

На правах рукописи

Зыкова Светлана Сергеевна

**РЕАКЦИИ НЕКОТОРЫХ 1, 2, 4 -ТРИКАРБОНИЛЬНЫХ И
1, 3, 4, 6 - ТЕТРАКАРБОНИЛЬНЫХ СИСТЕМ С АМИНАМИ И
АРИЛИДЕНАМИНАМИ В СИНТЕЗЕ БИОЛОГИЧЕСКИ
АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Пермь-2002

Работа выполнена в Пермской государственной фармацевтической академии

Научный руководитель: доктор химических наук,
профессор Козьминых В. О.

Официальные оппоненты: доктор химических наук,
профессор Гейн В.Л.
доктор фармацевтических наук,
профессор Халиуллин Ф.А.

Ведущая организация: Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия

Защита состоится 17 декабря 2002 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.01 при Пермской государственной фармацевтической академии по адресу: 614000, г. Пермь, ГСП-277, ул. Ленина, 48.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Пермской государственной фармацевтической академии.

Автореферат разослан «15» ноября 2002 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

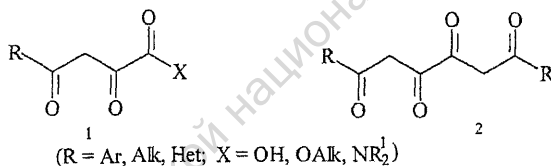


Метелева Е.В.

Актуальность проблемы. Хорошо известными представителями 1,2,4-трикарбонильных систем являются ацилпировиноградные кислоты (АПК) и некоторые их производные, получаемые конденсацией Кляйзена соответствующих метилкетонов с эфирами щавелевой кислоты в присутствии оснований. АПК выступают в качестве удобных синтонов для получения разнообразных нециклических карбонильных соединений, а также кислород- и азотсодержащих гетероциклов.

Среди важных в препаративном отношении реакций ацилпировиноградных кислот и их производных, имеющих теоретическое и практическое значение, особое место занимают нуклеофильные превращения этих синтонов.

Наряду с ацилпировиноградными кислотами и их производными - эфирами, амидами, гидразидами (1), близкие к ним по строению 1,3,4,6-тетракарбонильные соединения (ТКС) (2) также являются перспективными реакционноспособными субстратами в реакциях с разнообразными нуклеофильными реагентами. 1,3,4,6-ТКС также получают реакцией Кляйзена.

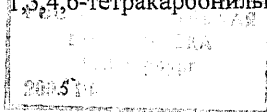


Реакции 1,2,4-трикарбонильных систем, имеющих в качестве заместителей R алкильное звено, а также 1,3,4,6-тетракарбонильных соединений с аминами и арилиденаминами (основаниями Шиффа) практически не изучены. В связи с этим исследование нуклеофильных превращений перечисленных трикарбонильных и тетракарбонильных систем с аминами и илиденаминами, а также изучение биологической активности продуктов реакций является актуальным.

Цель работы. Целью настоящей работы является получение новых биологически активных кислород- и азотсодержащих карбонильных соединений на основе реакций некоторых 1,2,4-три- и 1,3,4,6-тетракарбонильных систем с аминами и их илиденпроизводными. В связи с тем, что имеется ограниченное число доступных представителей 1,2,4-трикарбонильных и 1,3,4,6-тетракарбонильных соединений, мы выбрали для изучения реакций с аминами и арилиденаминами по одному наиболее подходящему исходному субстрату.

Задачи исследования. Для достижения поставленной цели сформулированы следующие задачи:

1. Сравнительное изучение реакций основных представителей 1,2,4-трикарбонильных и 1,3,4,6-тетракарбонильных систем: пивало-



илпировиноградной кислоты, 1,6-дифенил-3,4-дигидрокси-2,4-гексадиен-1,6-диона, этилового эфира 3,4-дигидрокси-2-карбамоил-6-фенил-6-оксо-2,4-гексадиеновой кислоты с аминами и арилиденаминами.

2. Установление строения и изучение свойств продуктов реакций 1,2,4-трикарбонильных и 1,3,4,6-тетракарбонильных соединений с аминами и арилиденаминами – амидов пивалоилпировиноградной кислоты, 3-пивалоилметилен-2,3-дигидро-4Н-1,4-бензоксазин-2-онов, 3-пивалоилметилен-3,4-дигидрохиноксалин-2-она, 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидропирролин-2-онов, этиловых эфиров 4-аминопроизводных 3-гидрокси-2-карбамоил-6-оксо-6-фенил-2,4-гексадиеновой кислоты и 6-арил-4-бензоилацетил-4-гидрокси-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазинов.

3. Исследование биологической активности амидов и 2-аминозамещенных амидов пивалоилпировиноградной кислоты, 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидропирролин-2-онов, этиловых эфиров 4-аминопроизводных 3-гидрокси-2-карбамоил-6-оксо-6-фенил-2,4-гексадиеновой кислоты и 6-арил-4-бензоилацетил-4-гидрокси-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазинов. Выявление качественной взаимосвязи строения полученных соединений с их биологической активностью.

Научная новизна.

1. Впервые установлено, что реакция пивалоилпировиноградной кислоты с аминами протекает хемоселективно и приводит к замещенным амидам пивалоилпировиноградной кислоты.

2. Разработан препаративный метод синтеза 3-пивалоилметилен-2,3-дигидро-4Н-1,4-бензоксазин-2-онов и 3-пивалоилметилен-3,4-дигидрохиноксалин-2-она на основе взаимодействия пивалоилпировиноградной кислоты с о-аминофенолом, его нитропроизводными и о-фенилендиамином.

3. Разработан препаративный метод синтеза биологически активных 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидропирролин-2-онов реакцией пивалоилпировиноградной кислоты с арилиденаминами.

4. Впервые показано, что этиловый эфир 3,4-дигидрокси-2-карбамоил-6-фенил-6-оксо-2,4-гексадиеновой кислоты региоселективно взаимодействует с аминами, образуя этиловые эфиры 4-аминопроизводные 3-гидрокси-2-карбамоил-6-оксо-6-фенил-2,4-гексадиеновой кислоты.

5. Разработан препаративный метод синтеза 6-арил-4-бензоилацетил-4-гидрокси-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазинов на основе взаимодействия 1,6-диарил-3,4-дигидрокси-2,4-гексадиен-1,6-диона с арилиденаминами.

6. Среди испытанных соединений обнаружены вещества, обладающие противомикробной, анальгетической, противовоспалительной, противоопухолевой, ноотропной и антигипоксической активностью.

Практическая ценность.

Разработано четыре препаративных метода синтеза. Получено 72 новых соединения. Среди 51 исследованного соединения обнаружены вещества с бактериостатической, противоопухолевой, анальгетической, противовоспалительной, антигипоксической и ноотропной активностью. Исследованные соединения являются практически неotoxicными. 3-Гидрокси-5-*н*-нитрофенил-4-пивалоил-1-*н*-толил-2,5-дигидро-2-пирролон, обладающий значительной бактериостатической активностью, тиазолиламид пивалоилпировиноградной кислоты, обладающий анальгетической и противовоспалительной активностью, а также 2-пиридиламид-2-топиламино-5,5-диметил-4-оксо-2-гексеновой кислоты, проявляющий анальгетический эффект, рекомендуются для дальнейшего углубленного исследования. Для некоторых рядов соединений выявлены закономерности в системе «структура – активность», что может быть использовано в дальнейшем поиске биологически активных веществ.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на конференциях Пермской фармацевтической академии, в частности, на юбилейной межвузовской научно-практической конференции, посвященной 40-му выпуску провизоров заочного обучения ПГФА (Пермь, 2000), областной научной конференции молодых ученых и аспирантов «Молодежная наука Прикамья» (Пермь, 2000), международной научной конференции, посвященной 80-летию со дня основания Естественно-научного института при Пермском государственном университете «Перспективы развития естественных наук в высшей школе» (Пермь, 2001), научной конференции ПГФА, посвященной 85-летию высшего образования на Урале, на молодежной школе-конференции «Актуальные проблемы органической химии» (Екатеринбург, 2002) и других конференциях.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 4 статьи (из них 2 – в центральной печати) и 10 тезисов докладов на конференциях.

Объем и структура диссертации. Содержание работы изложено на 135 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов и приложения. Список литературы включает 104 работы отечественных и зарубежных авторов. Диссертация содержит 24 таблицы, 10 рисунков, 10 схем.

На защиту выносятся:

1. Результаты исследования взаимодействия некоторых 1,2,4-

трикарбонильных и 1,3,4,6-тетракарбонильных соединений с аминами и арилиденаминами.

2. Установление строения полученных соединений на основании данных ИК-, ЯМР ^1H -, ^{13}C -спектроскопии и масс-спектрометрии.

3. Результаты биологических испытаний синтезированных соединений на противомикробную, противоопухолевую, анальгетическую, противовоспалительную, ноотропную и антигипоксическую активность и исследования острой токсичности.

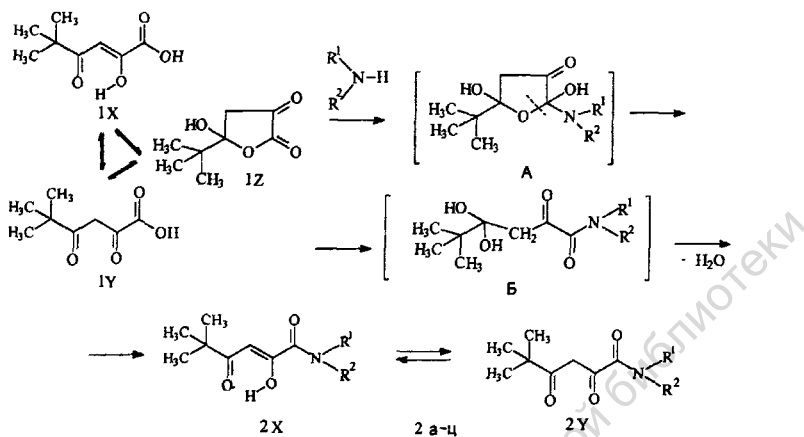
Основное содержание работы

1. Взаимодействие ацилпировиноградных кислот с аминами

Известно, что ароилпировиноградные кислоты и их производные легко реагируют с ариламинами, образуя 4-арил-2-ариламино-4-оксо-2-бутеновые кислоты. Реакции алканойлпировиноградных и, в частности, пивалоилпировиноградной кислоты с аминами ранее подробно не были изучены. Нами исследовано взаимодействие пивалоилпировиноградной кислоты (1), существующей в растворах в виде смеси, по крайней мере, трех таутомерных форм (1X, 1Y, 1Z) с аминами (схема 1). В результате реакции выделены амиды пивалоилпировиноградной кислоты (2 а-х), которые в растворах присутствуют в виде смеси кето-енольной и β -дикетонной форм (2X) и (2Y) (схема 1) [1-5].

Вероятно, на первой стадии реакции амин атакует электрофильный центр при атоме углерода в положении 2 цикла кольчатой лактонной формы пивалоилпировиноградной кислоты (1Z). Далее, возможно, происходит дедиклизация интермедиата А с последующей дегидратацией промежуточного продукта Б, что приводит к образованию амида (2). Полученные амиды представляют собой белые или белые с желтоватым оттенком кристаллические вещества. В спектрах ЯМР ^1H амидов (2 а-х), снятых в $\text{DMSO}-d_6$, присутствуют синглет метинового протона C^3H при 5,82-6,55 м.д., синглет протонов группы CH_2 при 3,35-4,08 м.д., что свидетельствует о присутствии как кето-енольной формы (2X), так и минорного β -дикетонного таутомера (2Y) [4]. В ИК спектрах соединений (2) кроме полосы поглощения амидного карбонила $3240\text{-}3284\text{ см}^{-1}$ присутствует широкая низкочастотная полоса, соответствующая валентным колебаниям карбонильных групп β -дикетонного фрагмента в области $1560\text{-}1635\text{ см}^{-1}$, что свидетельствует о наличии хелатного цикла с ВМВС типа $\text{-O-H}\cdots\text{O=C}<$ [4].

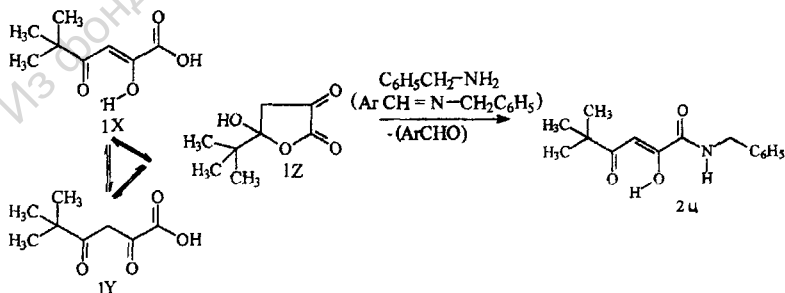
Схема 1



2: R=R¹=H (2a); R=H; R¹=CH₃ (2б); R=H; R¹=(CH₃)₂CH (2в); R=H; R¹=циклогексил (2г); R=H; R¹=4-CH₃C₆H₄ (2д); R=H; R¹=2-пиридил (2е); R=H; R¹=3-пиридил (2ж); R=H; R¹=4-пиридил (2з); R=H; R¹=2-пиримидил (2и); R=H; R¹=4-BrC₆H₄ (2к); R=H; R¹=4-C₂H₅OCOC₆H₄ (2л); R=H; R¹=4-H₂NSO₂C₆H₄ (2м); R=H; R¹=2-BrC₆H₄ (2н); R=H; R¹=антипирил (2о); R=H; R¹=2-ClC₆H₄ (2п); R=H; R¹=2-IC₆H₄ (2р); R=R¹=морфолил (2с); R=H; R¹=C₆H₅ (2т); R=H; R¹=2-тиазолил (2у); R=H; R¹=2-CH₃OCOC₆H₄ (2ф); R=H; R¹=2,4-Cl₂C₆H₃ (2х); R=H; R¹=CH₂C₆H₅ (2ц).

Реакция пивалоилпировиноградной кислоты (1) как с бензиламином, так и его производными – арилиденбензиламинами приводят к образованию бензиламида пивалоилпировиноградной кислоты (2ц) (схема 2) [1-5].

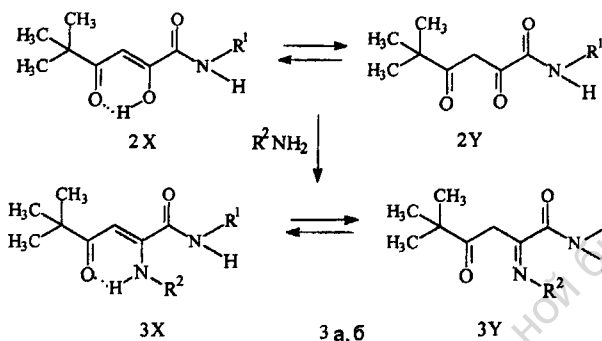
Схема 2



Пивалоилпировамиды (2) в мягких условиях реагируют с бензиламином или ариламинами, образуя продукты замещения по α-

карбонильной группе – соответствующие амиды 2-бензиламино- или 2-ариламино-5,5-диметил-4-оксо-2-гексеновой кислоты (3), также существующие в растворах в виде двух таутомеров (3X) и (3Y) (схема 3)[3, 4].

Схема 3

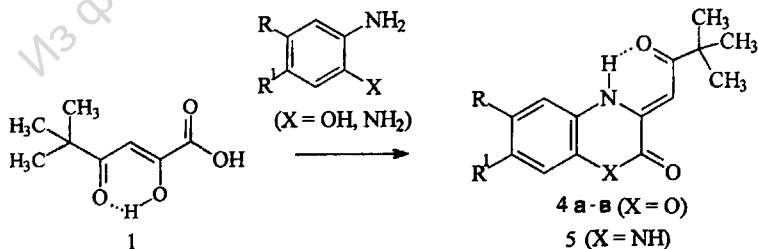


3: $R^1=CH_2C_6H_4$; $R^2=4-CH_3C_6H_4$ (3a); $R^1=2$ -пиридил; $R^2=4-CH_3OC_6H_4$ (3б).

Строение полученных соединений (2) и (3) доказано с помощью спектральных методов анализа [1-5].

Известно, что 3-ароилметилпроизводные 1,4-бензоксазин-2-онов и 2-хиноксалонов обладают широким спектром биологической активности и находят применение в органическом синтезе как удобные для модификации синтоны с кольчато-цепным енаминокарбонильным звеном. Нами разработан препаративный способ получения биологически активных 3-пивалоилметил-2,3-дигидро-4H-1,4-бензоксазин-2-онов (4а-в: X=O) и 3-пивалоилметил-3,4-дигидрохиноксалин-2-она (5: X=NH), заключающийся во взаимодействии пивалоилпировиноградной кислоты (1) в мягких условиях с *o*-аминофенолом, его нитропроизводными и *o*-фенилендиамином (схема 4) [6].

Схема 4

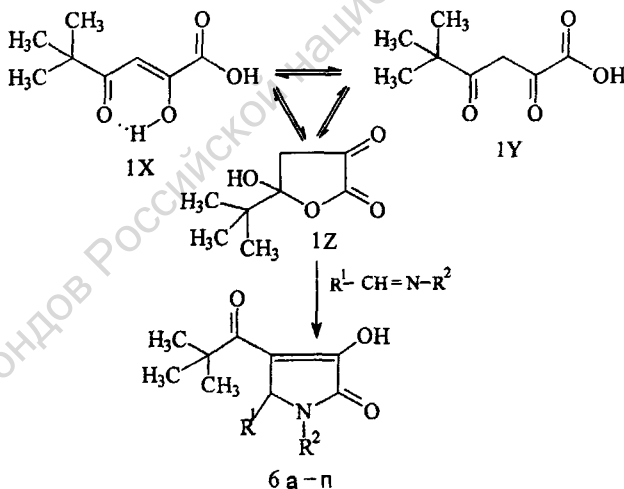


4: X = OH; R=H; $R^1=H$ (4a); X = OH; R=NO₂; $R^1=H$ (4б); X=O; R=H; $R^1=NO_2$ (4в); 5: X = NH; R= $R^1=H$

2. Реакция пивалоилпировиноградной кислоты с арилиденарил-амминами

Известно, что эфиры ацилпировиноградных кислот взаимодействуют с бензилиденаминами или смесью ароматических альдегидов и аминов, образуя биологически активные 1,5-дизамещенные 4-ацетил- и 4-ароил-3-гидрокси-2,5-дигидро-2-пирролоны. Нами впервые установлено, что пивалоилпировиноградная кислота (1) реагирует с арилиденаминами при кратковременном кипячении смеси реагентов в этаноле с образованием 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидро-2-пирролонов (6а-п) (схема 5) [7-9]. В спектрах ЯМР ^1H соединений (6а-п), снятых в $\text{DMSO}-d_6$, присутствуют синглет маркерного метинового протона C^3H при 5,83-6,39 м.д. При добавлении к раствору соединений в $\text{DMSO}-d_6$ трифторуксусной кислоты положение сигналов протонов практически не меняется. Присутствие енольного гидроксила в 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидро-2-пирролонах подтверждается характерной красно-коричневой окраской, которую дают соединения (6а-п) с 10% спиртовым раствором хлорида железа(III).

Схема 5



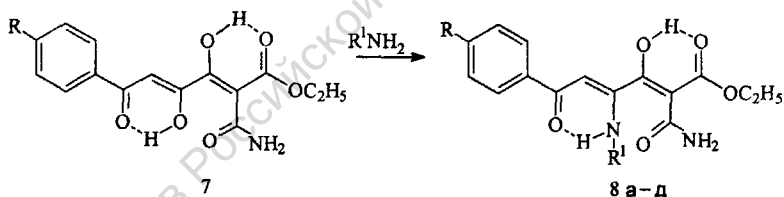
6 : $\text{R}^1 = \text{C}_6\text{H}_5$, $\text{R}^2 = \text{C}_6\text{H}_5$ (6а); $\text{R}^1 = 4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2 = 4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ (6б); $\text{R}^1 = 4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2 = 4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (6в); $\text{R}^1 = 4\text{-BrC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2 = 4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ (6г); $\text{R}^1 = \text{R}^2 = 4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (6д); $\text{R}^1 = 4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2 = 4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (6е); $\text{R}^1 = 4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2 = 4\text{-C}_2\text{H}_5\text{OC}_6\text{H}_4$ (6ж); $\text{R}^1 = 4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2 = \text{C}_6\text{H}_5$ (6з); $\text{R}^1 = 4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2 = \text{C}_6\text{H}_5$ (6и); $\text{R}^1 = 4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2 = 4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ (6к); $\text{R}^1 = 4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2 = 2\text{-пиридил}$ (6л);

$R^1=4\text{-FC}_6\text{H}_4$; $R^2=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (6м); $R^1=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$; $R^2=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ (6н); $R^1=4\text{-(CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4$; $R^2=2\text{-пиридил}$ (6о); $R^1=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$; $R^2=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (6п)

3. Реакция этилового эфира 3,4-дигидрокси-2-карбамоил-6-фенил-6-оксо-2,4-гексадиеновой кислоты с аминами

Известно, что 5-арил-2,3-дигидро-2,3-фурандионы легко вступают в реакцию Кневенагеля с производными малоновой кислоты в присутствии триэтиламина с образованием этиловых эфиров или амидов 2-замещенных 6-арил-3,4-дигидрокси-6-оксо-2,4-гексадиеновых кислот. Эта реакция имеет ограниченное применение вследствие невозможности получения гетерофункциональных производных ТКС. Нами разработан новый способ функционализации эфиров 3-оксокислот (7). Установлено, что этиловый эфир 3,4-дигидрокси-2-карбамоил-6-фенил-6-оксо-2,4-гексадиеновой кислоты (7) реагирует с аминами и 2-аминопиримидином с образованием биологически активных этиловых эфиров 4-аминопроизводных 3-гидрокси-2-карбамоил-6-фенил-6-оксо-2,4-гексадиеновой кислоты (8 а-д) (схема 6) [10-13]. Соединения (8) представляют собой светло-желтые кристаллические вещества.

Схема 6



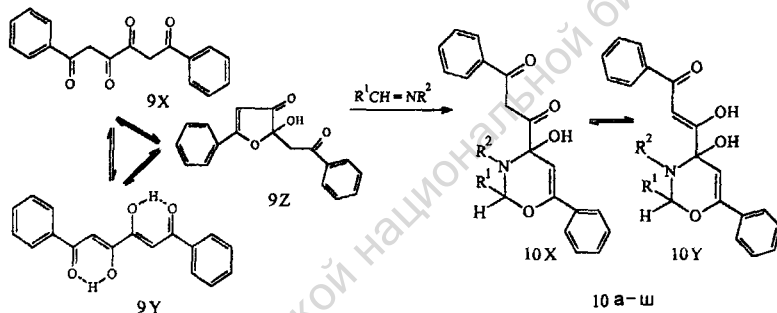
8 : $R=\text{H}$, $R^1=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ (8а); $R=\text{H}$, $R^1=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (8б); $R=\text{H}$, $R^1=4\text{-BrC}_6\text{H}_4$ (8в); $R=\text{H}$, $R^1=2\text{-пиримидил}$ (8г); $R=\text{CH}_3$, $R^1=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (8д)

4. Взаимодействие 1,6-дифенил-3,4-дигидрокси-2,4-гексадиен-1,6-диона с ариленарилaminaми

1,6-дифенил-3,4-дигидрокси-2,4-гексадиен-1,6-дион, выбранный нами в качестве реакционного субстрата для изучения реакции с ариленарилaminaми, в растворах полярных слабоосновных растворителей (ДМСО) представляет собой равновесную смесь по крайней мере трех таутомерных форм (9X, 9Y, 9Z) [14]. Следует отметить, что количественно преобладает линейная диоксодиенольная форма (9Y), за счет которой, вероятно, и осуществляется

взаимодействие с арилиденарилами. Нами установлено, что 1,6-диарил-3,4-дигидрокси-2,4-гексадиен-1,6-дион (9) взаимодействует с арилиденарилами с образованием 6-арил-4-бензоилацетил-4-гидрокси-2-фенил-5,6-дигидро-2-фенил-4Н-1,3-оксазинов (10) (схема 6). Соединения (10 а-ш) образуются с препаративными выходами. В растворах соединения (10) представлены как преобладающей β-диоксоформой по бензоилацетильному фрагменту (10X), так и минорного β-кетоенольного таутомера (10Y). Структура прототропных форм установлена на основании данных спектроскопии ЯМР ^1H : маркерными сигналами является синглет двух метиленовых протонов группы CH_2 (10X) при 3,44-4,08 м.д. и синглет метинового протона группы CH (10Y) при 5,82-6,55 м.д.

Схема 7



10: $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{C}_6\text{H}_5$ (10а), $\text{R}^1=4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (10б); $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ (10в); $\text{R}^1=\text{R}^2=4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (10г); $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-BrC}_6\text{H}_4$ (10д); $\text{R}^1=4\text{-BrC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ (10е); $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=\text{C}_6\text{H}_5$ (10ж); $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (10з); $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (10и); $\text{R}^1=4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-BrC}_6\text{H}_4$ (10к); $\text{R}^1=4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=\text{C}_6\text{H}_5$ (10л); $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-BrC}_6\text{H}_4$ (10м); $\text{R}^1=4\text{-(CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-BrC}_6\text{H}_4$ (10н); $\text{R}^1=4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=2\text{-пиридил}$ (10о); $\text{R}^1=4\text{-(CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-COONC}_6\text{H}_4$ (10п); $\text{R}^1=4\text{-FC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (10р); $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (10с); $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-COONC}_6\text{H}_4$ (10т); $\text{R}^2=4\text{-BrC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=2\text{-пиридил}$ (10у); $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=2\text{-пиридил}$ (10ф); $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-COONC}_6\text{H}_4$ (10х); $\text{R}^1=4\text{-BrC}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=2\text{-пиридил}$ (10ц); $\text{R}^1=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=2\text{-пиридил}$ (10ч); $\text{R}^1=4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{R}^2=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ (10ш)

Структура синтезированных соединений доказана с помощью спектральных методов анализа.

Таким образом, нами были изучены реакции некоторых 1,2,4-трикарбонильных и 1,3,4,6-тетракарбонильных систем с аминами и

их илиденпроизводными и показано, что исследования в этом направлении являются актуальными и перспективными.

Выражаем благодарность доценту кафедры органической химии Пермской фармацевтической академии, кандидату химических наук Игидову Н.М. и старшему научному сотруднику Естественно-научного института при Пермском государственном университете, кандидату фармацевтических наук Махмудову Р.Р. за участие в совместной работе и консультации.

5. Биологическая активность синтезированных соединений

Среди полученных соединений биологическим испытаниям подвергнуты 49 соединений. Изучена противомикробная (бактериостатическая), противоопухолевая, анальгетическая, противовоспалительная, ноотропная (антиамнестическая) и антигипоксическая активность. У большинства соединений определена острая токсичность.

5.1. Острая токсичность

Острая токсичность (LD_{50}) синтезированных соединений была определена в Естественно-научном институте при Пермском государственном университете кандидатом фармацевтических наук Махмудовым Р.Р. У исследованных соединений острая токсичность превышает 1000 мг/кг при внутрибрюшинном пути введения. Изученные вещества по классификации токсичности Измерова - Сидорова относятся к практически нетоксичным.

5.2. Противомикробная активность

Скрининговые испытания противомикробной активности синтезированных соединений проведены на кафедре микробиологии Пермской государственной фармацевтической академии под руководством кандидата фармацевтических наук, доцента Одеговой Т.Ф.

Бактериостатическую активность 42 соединений исследовали методом двукратных серийных разведений в мясо-пептонном бульоне на эталонных штаммах золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* M₁₇ и кишечной палочки *Escherichia coli* P-209. Установлено, что испытанные соединения обладают противомикробной активностью при минимальной ингибирующей концентрации (МИК) от 7,8 до 1000 мкг/мл. Наиболее выраженный бактериостатический эффект обнаружен у 3-гидрокси-5-*n*-нитрофенил-4-пивалоил-1-*n*-толил-2,5-дигидропиррол-2-она (бв), который активен как по отношению к штаммам кишечной палочки (МИК 15,6 мкг/мл), так и золотистого стафилококка (МИК 7,8 мкг/мл) и практически не уступает по действию известным антибактериальным препаратам – производным 4-оксихинолин-3-карбоновой кислоты: флумеквину, оксолиниевой и

налидиксовой кислотам (табл. 1). 3-Гидрокси-5-*п*-нитрофенил-4-пивалоил-1-*п*-толил-2,5-дигидро-2-пирролон (6в), обладающий высокой бактериостатической активностью, рекомендуется для дальнейшего углубленного исследования.

Таблица 1

Противомикробное действие наиболее активных соединений







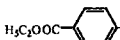








Соединения	Минимальная ингибирующая концентрация, МИК, мкг/мл	
	<i>Staphylococcus aureus</i> P-209	<i>E. coli</i> M ₁₇
6 в	7,8	15,6
6 г	15,6	31
6 ж	31	62
Оксалиниевая кислота *	12,5 - >256	0,5 - 16
Налидиксовая кислота *	12,5 - >256	0,5 - 8
Флумеквин *	12,5 - >256	0,5 - 16

* Указаны пределы колебаний МИК

5.3. Анальгетическая активность





Исследование анальгетической активности проводилось в Естественно-научном институте при Пермском государственном университете. Проведен скрининг анальгетической активности 28 синтезированных соединений с помощью метода «горячей пластинки» по Эдди и Леймбах. Эффект сравнивали с анальгином и ортофеном. Исследуемые соединения или анальгин вводили внутривентриально в дозе 50 мг/кг, ортофен – внутривентриально в дозе 10 мг/кг. Данные биологических испытаний показывают, что соединения обладают умеренной анальгетической активностью (таблицы 2–6). Введение толильной группы повышает анальгетическую активность по сравнению с другими радикалами. Наиболее сильное анальгетическое действие проявили тиазолиламид пивалоилпировиноградной кислоты (2у) и 2-пиридиламид-2-толиламино-5,5-диметил-4-оксо-2-гексеновой кислоты (2б). Для углубленного исследования рекомендуется тиазолиламид пивалоилпировиноградной кислоты (2у).

Таблица 2
**Анальгетическая активность амидов пивалоилпировиноградной
 кислоты (2 в-и, л, н-п, с-ф, у)**

Соединение (препарат сравнения)	R ¹	Острая токсичность (ЛД ₅₀ , мг/кг)	Время оборонительного рефлекса, сек
2 в	(CH ₃) ₂ CH	> 1000	22,30 ± 1,13 *
2 г		> 1000	22,20 ± 0,98 *
2 д		> 1000	17,0 ± 0,76 *
2 е		> 1000	19,80 ± 1,16
2 ж		> 1000	20,40 ± 0,83 *
2 з		> 1000	18,60 ± 0,70
2 и		> 1000	19,0 ± 0,94 *
2 л		> 1000	19,80 ± 1,66
2 н		> 1000	17,60 ± 0,72 *
2 о		> 1000	19,60 ± 0,87 *
2 п		> 1000	19,40 ± 0,88 *
2 с	NR ¹ , R ² = 	> 1000	19,70 ± 1,14
2 т		> 1000	24,0 ± 1,73 *
2 у		> 1000	27,0 ± 1,22 *
2 ф		> 1000	21,1 ± 1,45
2 ц		> 1000	20,6 ± 1,16
Анальгин		2900	16,40 ± 3,00 *
Ортофен		380	26,2 ± 0,96 *
Контроль (2% крахм.слизь)		-	10,6 ± 1,6 *



* p ≤ 0,05

Таблица 3
Анальгетическая активность 2-иминопроизводных амидов
пivaloилпировиноградной кислоты (3 а,б)

Соединения (препарат сравнения)	R	R ¹	Острая токсичность (ЛД ₅₀ , мг/кг)	Время оборони- тельного рефлекс, сек
3 а			> 1000	20,30±1,12*
3 б			> 1000	26,0±0,86*
Анальгин			2900	16,40 ± 3,00*
Ортофен			380	26,2 ± 0,96*
Контроль (2% крахм.слизь)			-	10,7±1,6*

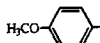
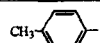

* p ≤ 0,05

Таблица 4
Анальгетическая активность 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пivaloил-
2,5-дигидро-2-пирролонов (б з, и)

Соединения	R ¹	R ²	Острая токсичность (ЛД ₅₀ , мг/кг)	Время оборонительного рефлекса, сек
б з			> 1000	11,7±0,84*
б и			> 1000	17,6±1,45
Анальгин			2900	16,40 ± 3,00*
Ортофен			380	26,2 ± 0,96*
Контроль (2% крахм.слизь)			-	10,6 ± 1,6*

* p ≤ 0,05













Таблица 5
Анальгетическая активность этиловых эфиров 4-
аминозамещенных 3-гидрокси-2-карбамоил-6-оксо-6-фенил-2,4-
гексадиеновой кислоты (8 а, в)

Соедине- ния	R ¹	Острая токсичность (ЛД ₅₀ , мг/кг)	Время оборонительного рефлекса, сек
8 а		> 1000	16,2 ± 1,32*
8 б		> 1000	25,6 ± 0,87*
8 в		> 1000	16,4 ± 1,91
Анальгин		2900	16,40 ± 3,00*
Ортофен		380	26,2 ± 0,96*
Контроль (2% крахм.слизь)		-	10,4±1,3*

* p ≤ 0,05

Таблица 6

Анальгетическая активность замещенных 6-арил-4-бензоилацетил-4-гидрокси-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазинов (10 а, б, г, и, н, т)

Со-единение	R ¹	R ²	Острая токсичность (ЛД ₅₀ , мг/кг)	Время оборонительного рефлекса, сек
10 а			> 1000	18,2±1,09 *
10 б			> 1000	21,8±2,63 *
10 и			> 1000	23,8±0,86 *
10 г			> 1000	14,0±1,45
10 т			> 1000	19,2±1,07 *
10 н			> 1000	11,4±0,81 *
Анальгин			2900	16,40 ± 3,00 *
Ортофен			380	26,2 ± 0,96 *
Контроль (2% крахм.слизь)			-	10,8 ± 1,6 *

* p ≤ 0,05

5.4. Ноотропная (антиамнестическая) активность

Ноотропная (антиамнестическая) активность синтезированных пирролонов изучена методом психогенной амнезии на кафедре фармакологии Пермской государственной фармацевтической академии кандидатом биологических наук Шуклиной Н.С. под руководством доктора биологических наук, профессора Колла В.Э.

Определяли способность тест-соединений снимать амнезию, а также увеличивать время латентного периода и влиять на количество животных, зашедших в темный отсек экспериментальной камеры. Исследуемые соединения вводили белым беспородным крысам внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг в виде суспензии в 2% крахмальной слизи. Эффект сравнивали с действием современного препарата - пиррацетама (таблица 7) [6]. Установлено, что соединение (6в) обладает слабой ноотропной активностью (таблица 7)

Таблица 7

Ноотропная (антиамнестическая) активность 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидро-2-пирролонов (6 а, в)

Соединение	Время в светлом отсеке, сек	Время в темном отсеке, сек	Кол-во крыс, зашедших в темный отсек, %	Время в светлом отсеке, сек	Время в темном отсеке, сек	Кол-во крыс, зашедших в темный отсек, %	Δt , (t ₁ - t ₂), сек
6 а	9,2	170,8	100	55,2	124,8	80	46,0
6 в	13,6	166,4	100	80,2	93,8	60 *	66,6 *
Пира - цетам	18,3	161,7	100	148,5	41,2	40 *	130,2 *
Конт - роль	16	164,0	100	42,9	137,1	100 *	26,0 *

* p ≤ 0,05

5.5 Антигипоксическая активность

Антигипоксическая активность синтезированных соединений проверена на модели гипоксии с гиперкапнией в Естественно-научном институте при Пермском государственном университете. Эксперимент проводился на беспородных белых мышках. Исследуемые соединения вводили в дозе 50 мг/кг внутривнутрибрюшинно за 1 час до опыта в виде суспензии в 2% крахмальной слизи. Животное помещали в герметичный сосуд и отмечали время начала опыта (t₁). Концом опыта считали гибель животного (t₂). Антигипоксический эффект сравнивали с гутимином. Как показали исследования, соединение (6б) обладает антигипоксической активностью, уступающей гутимину (табл. 8).

Таблица 8

Антигипоксическая активность 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидро-2-пирролонов (б а-в, и, о)

Соединение	Острая токсичность (ЛД ₅₀ , мг/кг)	Средняя продолжительность жизни, t, мин.	Δ t, (t ₁ -t ₂), %
б а	> 1000	31,79 ± 1,67; p ≤ 0,05	6,58
б б	> 1000	38,84 ± 2,82; p ≤ 0,05	24,22
б в	> 1000	29,12 ± 1,14; p ≤ 0,05	-2,42
б и	> 1000	31,79 ± 1,61; p ≤ 0,05	9,84
б о	> 1000	29,10 ± 0,77; p ≤ 0,05	7,07
Гутимин	386 (358-417)	39,00 ± 3,12; p ≤ 0,05	35,42
Контроль (2% крахм.слизь)	-	28,80 ± 1,82; p ≤ 0,05	-

5.6. Противоопухолевая активность

Исследование противоопухолевой активности соединений проводилось в Национальном Институте по изучению рака в США (National Cancer Institute, США). Испытания проводили *in vitro* на трёх экспериментальных культурах опухолей: лёгких - серия клеток NCI-H460, молочной железы - серия MCF7 и центральной нервной системы - серия SF-268. Соединения вводили в концентрации $1,00 \cdot 10^{-4}$ М, эффект оценивали по величине процента роста PG (Percentage Growth) клеток опухоли (активность тем больше, чем больше отрицательное значение величины PG). Сопоставление результатов с активностью известных препаратов не проводилось, поскольку активные концентрации противоопухолевых средств (например, аналогов адриамицина, а также таксола и галихондрина) всегда воспроизводятся в различных сериях эксперимента. Наибольший противоопухолевый эффект обнаружен у 3-гидрокси-5-*п*-нитрофенил-4-пивалоил-1-*п*-толил-2,5-дигидро-2-пирролона (бв), который активен на культурах опухолей лёгких (PG -45%) и центральной нервной системы (PG -33%) [5, 6].



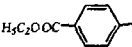


5.7. Противовоспалительная активность

Противовоспалительную активность изучали на белых крысах массой 170-200 г на модели каррагенинового отека. О силе антиэкссудативного действия исследуемых соединений в дозе 50мг/кг внутрь судили по степени подавления воспалительной реакции в % к контролю. Эффект сравнивали с современным антифлогистиком – ортофеном, который вводили внутривнутрибрюшинно в дозе 10 мг/кг (таблица 9). Наибольшей противовоспалительной активностью обладают

тиазолиламид (2у) и 3-пиридиламид (2ж) пивалоилпировиноградной кислоты. Тиазолиламид пивалоилпировиноградной кислоты (2у) рекомендуется для углубленных исследований.

Таблица 9

Противовоспалительное действие амидов пивалоилпировиноградной кислоты (2 д, ж, л, т, у)

Соединение	R ¹	Острая токсичность (ЛД ₅₀ , мг/кг)	Ингибирование отека, % к контролю
2 д		> 1000	19, 2*
2 ж		> 1000	24, 4*
2 л		> 1000	23, 1
2 т		> 1000	22, 4
2 у		> 1000	34, 4*
Ортофен (в дозе 10 мг/кг)		380	52, 9*

* p ≤ 0,05

6. Выводы

1. Проведено сравнительное изучение реакций некоторых 1,2,4-трикарбонильных и 1,3,4,6-тетракарбонильных систем с аминами и арилиденаминами и установлено, что пивалоилпировиноградная кислота хемоселективно взаимодействует с аминами, образуя соответствующие амиды, при вовлечении в реакцию пивалоилпировиноградной кислоты с о-аминофенолом и его нитропроизводными образуются 3-пивалоилметилден-2,3-дигидро-4Н-1,4-бензоксазин-2-оны, с о-фенилендиамином - 3-пивалоилметилден-3,4-дигидро-2-хиноксалин-2-он, с арилиденаминами получены 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидро-2-пирролоны.

2. Обнаружено, что в результате реакции этилового эфира 3,4-дигидрокси-2-карбамоил-6-фенил-6-оксо-2,4-гексадиеновой кислоты с аминами образуются этиловые эфиры 4-аминозамещенные 3-гидрокси-2-карбамоил-6-оксо-6-фенил-2,4-гексадиеновой кислоты, взаимодействие 1,6-диарил-3,4-дигидрокси-2,4-гексадиен-1,6-диона с арилиденаминами приводит к замещенным 6-арил-4-бензоилацетил-4-гидрокси-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазинам.

3. Разработано четыре препаративных метода синтеза 72 новых соединений, установлено их строение и изучены свойства продуктов реакций некоторых 1,2,4-трикарбонильных и 1,3,4,6-

тетракарбонильных соединений с аминами и их производными – илиденаминами.

4. Исследована биологическая активность полученных амидов пивалоилпировиноградной кислоты, 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидропирролин-2-онов, этиловых эфиров 4-аминопроизводных 3-гидрокси-2-карбамоил-6-оксо-6-фенил-2,4-гексадиеновой кислоты, 6-арил-4-бензоилацетил-4-гидрокси-5,6-дигидро-4Н-1,3-оксазинов. 3-Гидрокси-5-*n*-нитрофенил-4-пивалоил-1-*n*-толил-2,5-дигидропирролин-2-он, обладающий противоопухолевой и бактериостатической активностью, тиазолиламид и 3-пиридиламид пивалоилпировиноградной кислоты, обладающий анальгетической и противовоспалительной активностью, рекомендуются для дальнейшего углубленного исследования.

Список опубликованных работ

1. Ширилкина, С.С. Пивалоилпировиноградная кислота – новый реагент для ацилирования аминов / Ю.С. Касаткина, В.О. Козьминых, С.С. Ширилкина и др.// Актуальные проблемы фармацевтической науки и образования: итоги и перспективы. Мат. юбил. межвуз. науч.-практ. конф. проф.-препод. состава, посвящ. 40 выпуску провизоров заочного обучения Перм. гос. фарм. акад.- Пермь, 2000.- С. 83-84.

2. Ширилкина, С.С. Синтез биологически активных енаминопроизводных пивалоилпируваамидов на основе взаимодействия замещённых амидов пивалоилпировиноградной кислоты с аминами / Е.С. Березина, Н.М. Игидов, С.С. Ширилкина и др.// Енамины в органическом синтезе. III Уральская конф. Тез. докл.- Пермь, 1999.- С. 10.

3. Ширилкина, С.С. Синтез и биологическая активность амидов пивалоилпировиноградной кислоты и их 2-иминопроизводных / Н.М. Игидов, Е.С. Березина, С.С. Ширилкина и др. // Перспективы развития естественных наук в высшей шк. : Сб. научн. тр., посвящ. 80-летию Естественно-научного института при Перм. госуниверситете.- Пермь, 2001. - С. 150-152.

4. Ширилкина, С.С. Амиды и гидразиды ацилпировиноградных кислот. VIII. Синтез амидов пивалоилпировиноградной кислоты и их взаимодействие с бензиламином и ариламинами / Е.С. Березина, В.О. Козьминых, С.С. Ширилкина и др.// Журн. орган. химии.- 2001. -Т. 37.- Вып.4.- С. 574-579.

5. Ширилкина, С.С. Взаимодействие 2,2,9,9-тетраметил-3,5,6,8-тетраоксодекана с аминами и функционализированными гидразинами в синтезе цепных и кольчатых производных пивалоилпируваамидов и гидразидов, обладающих противомикробной активностью/ О.А. Со-

фьяна, Н.М. Игидов, С.С. Ширилкина и др.// Совр. пробл. экол., микробиол. и иммунол.: Мат. регион. конф. мол. учён. - Пермь, 1999. - С. 104-105.

6. Зыкова, С.С. Способ получения биологически активных 3-пивалоилметиленипроизводных 1,4-бензоксазин-2-она и 2-хиноксалона / С.С. Зыкова, Н.М. Игидов, В.О. Козьминых и др.// Актуал. пробл. орган. химии.: Тез. плен. и станд. докл. - Екатеринбург, 2002.- С. 188.

7. Ширилкина, С.С. Взаимодействие пивалоилпировиноградной кислоты с арилиденаминами в синтезе новых биологически активных соединений / С.С. Ширилкина, Н.М. Игидов, Е.С. Березина, В.О. Козьминых// Актуал. пробл. фарм. науки и образования: Итоги и перспективы : Мат. юбил. межвуз. науч.-практ. конф. проф.-препод. состава, посвящ. 40 вып. провизоров заоч. обучения Перм. гос. фарм. мац. акад. - Пермь, 2000.- С. 82.

8. Зыкова, С.С. Синтез и фармакологическая активность 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидро-2-пирролонов/ В.О. Козьминых, Н.М. Игидов, С.С. Зыкова и др.// Хим.-фарм.журн.-2002.- Т. 36, № 4. - С. 23-26.

9. Ширилкина, С.С. Взаимодействие 2,2,9,9-тетраметил-3,5,6,8-тетраоксодекана с арилиденаминами в синтезе новых биологически активных соединений / Скрыльчик С.А., Ширилкина С.С., Игидов Н.М.и др.// Мат. 56 итог. научн. студ. конф. ДГМУ. - Хабаровск, 1999. - С. 98.

10. Ширилкина, С.С. Синтез и бактериостатическая активность некоторых производных эфиров 2,4-гексадиеновых кислот / С.Е. Махова, С.С. Ширилкина, Н.М. Игидов, В.О. Козьминых // Актуал. пробл. соврем. медицины.: Мат. междунар. научн. студ. конф. МГМИ. - Минск, 1999.- С. 46.

11. Ширилкина, С.С. Синтез и биологическая активность некоторых производных эфиров 2,4-гексадиеновых кислот /С.Е. Махова, В.О. Козьминых, Н.М. Игидов, С.С. Ширилкина // Актуал. проб. хирург.: Студ. мед. наука '99.: Мат. итог. студ. конф. с междунар. участ. ММИ.- М., 1999.- С. 89-90.

12. Ширилкина, С.С. Синтез и биологическая активность эфиров и амидов 2-замещенных 6-арил-3,4-дигидрокси-6-оксо-2,4-гексадиеновых кислот и их производных/ Ю.С. Касаткина, С.С. Ширилкина, Н.М. Игидов и др.// Перспективы развития естественных наук в высш. шк.: Сб. научн. тр., посвящ. 80-летию Естественнонаучного института при Перм. госуниверситете.- Пермь, 2001.- С. 135-139.

13. Ширилкина, С.С. Хемоселективные реакции NH-нуклеофилов с 1,3,4,6-тетракарбонильными соединениями и оксосистемами, со-

держашими активированные кратные связи, в синтезе биологически активных веществ/ Н.М. Игидов, Е.Н. Козьминых, С.С. Ширинкина и др.// Фармация в XXI веке: инновации и традиции.: Тез. докл. междунар. науч. конф.- Санкт-Петербург, 1999.- С. 17-18.

14. Ширинкина, С.С. Взаимодействие 1,3,4,6-тетракарбонильных соединений с арилиденаминами/ С.С. Ширинкина, Н.М. Игидов, В.О. Козьминых // 80 лет фармац. образованию и науке на Урале: итоги и перспективы. Тез. докл. конф.- Пермь, 1998.- С. 62-63.



Из фондов Российской национальной библиотеки

Из фондов Российской национальной библиотеки

Заказ № 253

Изготовлено в ООО "Печатный салон "Гармония".
Лицензия на полиграфическую деятельность серия ПД № 00894 от 15.03.2001 г
Адрес: Россия, 614000, г Пермь, ул Кирова, 34, тел (3422) 12-01-13, 12-82-09
E-mail. ham@perm.raid.ru

Тираж 100 экземпляров.

№ 2 2569

2002-A

22569

Из фондов Российской национальной библиотеки