкий В.С. Использование эфирных масел в медицине, ароматерапии, ветеринарии и растениеводстве / В.С. Паштецкий, Н.В. Невкрытая // Вестник аграрной науки. – 2018. – № 1(13). – С. 18-40.
9. Алексеева Л.И. Фенольные соединения *Thymus Talijevii* Klok. et Schost / Л.И. Алексеева, Л.В. Тетерюк // Химия растительного сырья. – 2008. – №4. – С. 65–68.

10. Suntres E. Zacharias The Bioactivity and Toxicological Actions of Carvacrol / [Zacharias E. Suntres, J. Coccimiglio, M. Alipour et al] // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2015. – V.55. – P. 304-318.
11. Mastelic J. Comparative Study on the Antioxidant and Biological Activities of Carvacrol, Thymol, and Eugenol Derivatives / J. Mastelic // J. of Agric. and Food Chem. – 2008. – V.56. – P.3989-3996.
12. Fachini-Queiroz F.C. Effects of Thymol and Carvacrol, Constituents of Thymus vulgaris L. Essential Oil, on the Inflammatory Response / F. C. Fachini-Queiroz // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2012. – V. 26. – P. 115-125.
13. Quintans-Júnior¹ L.J. Carvacrol, (–)-borneol and citral reduce convulsant activity in rodents / [L.J. Quintans-Júnior¹, A. G. Guimarães, B.E. Araújo¹ et al] // African Journal of Biotechnology. – 2010. – V. 9(39). – P. 6566-6572.
14. Austgulen L-T. Metabolism in Rats of p-Cymene Derivatives: Carvacrol and Thymol / [L-T. Austgulen, E. Solheim, R.R. Scheline et al] // Pharmacology & Toxicology. – 1987. – V. 61. – P. 98-102.
15. Нестеркіна М.В. Нові похідні терпеноїдів з протисудомною, аналгетичною та протизапальною активністю: автореф. дис. на здобуття наук ступеня кандидата біол. наук: спец. 02.00.10 «Біоорганічна хімія» / Нестеркіна Марія Володимирівна. – К., 2017. – 19 с.
16. Parnas M. Carvacrol is a novel inhibitor of Drosophila TRPL and mammalian TRPM7 channels / M. Parnas // Cell Calcium. – 2009. – V. 45. – P. 300-309.
17. Venkatachalam K. TRP Channels / K. Venkatachalam, C. Montell // Annu. Rev. Biochem. – 2007. – V.76. – P. 387-417.
18. Kaneko Y. Transient receptor potential (TRP) channels: a clinical perspective / Y. Kaneko¹, A. Szallasi // British Journal of Pharmacology. – 2014. – V.171. – P. 2474-2507.
19. Zheng J. Molecular Mechanism of TRP Channels / J. Zheng // Compr. Physiol. – 2013. – V.3(1). – P. 221-242.

20. Gohar O. The Transient Receptor Potential (TRP) Ion Channels. A Remarkable Multifunctional Superfamily / O. Gohar // *Modulator*. – 2005. – V.20. – P. 20-23.
21. Cheng W. Of TRP channel subunits: Extending functional diversity / W. Cheng, C. Sun, J. Zheng // *Protein Cell*. – 2010. – V.1. – P. 802-810.
22. Moran J. TRP ion channels in the nervous system / J. Moran, K. Clapham // *Current Opinion in Neurobiology*. – 2004. – V.14. – P. 363–369.
23. Ueda T. TRPV3, a thermosensitive channel is expressed in mouse distal colon epithelium / T. Ueda // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2009. – V. 383. – P. 130-134.
24. Chen W-L. Inhibition of TRPM7 by carvacrol suppresses glioblastoma cell proliferation, migration and invasion / W.-L. Chen // *Oncotarget*. – 2015. – V. 6(18). – P. 16321-16340.
25. Aytakin K. Carvacrol after status epilepticus (SE) prevents recurrent SE, early seizures, cell death, and cognitive decline / K. Aytakin // *Epilepsia*. – 2017. – V. 12. – P. 1-11.
26. Anthony K.P Comprehensive assessment of antioxidant activity of essential oils / [K.P. Anthony, S.A. Deolu-Sobogun, M.A. Saleh et al] // *J. Food Sci*. – 2012. – V. 77. – P. 839-843.
27. Moraes J. Anthelmintic activity of carvacryl acetate against *Schistosoma mansoni* / J. Moraes // *Parasitol Res*. – 2013. – V. 12. – P. 603-610.
28. Jasmin L. GABA puts a stop to pain / [L. Jasmin, M.V Wu, P.T. Ohara et al] // *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord*. – 2004. – V. 3. – P. 487-505.
29. Nesterkina M.V. Thymol ester gamma-aminobutyric acid: Synthesis and anticonvulsant activity / M.V. Nesterkina, I.A. Kravchenko // *ONU Herald*. – 2015. – V. 20. – P. 60-67.
30. Story G.M. The emerging role of TRP channels in mechanisms of temperature and pain sensation / G.M. Story // *Curr. Neuropharmacol*. – 2006. – V. 4. – P. 183-196.

31. Salat K. Antinociceptive activity of transient receptor potential channel TRPV1, TRPA1, and TRPM8 antagonists in neurogenic and neuropathic pain models in mice / K. Salat, B. Filipek // J. Zhejiang Univ. Sci. – 2015. – V. 16. – P. 167-178.
32. Тюренокв І.Н. Роль ГАМК-рецепторів у розвитку патологічних процесів / І.Н. Тюренокв, В.Н. Перфилова // Експериментальна та клінічна фармакологія. – 2008. – Т.74 №2. – С. 47-52.
33. Cherubini E. Generating diversity at GABAergic synapses / E. Cherubini, F. Conti // Trends Neurosci. – 2001. – V. 24. – P. 155-162.
34. Bormann J. The 'ABC' of GABA receptors / J. Bormann // Trends Pharmacol Sci. – 2000. – V. 21. – P. 16-19.
35. Nutt D.M. Role of GABAA Receptors in Sleep Disorders / D.M. Nutt // Journal of Clinical Sleep Medicine. – 2006. – V. 2 No. 2. – P. 7-11.
36. Smith G.B. Functional domains of GABAA receptors / G.B. Smith, R.W. Olsen // Trends Pharmacol Sci. – 1995. – V. 16. – P. 162-168.
37. Brown J. Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) / J. Brown // Alternative Medicine Review. – 2007. – V. 12 No 3. – P. 216-223.
38. Kumbhar P.P. Eco-friendly Pest Management Using Monoterpenoids. I. Antifungal Efficacy of Thymol Derivatives / P.P. Kumbhar, P.M. Dewang // Journal of Scientific & Industrial Research. – 2001. – V. 60. – P. 645-648.
39. Кравченко І.А. Трансдермальное введение лекарственных препаратов / І.А. Кравченко. – Одеса: Астропрінт. – 2000. – 174 с.
40. Лысенко Т.А. Клиническая фармакология противосудорожных средств в образовательном процессе студентов / [Т.А. Лысенко, Е.Е. Зацепина, Н.М. Ивашев и др.] // Международный журнал экспериментального образования. – 2012. – №12 (сентябрь). – С. 19-22.
41. Thome´-Souza S. Lamotrigine and valproate: efficacy of co-administration in a pediatric population / [S. Thome´-Souza, A. Freitas, KD Valente et al] // Pediatr Neurol. – 2003. – V. 28. – P. 360-364.

42. Reeta K.H. Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions of valproate, phenytoin, phenobarbitone and carbamazepine with curcumin in experimental models of epilepsy in rats / [K.H. Reeta, J. Mehla, M. Pahuja et al.] // Pharmacology, Biochemistry and Behavior. – 2011. – V.99. – P. 399–407.
43. Андронаті С.А. Гидазепам: учебное пособие / С.А. Андронаті, Т.А. Воронина, Н.Я. Головенко; под. ред. С.А. Андронаті. – К.: Наукова думка, 2001. – 195 с.
44. Головенко М.Я. Фармако-токсикологическая характеристика гидазепама и его метаболитов / М.Я. Головенко, Е.В. Преподобная // Современные проблемы токсикологии. – 2007. – №4. – С. 39-41.
45. Незнамов Г.Г. Экспериментальное и клиническое обоснование комплексного применение пирацетама и гидазепама при лечении психических расстройств / [Г.Г. Незнамов, В.В. Кошелев, Т.А. Воронина и др] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т.65 №2. –С. 12-16.
46. Nesterkina M.V. Thymol ester of gamma-aminobutyric acid: synthesis and anticonvulsant activity/ M.V. Nesterkina, I.A. Kravchenko // Вісник Одеського національного університету. – 2015. – Т.20 №4. – С. 60-67.