

На правах рукописи

ЮСОВ АЛЕКСЕЙ СЕРГЕЕВИЧ

**СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
ЕНАМИНОВ РЯДА 1,2,3,4 – ТЕТРАГИДРОИЗОХИНОЛИНА И ИХ
ПРОИЗВОДНЫХ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Пермь - 2019

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, доцент **Михайловский Александр Георгиевич**

Официальные оппоненты:

Халиуллин Феркат Адельзянович – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии, заведующий кафедрой;

Юнникова Лидия Петровна – доктор химических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д. Н. Прянишникова», кафедра общей химии, профессор кафедры.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург.

Защита диссертации состоится «17» декабря 2019 г. в ____ .00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2. Телефон / факс (342) 233-55-01).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (614070, г. Пермь, ул. Крупской, д. 46) и на сайте (<http://www.pfa.ru>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «____» _____ 2019 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,
кандидат химических наук

Замараева Татьяна Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Введение

Актуальность темы. Ведущая роль в химии лекарственных веществ принадлежит гетероциклам. Видное место среди них занимает изохинолин. Поиск новых эффективных лекарств путем простого расширения уже известных рядов изохинолина малоэффективен. Более плодотворны поиски с использованием последних достижений в области органического синтеза, так как при этом открываются новые структуры и существенно расширяется арсенал веществ для биологического скрининга. В частности во 2-й половине прошлого века для построения изохинолинового цикла была предложена реакция Риттера. На ее основе получены изохинолины самого различного действия: противосудорожное, спазмолитическое, анальгетическое, противовоспалительное, антигельминтное, инсектицидное и другие. Особо следует отметить вещества, влияющие на сердечно-сосудистую систему (антиаритмическое действие, артериальное давление, свертываемость крови и т. д.).

Циклизация по Риттеру с целью поиска лекарственных веществ может рассматриваться в двух направлениях: первый путь – построение целевой структуры непосредственно в процессе замыкания цикла. Второй путь – получение активных реагентов (синтонов), дающих возможность варьировать структуры, создавая их химическое разнообразие. Реагентами такого рода являются енамины, химия которых успешно развивалась последние 40 лет.

До настоящего времени реакция Риттера в качестве инструмента поиска биологически активных соединений использована недостаточно. То же самое можно сказать относительно енаминов ряда изохинолина.

Особый интерес представляют сложные конденсированные системы, содержащие структуру изохинолина, которые могут быть получены на основе названных реагентов.

Степень разработанности темы исследования. Синтезы изохинолинов по Риттеру, осуществленные в 50-70-х годах прошлого века, не имели широкого применения вследствие низких выходов. Метод приобрел препаративное значение в 80-90-х годах благодаря работам российских ученых (г. Пермь) под руководством профессора В. С. Шкляева. Успешные синтезы стали возможны благодаря вкладу представителя этой школы Б. Б. Александрова. Дальнейшие модификации метода привели к построению не только изохинолина, но и других циклов (Ю. В. Шкляев, В. А. Глушков).

С учетом имеющихся достижений в этой области, представляется возможным создать химическое разнообразие веществ для фармакологических исследований.

Цель работы. Направленный синтез новых веществ – производных изохинолина, которые могут служить в качестве потенциальных лекарственных средств и как новые реагенты в органическом синтезе. На основе синтетической базы предполагается широкий фармакологический скрининг и установление связи фармакологического действия со строением.

Задачи исследования. Для достижения данной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Разработать методы синтеза по Риттеру новых производных изохинолина за счет модификации обоих составляющих этого синтеза – карбинола (или производного эвгенола) и нитрила.
2. Исследовать реакционную способность синтезированных соединений.

3. Подтвердить строение полученных соединений с помощью современных физико-химических методов анализа: ИК, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, рентгеноструктурного анализа (РСА).

4. Провести анализ данных фармакологического скрининга синтезированных соединений на различные виды биологической активности, изучить зависимость «структура – фармакологическое действие», выявить наиболее перспективные соединения для дальнейшего изучения.

Научная новизна работы. По реакции Риттера получены неизвестные ранее ряды веществ, существующих в виде основания в форме енамина: 3,3-дипропил-замещенные, 1-дихлорметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолины, производные енаминогидразида ряда 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина, а также енамины ряда 3-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина.

Впервые на основе енаминов ряда 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина синтезирован ряд енаминотиоамидов. Кроме того, впервые получены продукты реакции енаминоамидов с нингидрином, представляющие собой конденсированные индено[1,2-*b*]пирролы. Обнаружена ацилирующая способность 1-бензоил- и 1-карбэтокси-пирроло[1,2-*a*]изохинолин-2,3-дионов, а также их возможности в реакциях гетероциклизации.

На основании данных спектров ИК, ЯМР ^1H , ЯМР ^{13}C , масс-спектров и РСА установлена структура полученных соединений.

Всего получено 104 новых соединения, для 71 из них имеются результаты скрининга на анальгетическую, противовоспалительную, антигельминтную, инсектицидную активность, изучено влияние на свертывающую систему крови. Выявлено наиболее активное вещество, для которого целесообразны дальнейшие фармакологические исследования.

Теоретическая и практическая значимость. Разработаны методы синтеза новых производных изохинолина: 3,3-диалкил-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден-ацетамидов (в том числе 3,3-дипропил-производных), а также схожих с ними по изохинолиновому фрагменту 1-дихлорметил-изохинолинов и *N*-замещенных 1-ацетогидразида-изохинолинов.

Практически важным является синтез 3-метилизохинолинов на основе эвгенола, так как при этом отпадает стадия получения исходного карбинола по Гриньяру. Эвгенол является продуктом крупнотоннажного промышленного производства.

В ходе превращений енаминов ряда 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина, также получены ряды новых соединений. Таким образом, на основе начальных теоретических изысканий создана синтетическая база для фармакологического скрининга. Выявлены соединения проявляющие разнообразные виды активности, такие как анальгетическая, антигельминтная, инсектицидная, противовоспалительная, влияние на свертываемость крови, по уровню действия, не уступающие препаратам сравнения.

Закономерности, выявленные при анализе связи действия со строением, полезны для дальнейших поисков. Наиболее активное соединение рекомендовано для углубленных исследований с целью внедрения в практику в качестве потенциального антигельминтного и анальгетического средства.

Методология и методы исследования. В ходе работы применялись основные методы органического синтеза и выделения продуктов реакции. Строение синтезированных соединений подтверждено современными методами установления структуры, состава и чистоты: ИК-, ЯМР ^1H -, ^{13}C -спектроскопия, масс-спектрометрия, элементный анализ и РСА. Фармакологическая активность полученных веществ изучена согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Миронов А. Н.).

Положения, выносимые на защиту:

1. Синтез, строение и свойства ранее неизвестных енаминов ряда 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина и их функциональных производных.
2. Исследование структуры полученных соединений на основании данных ИК, ЯМР ^1H , ЯМР ^{13}C , масс-спектров и рентгеноструктурного анализа.
3. Результаты анализа данных фармакологического скрининга для полученных соединений. Установление взаимосвязи их строения с действием.

Достоверность полученных данных. Результаты исследований получены на приборах: ИК-спектры на спектрометре Specord M-80, спектры ЯМР ^1H на Bruker AMX 300 (300 МГц) и Bruker AMX 500 (500 МГц), спектры ЯМР ^{13}C на Bruker AMX Bruker AMX 500 на частоте 125 МГц, для масс-спектров использовался спектрометр Finnigan MAT. INCOS-50 7890A/5975C с энергией ионизирующих электронов 70 эВ. Элементный анализ был проведен на приборе CHNS-932 Leco Corporation. Рентгенодифракционное исследование соединений было выполнено на автоматическом дифрактометре XCalibur фирмы Agilent с координатным CCD детектором EOS (Agilent Technologies UK Ltd, Yarnton, Oxfordshire, England). Достоверность научных положений и выводов базируется на достаточных по своему объему данных и количеству материала, современных методах исследования и статистической обработке данных.

Личный вклад автора. Автор лично принимал участие в поиске, обобщении и анализе данных зарубежной и отечественной научной литературы по методам получения, химическим свойствам и биологической активности производных енаминов ряда 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина. Автором выполнен весь химический эксперимент, осуществлена интерпретация результатов физико-химических методов анализа, фармакологического скрининга и оформлена диссертация.

Публикации. Основные результаты научных исследований отражены в публикациях: 15 статей в изданиях Перечня ВАК и 8 тезисов докладов на конференциях различного уровня.

Апробация результатов. Материалы диссертационной работы доложены на Всероссийской школе–конференции с международным участием «Байкальская школа–конференция по химии 2017» (Иркутск, 2017), VII Молодежной конференции ИОХ РАН (Москва, 2017), V Всероссийской конференции с международным участием «Енамины в органическом синтезе» посвященной 100-летию со дня рождения профессора В.С. Шкляева (Пермь, 2017), I Всероссийской научной конференции с международным участием «Синтез, анализ и технологии в контексте зеленой химии» (Астрахань, 2017), Научно-практической конференции с международным участием «Создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление развития фармацевтической науки» (Пермь, 2017), Международной научной конференции, посвящённой 100-летию кафедры органической химии ПГНИУ «От синтеза полиэтилена до стереодивергентности: развитие химии за 100 лет» (Пермь, 2018), VIII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2018), Научно-практической конференции с международным участием «Создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление развития фармацевтической науки», (Пермь, 2018).

Внедрение результатов исследования. Материалы исследования используются в учебной и научно-исследовательской работе студентов химического факультета (кафедры фармакологии и фармации) ФГБОУ ВО ПГНИУ РФ (акт внедрения от 15.03.2019).

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, выводов, списка литературы. Диссертация содержит 31 схему, 33 таблицы, 7 рисунков. Список литературы включает ссылки на 183 работы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия». Результаты проведенного исследования соответствуют области специальности, конкретно пункту 1 – исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения структуры синтетического и природного происхождения и выявления связей и закономерностей между строением и свойствами веществ.

Благодарность. Автор выражает благодарность к. б. н., доценту Чащиной С. В. (ПГФА, г. Пермь), к. м. н., доценту Старковой А. В. (ПГФА, г. Пермь), к. м. н., доценту Рудаковой И. П. (ПГФА, г. Пермь), д. м. н., проф. Сыропятову Б. Я. (ПГФА, г. Пермь), к. фарм. н., доценту Махмудову Р. Р. (ПГНИУ, г. Пермь) за исследования анальгетической, противовоспалительной, инсектицидной, антигельминтной, антиаритмической и гемостатической активности, к. х. н. Гартману Г. А. (ПГФА, г. Пермь) за проведение исследований соединений методом ЯМР-спектроскопии, с. н. с., к. х. н. Корчагину Д. В. (ИПХФ РАН, Черноголовка) за проведение рентгеноструктурного анализа.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Синтез и биологическая активность производных изохинолина

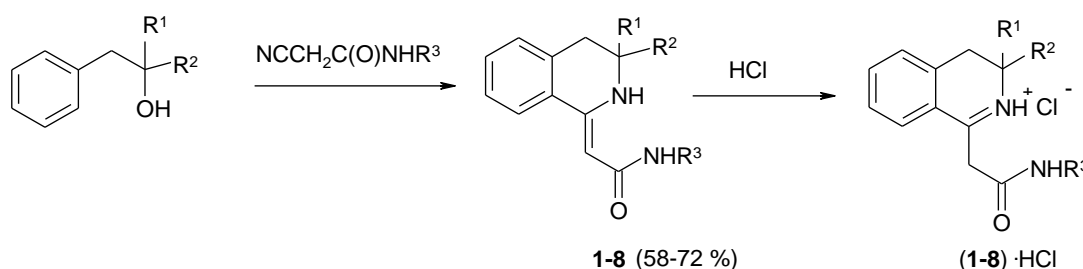
В главе систематизированы литературные данные по методам синтеза, химическим свойствам, биологической активности енаминов ряда 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина и их производных.

Глава 2. Синтез, строение и свойства енаминов ряда 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина и их функциональных производных

2.1. Синтез (3,3-диалкил-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден)-*N*-алкил-ацетамидов

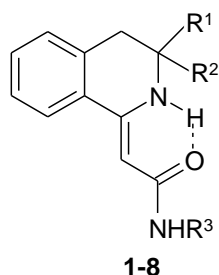
Реакцией диалкилбензилкарбинолов с *N*-алкил-цианацетамидами синтезированы целевые (3,3-диалкил-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден)-*N*-алкил-ацетамиды **1–8** (схема 1).

Схема 1



$\text{R}^1 + \text{R}^2, \text{R}^3: 2\text{Me}, n\text{-Pr}(\mathbf{1}); 2\text{Me}, n\text{-Bu}(\mathbf{2}); 2\text{Me}, n\text{-C}_6\text{H}_{11}(\mathbf{3}); \text{MeEt}, n\text{-Bu}(\mathbf{4}); (\text{CH}_2)_4, \text{H}(\mathbf{5}); (\text{CH}_2)_4, n\text{-Pr}(\mathbf{6}); (\text{CH}_2)_4, n\text{-Bu}(\mathbf{7}); (\text{CH}_2)_5, \text{H}(\mathbf{8}).$

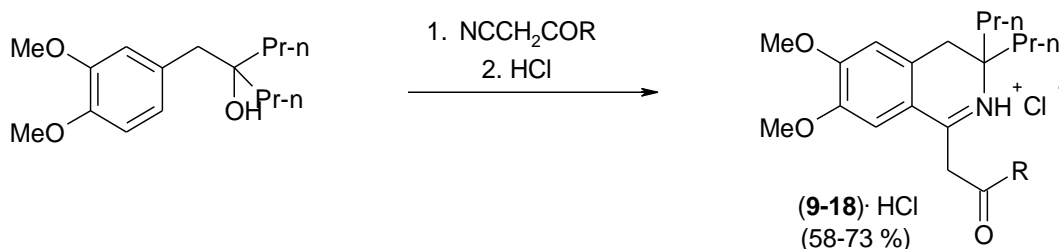
Структура полученных соединений доказана данными ИК и ЯМР ^1H спектров. В ИК спектрах оснований **1–8**, снятых в 0,01 м растворе хлороформа, присутствуют уширенные полосы хелатированных групп $\text{C}=\text{O}$ ($1600\text{--}1620\text{ см}^{-1}$) и NH цикла ($3050\text{--}3100\text{ см}^{-1}$). Полученные данные свидетельствуют об *N*-хелатировании, которое предполагает существование оснований енаминов **1–8** в *Z*-конфигурации.



2.2. Синтез (3,3-дипропил-6,7-диметокси-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден)-ацетамидов

Циклоконденсацией 4-(3,4-диметоксибензил)гептан-4-ола с *N*-замещёнными цианоацетамидами синтезированы целевые изохинолины **9–18** (схема 2), гидрохлориды которых существуют в имино-форме.

Схема 2

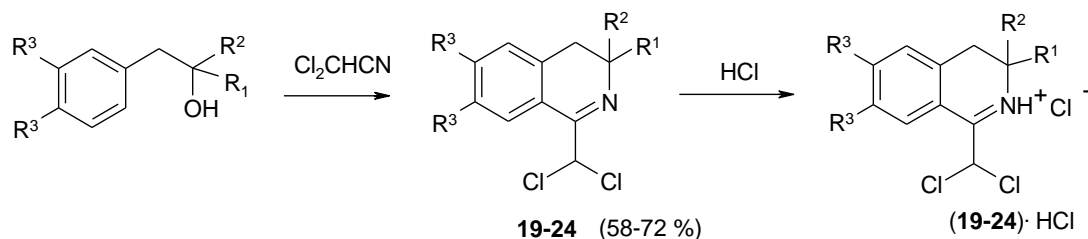


R: NH₂ (**9**); NHMe (**10**); NEt (**11**); 1-пирролидино (**12**); 1-пиперидино (**13**); 1-гексаметиленимино (**14**); 1-морфолино (**15**); циклогексиламино (**16**); NHC₆H₃(Me)_{2-2,4} (**17**); NH(CH₂)₂C₆H₃(MeO)_{2-3,4} (**18**).

2.3. Синтез хлоридов 1-дихлорметил-3,3-диалкил-3,4-дигидроизохинолиния

Синтез соединений **19–24** осуществлен циклоконденсацией диалкилбензилкарбинолов с дихлорацетонитрилом (схема 3).

Схема 3



R¹ + R², R³: 2Me, H (**19**); Me + Et, H (**20**); (CH₂)₄, H (**21**); 2Me, MeO (**22**); 2Et, MeO (**23**); (CH₂)₄, MeO (**24**).

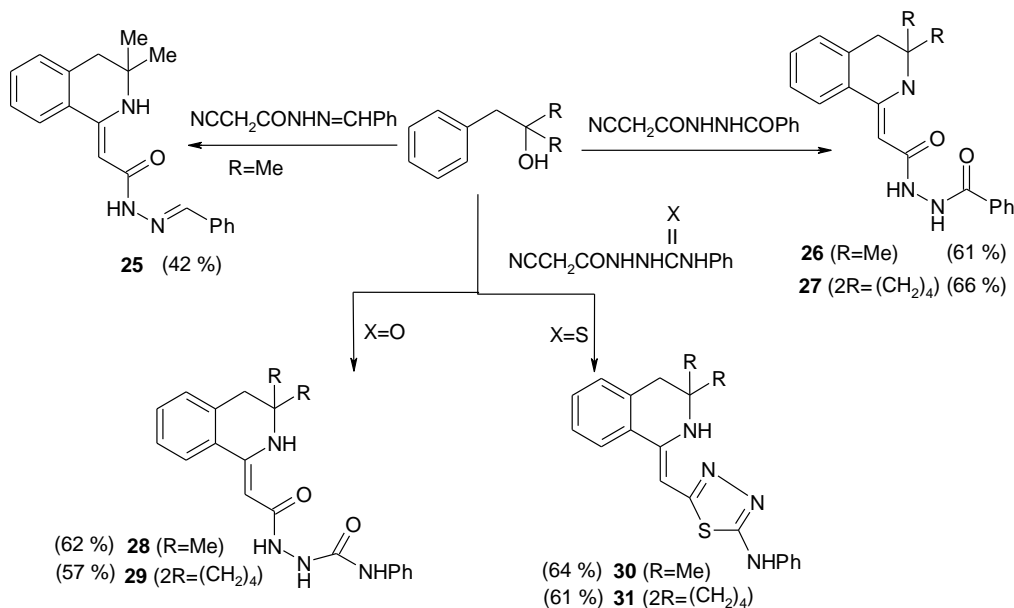
В спектрах гидрохлоридов имеются уширенные синглеты протона группы NH⁺ в области 8.15–8.46 м.д. Спектры содержат также соответствующие сигналы протонов заместителей R¹, R², R³, 4-CH₂ и ароматического фрагмента, интегральная интенсивность которых соответствует числу протонов. ИК спектры оснований полученных соединений содержат полосы поглощения групп C=N в области 1630 см⁻¹.

2.4. *N*-замещённые цианацетилгидразиды в синтезе 3,3-диалкил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов по реакции Риттера

Прямая циклизация цианацетилгидразида не удается, вследствие его неустойчивости. Исследования показали, что 4 варианта защиты атома азота гидразидной группы дают нужный результат. Циклоконденсацией карбинола с гидразоном получен изохинолин **25**, взаимодействие с *N*-бензоил-цианацетилгидразином приводит к *N*-бензоилированным енаминогидразидам **26**, **27** (схема 4).

Реакция карбинолов с амидом, полученным действием фенилизотиоцианата, приводит к изохинолинам **28**, **29** (схема 4). При использовании в качестве нитрильной составляющей аналогичного тиамида образуются производные 1,3,4-тиадиазола **30**, **31**.

Схема 4



Структура полученных соединений доказана данными ИК-, масс-, ЯМР ^1H - и ЯМР ^{13}C спектров.

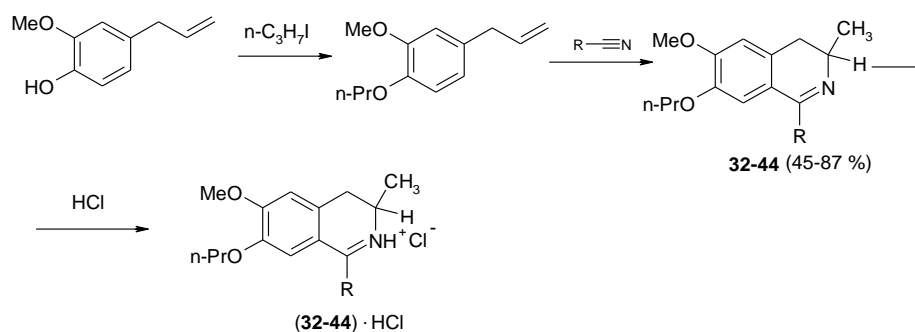
Спектры ЯМР ^{13}C соединений **25–29** содержат сигналы в области 22–28 м.д., (3-С-алкильные группы), в областях 38–40 м.д. (4-СН₂), а также около 50 м.д. (малоинтенсивный четвертичный атом 3-С), сигналы около 80 м.д. (НС=) и ароматических атомов углерода (118–135 м.д.). Кроме того, спектры соединений **25–29** имеют сигналы карбонильных групп в области после 140 м.д. Спектры производных 1,3,4-тиадиазола содержат сигналы групп С=N в составе цикла 1,3,4-тиадиазола (152 и 158 м.д.). С целью более убедительного доказательства строения осуществлён рентгеноструктурный анализ структуры соединения **31**.

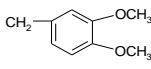

2.5. Синтез 3-метил-3,4-дигидроизохинолинов на основе эвгенола

2.5.1. Синтез, гидрохлоридов 1-замещённых 3-метил-6-метокси-7-(*n*-пропокси)-3,4-дигидроизохинолина

Синтез производных изохинолина **32–44** осуществлён известной реакцией циклоконденсации *O*-*n*-пропилированного эвгенола с соответствующими нитрилами (схема 5).

Схема 5

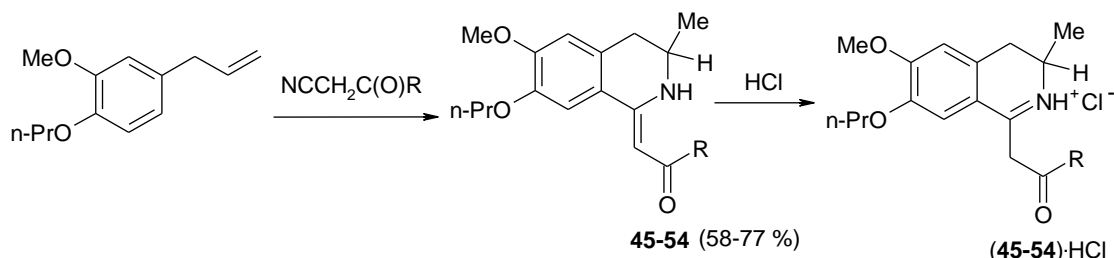


R: Bn (**32**); H (**33**); *n*-Pr (**34**); CH₂Cl (**35**); Ph (**36**); *iso*-Pr (**37**); Me (**38**);  (**39**); *n*-Bu (**40**);  (**41**); *p*-Cl-C₆H₅ (**42**); CH₂CO₂C₂H₅ (**43**); CH₂CH₂OCH₃ (**44**).

2.5.2. Синтез амидов 2-(3-метил-6-метокси-7-(*n*-пропокси)-3,4-дигидроизохинолин-1)-этановой кислоты

Синтез амидов **45–54** осуществлён реакцией циклоконденсации *O*-алкилированного эвгенола с цианоацетамидами (схема 6). Структура полученных соединений доказана данными спектров ЯМР ^1H и ИК.

Схема 6

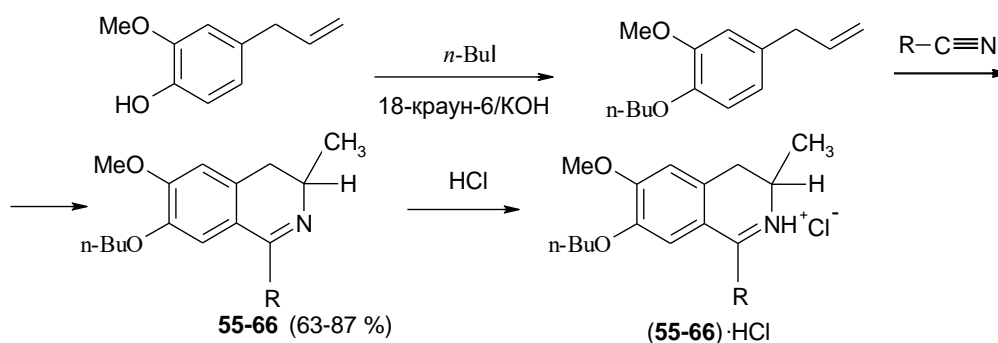


Где R=NH₂ (**45**), NHMe (**46**), NHEt (**47**), циклогексиламино (**48**), NHBn (**49**), (CH₂)₂C₆H₃(MeO)₂-3,4 (**50**), (-)-L-NHCH(Me)Ph (**51**), 1-пирролидино (**52**), 1-пиперидино (**53**), 1-морфолино (**54**).

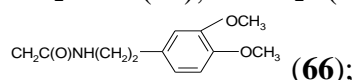
2.5.3. Синтез 1-замещённых 3-метил-6-метокси-7-(*n*-бутокси)-3,4-дигидроизохинолина

Синтез производных изохинолина **55–66** осуществлён реакцией циклоконденсации *O*-алкилированного эвгенола с соответствующими нитрилами (схема 7). Структура полученных соединений доказана данными спектров ЯМР ^1H и ИК.

Схема 7



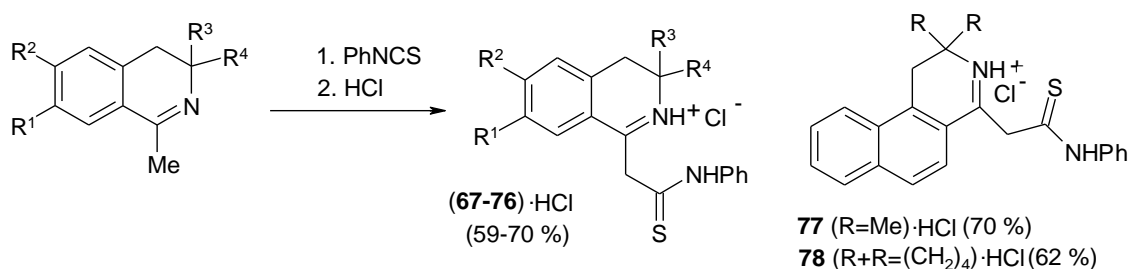
R: H (**55**); Me (**56**); *n*-Pr (**57**); *p*-Br-C₆H₄ (**58**); Bn (**59**); CH₂CH₂OCH₃ (**60**); CH₂CH₂OC₆H₅ (**61**); CH₂Cl (**62**); CH₂C(O)NH₂ (**63**); CH₂C(O)N(CH₂)₄ (**64**); CH₂C(O)N(CH₂)₄O (**65**);



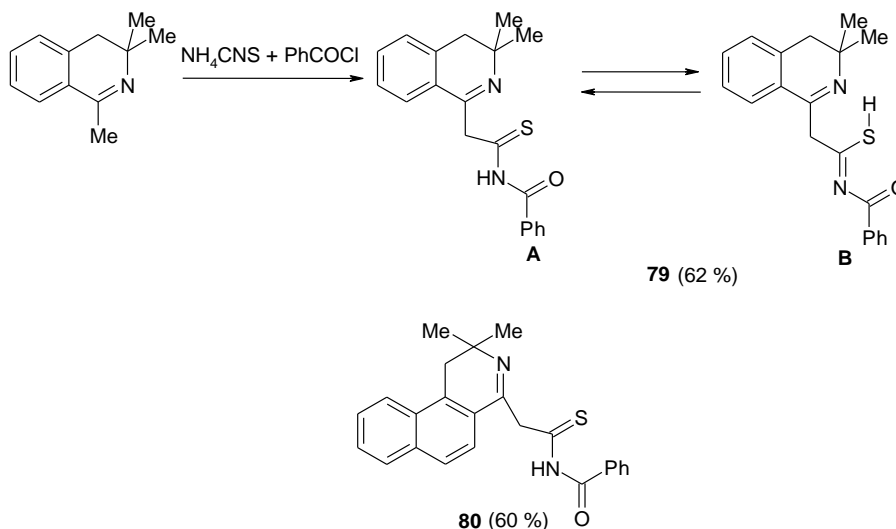
2.6. Тиокарбамоилирование 1,3,3-триметил-3,4-дигидроизохинолинов фенилизотиоцианатом и бензоилизотиоцианатом

Учитывая, что среди содержащих серу соединений немало лекарственных веществ, мы осуществили синтез *N*-фенилтиоамидов **67–78**, имеющих в своей структуре ядро изохинолина (схема 8). Структура полученных соединений доказана данными ЯМР ^1H и ИК-спектров.

Схема 8



Также исследована реакция енаминов с бензоилизотиоцианатом в растворе ацетона при 20 °С, протекающая практически мгновенно. Продуктами являются соединения **79, 80** (схема 9).



Данные спектров ЯМР ^1H свидетельствуют о том, что полученные соединения, в отличие от ранее синтезированных енаминотиоамидов, существуют в имино-форме. Это проявляется в наличии в спектрах синглетов протонов группы CH_2 (3.85 и 3.45 м.д.). Две группы синглетов протонов в областях 9.96 и 9.51 м.д. и 13.19 и 13.29 м.д. соответствуют, вероятно, группам NH и SH , которые могут проявляться в результате наличия двух таутомерных форм.

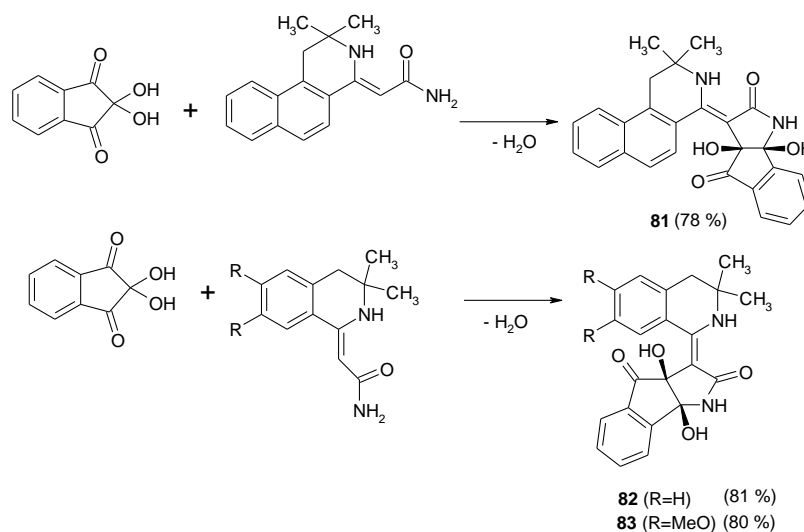
2.7. Реакции аннелирования действием нингидрина и оксалилхлорида

2.7.1. Реакция нингидрина с енаминоамидами ряда 3,3-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина

Исследования показали, что при взаимодействии нингидрина с енаминоамидами, содержащими первичную амидную группу, затрагиваются группа NH_2 амида и β -углеродный атом енаминового фрагмента. Продуктами являются соединения **81–83** (схема 10).

В спектрах ЯМР ^1H производных тетрагидроиндено[1,2-*b*]пиррола **81–83**, наблюдаются синглеты протонов двух групп OH в областях 6.08–6.14 и 6.20–6.26 м.д. Спектры названных соединений содержат также синглеты групп NH в области 10.73–10.87 м.д., относящиеся, вероятно, к протонам групп NH изохинолинового цикла.

Схема 10



В масс-спектрах всех синтезированных веществ, наблюдается пик, соответствующий отщеплению воды. Амиды **82–83** в условиях снятия спектра претерпевают превращение, обратное их реакции с нингидрином: расщепляются до исходного енаминоамида, что

подтверждается соответствующими пиками ионов 216 (39 %) и 276 (80 %). Образующиеся амиды далее расщепляются обычным способом, отщепляя в первую очередь метильную группу.

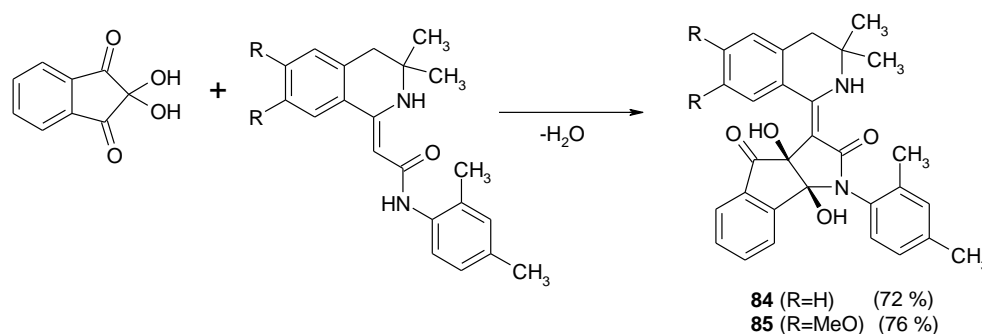
С целью дополнительного доказательства структуры был осуществлён рентгеноструктурный анализ соединения **81**.

Обращает на себя внимание тот факт, что реакция енаминов с нингидрином протекает стереоспецифично.

2.7.2. Реакция (Z)-2-(3,3-диметил-3,4-дигидроизохинолин-1(2H)-илиден)-N-(2,4-диметилфенил)-ацетамидов с нингидрином

Исследования показали, что кипячение енаминоамидов с нингидрином в этилацетате в течение 40 минут приводит к соединениям **84**, **85** (схема 11).

Схема 11

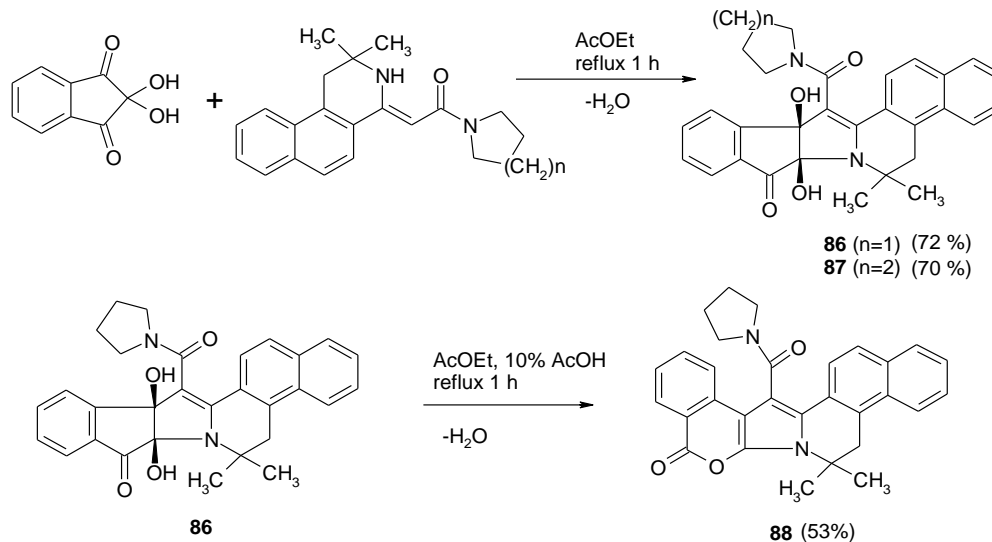


Согласно данным спектров ИК, ЯМР ^1H и РСА полученные вещества кристаллизуются в виде кристаллогидрата, образующегося за счёт водородных связей с гидроксилом. ИК спектры соединений **84**, **85** содержат полосы поглощения кетонного карбонила в области 1680 см^{-1} и лактамного карбонила, вовлечённого в Н-хелатирование (1640 см^{-1}). Имеются также полосы свободных групп ОН и воды ($3480\text{--}3500\text{ см}^{-1}$). С целью более убедительного доказательства структуры проведено рентгеноструктурное исследование кристалла соединения **84**.

2.7.3. Реакция енаминопирролидида и пиперидида ряда 2,2-диметил-1,2,3,4-тетрагидробензо[*f*]изохинолина с нингидрином

Исследования показали, что при кипячении соединений ряда 2,2-диметил-1,2,3,4-тетрагидробензо[*f*]изохинолина с нингидрином в этилацетате в течение часа образуются дигидроксипроизводные **86**, **87** (схема 12). При кипячении раствора гликоля **86** в этилацетате с добавкой 10 % уксусной кислоты происходит перегруппировка в пирролоизокумарин с образованием системы **88**.

Схема 12



2.7.4. Реакции аннелирования енаминоуреидов ряда 3,3-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина действием оксалилхлорида и нингидрина

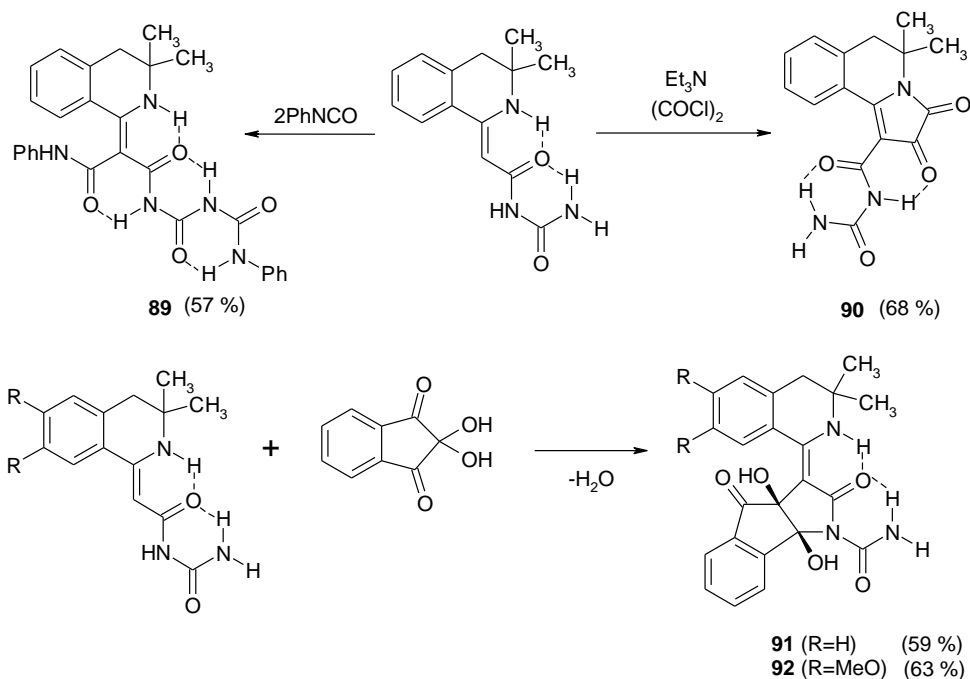
При взаимодействии енаминоуреида с фенилизоцианатом образуется соединение **89**, представляющее собой по структуре продукт β -С-карбамоилирования енаминового фрагмента и концевой группы остатка мочевины (схема 13). Исследования показали, что взаимодействие с оксалилхлоридом протекает по енаминовой группе, при этом образуется соединение **90** ярко-красного цвета.

Исследования показали, что енаминоуреиды реагируют с нингидрином аналогично амидам – по β -углеродному атому енаминной группы и вторичному уреидному атому азота. Продуктами являются производные индено[1,2-*b*]пиррола **91–92** (схема 13).

Такое течение реакции можно объяснить тем, что атом водорода при атоме азота, находящемся между двумя карбонилами, наиболее подвижен и поэтому склонен к замещению.

Можно предположить наличие хелатных структур для соединения **89**, спектр которого также содержит уширенные полосы хелатированных групп NH (3100 см^{-1}) и C=O (1610 см^{-1}). В спектре лактама **90** лактамный карбонил поглощает в области 1740 см^{-1} . В спектре вещества **90** присутствуют полосы хелатированных групп NH (3150 см^{-1}) и C=O (1620 см^{-1}). ИК спектры гликолей **91–92** содержат полосы поглощения групп OH (3470 и 3480 см^{-1}). Необходимо учитывать тот факт, что гликоль **92** кристаллизуется с одной молекулой 2-пропанола, сольватирующего молекулу за счёт образования межмолекулярной водородной связи (уширенная полоса в области 3200 см^{-1}).

Схема 13



В масс-спектрах полученных соединений пик молекулярного иона присутствует у соединений **90–92**. Отсутствие пиков молекулярного иона в спектрах соединений **89, 90** может быть объяснено термической неустойчивостью молекул, содержащих в своей структуре близко расположенные карбонилы. В масс-спектрах веществ **89, 91** присутствует пик осколочного иона 200, соответствующий, вероятнее всего, остатку 2-(3,3-диметил-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден)-ацетила ($C_{13}H_{14}NO$).

С целью более убедительного доказательства строения осуществлён рентгеноструктурный анализ на примере соединения **92**.

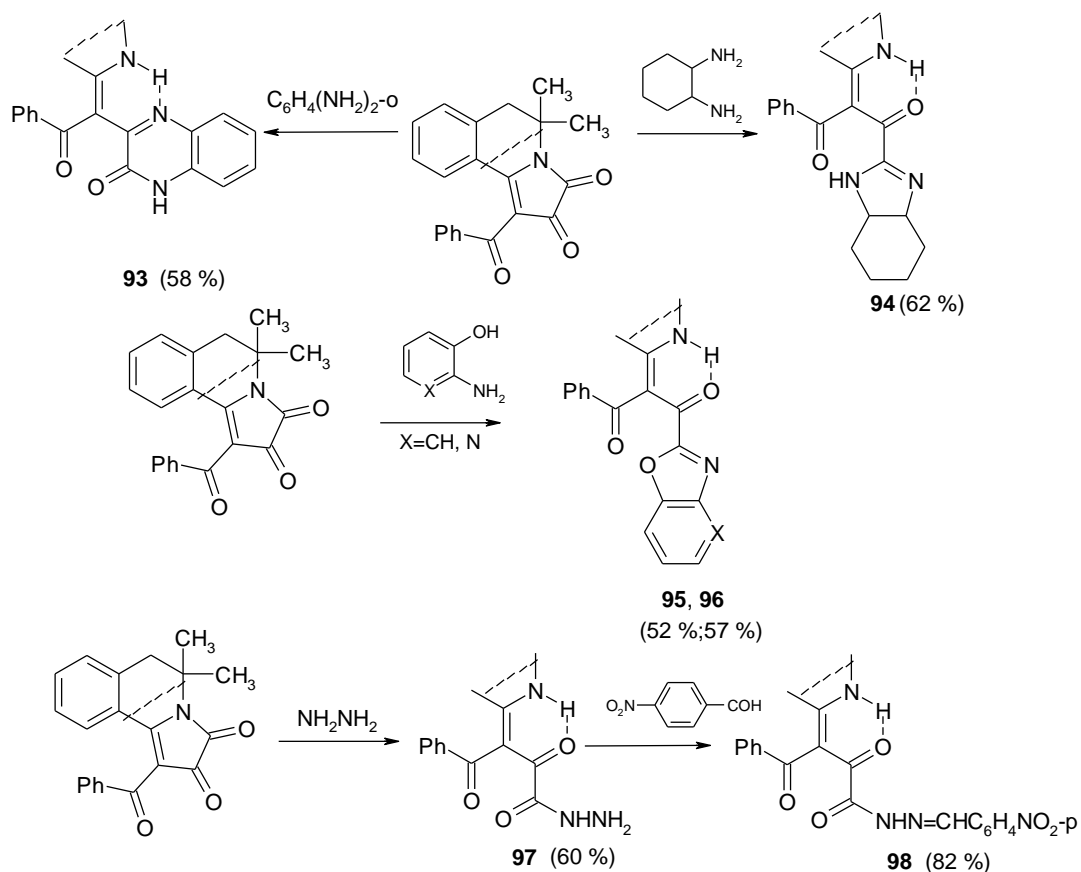
2.8. Свойства производных 2,3-диоксопирроло[2,1-*a*]изохинолина

2.8.1. Синтез и свойства 1-ароил-5,5-диалкил-2,3,5,6-тетрагидропирроло[2,1-*a*]изохинолин-2,3-дионов

В качестве примера исследования свойств производных 2,3-диоксопирроло[2,1-*a*]изохинолина целесообразно рассмотреть вещество, содержащее в положении 1 бензоильный остаток, так как кетонная группа в этом случае имеет пониженную реакционную способность в отношении нуклеофилов. Исследования показали, что в реакциях этого соединения с бинуклеофилами может иметь место гетероциклизация. При кипячении с *o*-фенилендиамином в изопропанолe с добавкой в качестве катализатора TsOH образуется производное хиноксалона **93**. При использовании в качестве бинуклеофила 1,2-циклогександиамина (смесь цис- и транс-изомеров) образуется производное гексагидроимидазола **94** (схема 14).

Раскрытие цикла действием *o*-аминофенола имеет место при кипячении в изопропанолe в течение 2-3 минут, при этом образуется производное бензизоксазола **95**. В то же время продукт реакции с 2-амино-3-гидроксипиридином **96** был выделен лишь при кипячении в ледяной уксусной кислоте:

Схема 14



Практически мгновенно протекает взаимодействие с гидразингидратом, что видно по обесцвечиванию раствора, имеющего ярко-красную окраску. При взаимодействии гидразида **97** с *p*-нитробензальдегидом был получен гидразон **98**

Спектр ЯМР ^1H хиноксалона **93** содержит синглеты двух групп NH: 11.53 и 11.79 м.д. Их положение в слабом поле свидетельствует о том что одна из групп хелатирована, а вторая – достаточно кислотная, что соответствует приведённой структуре. Строение соединения **94** следует из наличия в спектре двух синглетов групп NH: 8.39 (NH имидазолина) и 11.72 (NH цикла). Спектры производных оксазола **95, 96** также содержат синглеты групп NH в слабом поле (соответственно 11.58 и 11.71 м.д.). Спектр гидразида **97** содержит два синглета групп в

слабом поле: 9.46 (CONH) м.д. и 11.42 м.д. (NH цикла). Спектр гидразона **98** содержит синглеты 11.43 и 11.58 м.д., при этом по сравнению с исходным гидразидом исчезает синглет группы NH₂ в области 4.38 м.д.

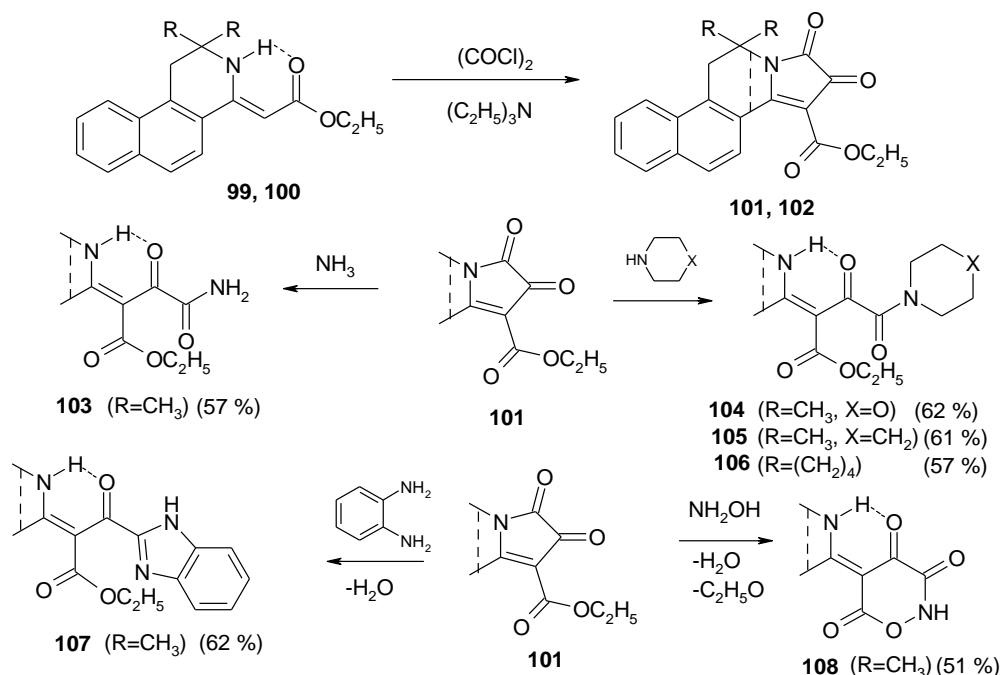
Масс-спектры подтверждают предложенную структуру соединений **93–96**, образующихся при гетероциклизации. Спектр каждого из этих веществ содержит пик молекулярного иона (100 %). Спектры соединений **94–96** содержат фрагментарный ион 276 интенсивностью также примерно 100 %, который можно отнести к 2-(3,3-диметил-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден)-1-фенилэтанону C₁₉H₁₈NO.

2.8.2. Реакции этил 6,6-диалкил-8,9-диоксо-5,6,8,9-тетрагидро-бензо[*f*]пирроло[2,1-*a*]изохинолин-10-карбоксилатов с N-нуклеофилами

Тетрациклические трикарбонильные соединения **101**, **102** получены по реакции ацилирования соответствующих енаминоэфиров **99**, **100** действием оксалилхлорида. Полученные вещества взаимодействуют с аммиаком и циклическими аминами с образованием амидов **103–106** (схема 15). Процесс легко контролируется по фактически моментальному обесцвечиванию ярко-красной окраски растворов исходных соединений.

Кипячение исходного эфира с *o*-фенилендиамином в ледяной уксусной кислоте приводит к образованию ароматической системы бензимидазола **107**, что сходно с аналогичными реагентами, содержащими вместо сложноэфирной группы бензоильную. При использовании основания гидроксилamina при 20 °С в реакцию вовлекается сложноэфирная группа, в результате образуется система изоксазин-3,4,6-триона (соединение **108**, схема 15).

Схема 15



ИК спектры соединений **103–108** имеют полосы поглощения карбонила свободной сложноэфирной группы в области 1730–1735 см⁻¹, а также полосы хелатированной кетонной (1620 см⁻¹) и свободной амидной (1680–1690 см⁻¹) групп C=O. Полосы поглощения групп NH представлены Н-хелатной (3050–3100 см⁻¹) и амидной (3380 см⁻¹) полосами. В спектре изоксазин-3,4,6-триона **108** наблюдаются полосы поглощения трёх групп C=O в области 1620–1745 см⁻¹ и полоса хелатированной группы NH цикла (3080 см⁻¹).

В спектрах ЯМР ¹H енаминокетоамидов **103–106** и кетона **107** имеются сигналы фрагмента этильной группы, проявляющиеся в виде триплета (0.95–1.23 м.д.) и квадруплета в

области 3.95–4.15 м.д. В спектре соединения **108**, не имеющего в своей структуре карбэтокси-группы, сигналы этильной группы отсутствуют. Структура полученных веществ также подтверждена данными масс-спектров.

Глава 3 Материалы и методы исследования

В главе приводятся объекты исследования, в качестве которых выступают 3,3-дипропил замещенные, 1-дихлорметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолины, производные енаминогидразида ряда 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина, а также енамины ряда 3-метил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина. Приведены приборы, на которых была осуществлена запись ИК-, масс-, ЯМР ^1H -, ^{13}C -спектров, проведен элементный анализ и РСА, определены температуры плавления, а также описаны методики определения анальгетической, противовоспалительной, антигельминтной, инсектицидной, антиаритмической, гемостатической активностей и острой токсичности.

Глава 4 Экспериментальная химическая часть

Глава включает общие методики синтеза полученных соединений.

Глава 5. Биологическая активность

Полученные нами соединения были исследованы на различные виды биологической активности.

Исследования анальгетической и противовоспалительной активности проведены на кафедре физиологии с основами анатомии Пермской государственной фармацевтической академии (ПГФА) под руководством кандидата биологических наук, доцента Чащиной С.В.

Изучение инсектицидной и антигельминтной активности проведено на кафедре физиологии с основами анатомии ПГФА под руководством кандидата медицинских наук, доцента Старковой А. В. и доктора медицинских наук, профессора Сыропятова Б. Я.

Исследования антиаритмической и гемостатической активности проведены на кафедре физиологии с основами анатомии ПГФА под руководством кандидата медицинских наук, доцента Рудаковой И. П.

Анальгетическая активность ряда соединений также изучалась на базе научно-исследовательской лаборатории биологически активных соединений Пермского государственного национального исследовательского университета под руководством кандидата фармацевтических наук, доцента Махмудова Р. Р.

5.1. Анальгетическая активность

Анальгетическую активность исследовали на белых беспородных мышах массой 25–30 г методом термического раздражения «горячая пластинка». Исследуемые соединения вводили внутривентриально за 30 минут до опыта в дозе 50 мг/кг. В качестве эталона сравнения использовали метамизол натрия в дозе 50 мг/кг. Результаты фармакологических испытаний представлены в таблицах 1–3.

Изучение анальгетического действия наиболее активного соединения **18·HCl** было продолжено на белых беспородных мышах массой 26–30 г по методике «уксусные корчи». В качестве эталонов сравнения использовали метамизол натрия и нимесулид в дозе 50 мг/кг. Эффект оценивали по уменьшению количества «корчей» по сравнению с животными контрольной группы. В группы сравнения было включено 10 мышей (табл. 2).

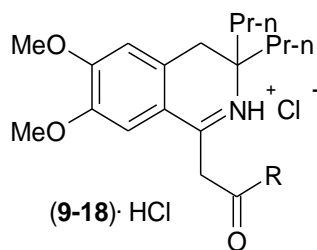


Таблица 1

Анальгетическая активность соединений (9–18)·HCl на модели «горячей пластинки»

Соединение	R	Время оборонительного рефлекса, сек	P по сравнению с контролем	P по сравнению с эталоном
9·HCl	NH ₂	11,7±0,8	>0,05	>0,05
10·HCl	NHCH ₂	12,0±1,4	>0,05	>0,05
11·HCl	NHC ₂ H ₅	16,7±1,4	<0,05	>0,05
12·HCl	1-пирролидино	15,8±2,1	>0,05	>0,05
13·HCl	1-пиперидино	15,2±1,6	<0,05	>0,05
14·HCl	1-гексаметиленимино	13,0±1,5	>0,05	>0,05
15·HCl	1-морфолино	14,7±1,9	>0,05	>0,05
16·HCl	циклогексиламино	11,8±0,8	>0,05	>0,05
17·HCl	NHC ₆ H ₃ (Me) ₂ -2,4	15,3±1,5	<0,05	>0,05
18·HCl	NH(CH ₂) ₂ C ₆ H ₃ (MeO) ₂ -3,4	26,3±5,7	<0,05	<0,05
Контроль		11,1±0,9	-	-
Метамизол натрия		12,6±1,2	>0,05	-

Данные исследований (табл. 1) показали, что 6 соединений в дозе 50 мг/кг не оказывают статистически значимого анальгетического действия по методу горячей пластинки. Соединения 11, 13, 17·HCl проявляют активность на уровне метамизола натрия.

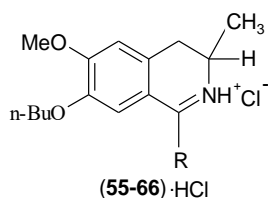
Таблица 2

Анальгетическая активность соединения (18)·HCl на модели «уксусных корчей»

Соединение	Количество корчей	% уменьшения корчей по сравнению с контролем	P по сравнению с контролем
18·HCl	3,3±2,2	93,5	<0,05
Метамизол натрия	16,0±3,5	68,5	<0,05
Нимесулид	7,5±2,23	85,2	<0,05
Контроль	50,8±4,3	-	-

Активность соединения 18·HCl достоверно превосходит эффект метамизола натрия и сравнима с нимесулидом (табл. 1, 2). Анализ связи действия со строением показывает, что анальгетический эффект более выражен у соединений, содержащих в амидной части циклический амин (пирролидин, пиперидин).

В исследовании биологической активности ряда соединений 55–66·HCl в качестве стандартного препарата сравнения использовали метамизол натрия в дозе 93 мг/кг, что соответствует ЭД₅₀ при внутрибрюшинном введении и ибупрофен в дозе 50 мг/кг. Данные фармакологических исследований показали, что 12 соединений в дозе 50 мг/кг проявляют анальгетическую активность, превышающую активность метамизола натрия и сопоставимы по активности с ибупрофеном.



Наиболее активным оказались гидрохлориды 1-(*n*-бромфенил)-3-метил-6-метокси-7-(*n*-бутокси)-3,4-дигидроизохинолина (**58**·HCl) и N-[2-(3,4-диметоксифенил)-этил]-амида 2-(3-метил-6-метокси-7-(*n*-бутокси)-3,4-дигидроизохинолил-1)-этановой кислоты (**66**·HCl), для которых время оборонительного рефлекса составило соответственно 22,70 и 22,30 с.

Для испытания соединений **67–78**·HCl на анальгетическую активность по методу горячей пластинки, в качестве эталонов сравнения использовали метамизол натрия в дозе 93 мг/кг, соответствующей ЭД₅₀, а также диклофенак и ибупрофен в дозе 50 мг/кг (табл. 3).

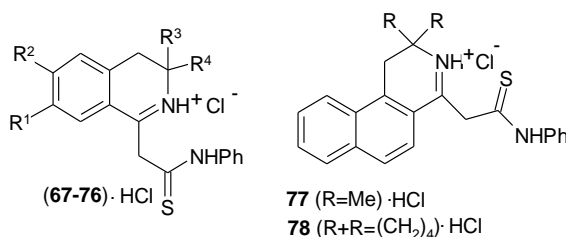


Таблица 3

Анальгетическая активность соединений (**67–78**)·HCl на модели «горячей пластинки»

Соединение	R ¹ , R ² , R ³ -R ⁴	Латентный период оборонительного рефлекса, мин
67 ·HCl	H, H, Me + Me	23,20 ± 0,64*
68 ·HCl	H, H, Me + Et	19,92 ± 0,82*
69 ·HCl	H, H, (CH ₂) ₄	21,16 ± 0,76*
70 ·HCl	H, H, (CH ₂) ₅	20,42 ± 0,68*
71 ·HCl	MeO, MeO, Me + Me	26,88 ± 1,26*
72 ·HCl	MeO, MeO, Et + Et	24,62 ± 1,48
73 ·HCl	MeO, MeO, <i>n</i> -Pr + <i>n</i> -Pr	20,52 ± 0,64*
74 ·HCl	EtO, MeO, H, Me	19,30 ± 0,82*
75 ·HCl	<i>n</i> -PrO, MeO, H, Me	24,00 ± 0,72*
76 ·HCl	<i>n</i> -BuO, MeO, H, Me	20,22 ± 0,54*
77 ·HCl	(CH ₂) ₄	19,86 ± 0,44*
78 ·HCl	Me + Me	20,10 ± 0,26
Контроль: 2 % крахмальная слизь	-	11,10 ± 0,9
Метамизол натрия	-	16,33 ± 1,2; p < 0,1
Диклофенак	-	29,88 ± 1,68; p < 0,01
Ибупрофен	-	23,50 ± 1,12; p < 0,05

*Показатели статистически значимы (p ≤ 0,05) относительно контроля и препаратов сравнения.

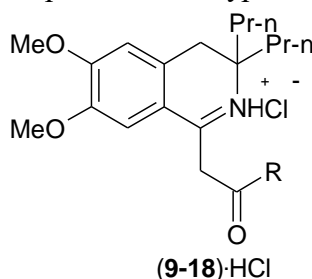
Данные исследований показали, что все 12 соединений в дозе 50 мг/кг по уровню анальгетического действия превосходят метамизол натрия и сравнимы с ибупрофеном и диклофенаком. Наиболее активны тиамиды (**71**, **72**, **75**)·HCl, у которых время оборонительного рефлекса больше, чем у метамизола натрия примерно в 1,5 раза. Анализ связи действия со

строением показывает, что анальгетический эффект более выражен у изохинолинов, содержащих в положениях 6 и 7 алкоксигруппы.

5.2. Противовоспалительная активность

Противовоспалительную активность исследовали на крысах массой 170–230 г. Испытания проводились на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1 % водного раствора каррагинена. Исследуемые вещества (9–18)·HCl вводили перорально в дозе 50 мг/кг за 1 час до введения флогогенного агента. Увеличение объема стопы, свидетельствующее о развитии отека, оценивали онкометрически до введения и через 3 часа после введения каррагинена. Результаты опытов статистически обработаны с использованием коэффициента Стьюдента, достоверным считали отличие при $p < 0,05$.

Согласно результатам исследования все соединения, кроме 10, 11 обладают противовоспалительной активностью, сравнимой по уровню действия с метамизолом натрия.



R: NH₂ (9); NHMe (10); NHEt (11); 1-пирролидино (12); 1-пиперидино (13); 1-гексаметиленимино (14); 1-морфолино (15); циклогексиламино (16); NHC₆H₃(Me)₂-2,4 (17); NH(CH₂)₂C₆H₃(MeO)₂-3,4 (18).

5.3. Антигельминтная и инсектицидная активность

Антигельминтная активность изучалась на земляных червях по методике Николаева М. П. В 0,5 %-ый водный раствор исследуемых соединений помещали земляных червей и фиксировали время наступления смерти.

Инсектицидная активность изучалась на личинках комаров Chironomidae. В 0,1 % раствор исследуемого соединения помещали личинки комаров (мотыль) и фиксировали время наступления смерти.

Результаты опытов статистически обработаны с использованием коэффициента Стьюдента, достоверным считали отличие при $p < 0,05$. Данные фармакологических испытаний представлены в таблице 4.

Исследования (табл. 4) показали, что 12 соединений проявляют слабую антигельминтную активность – продолжительность жизни червей составила более 180 мин. Другие 12 соединений по своей активности значительно превосходят пирантел (в 1,5–8 раз).

Наиболее активны третичные амиды (52–54)·HCl, превосходящие по эффекту пирантел примерно в 3 раза. В то же время эти вещества уступают по активности левамизолу. Также высокую активность показало соединение 32·HCl, которое содержит в положении 1 изохинолинового цикла бензильный радикал. Соединение 18·HCl проявляет антигельминтную активность на уровне левамизола, и значительно превосходит эффект пирантела.

Инсектицидную активность проявляют только 7 соединений из представленного ряда. Из табличных данных видно, что соединение 32·HCl проявляет активность, сопоставимую с активностью пиримифоса, но превосходит имидаклоприд в 1,9 раза. Гидрохлорид N-этиламида 47 проявляет активность, сопоставимую с диазиноном и пирамифосом и в 2 раза превосходит по действию имидаклоприд.

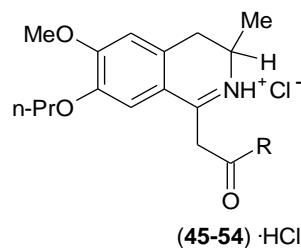
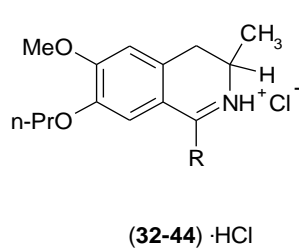
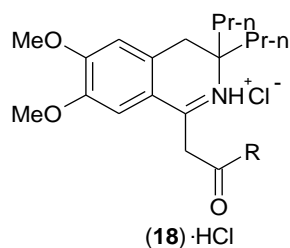


Таблица 4

Антигельминтная и инсектицидная активность соединений (18, 32–54)·HCl

Соединение	R	Антигельминтная активность: продолжительность жизни червей, мин	Инсектицидная активность: продолжительность жизни личинок, мин
18·HCl	NH(CH ₂) ₂ C ₆ H ₃ -(MeO) _{2-3,4}	26,0 ± 2,57*	>70
32·HCl	CH ₂ C ₆ H ₅	26,7 ± 2,02*	22,3 ± 1,78*
33·HCl	H	>180	62,3 ± 4,64*
34·HCl	CH ₂ CH ₂ CH ₃	>180	>70
35·HCl	CH ₂ Cl	39,3 ± 1,58*	>70
36·HCl	C ₆ H ₅	82,6 ± 4,21*	>70
37·HCl	CH(CH ₃) ₂	>180	>70
38·HCl	CH ₃	>180	>70
39·HCl		142,0 ± 9,28*	>70
40·HCl	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	88,5 ± 0,22*	>70
41·HCl		>180	>70
42·HCl	<i>n</i> -Cl-C ₆ H ₅	63,5 ± 4,51*	>70
43·HCl	CH ₂ CO ₂ C ₂ H ₅	78,0 ± 4,34*	>70
44·HCl	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	>180	55,6 ± 4,18*
45·HCl	NH ₂	>180	24,5 ± 4,49*
46·HCl	NHMe	159,5 ± 13,23*	>70
47·HCl	NHEt	>180	22,4 ± 4,39*
48·HCl	Циклогексил-амино	>180	>70
49·HCl	NHBn	>180	>70
50·HCl	(CH ₂) ₂ C ₆ H ₃ (MeO) _{2-3,4}	>180	>70
51·HCl	(-)-L-NHCH(Me)Ph	>180	>70
52·HCl	1-пирролидино	70,5 ± 8,72*	49,2 ± 1,85*
53·HCl	1-пиперидино	61,3 ± 2,84*	33,0 ± 3,65*
54·HCl	1-морфолино	75,8 ± 13,57*	>70
	пирантел	215,0 ± 0,37	-
	левализол	20,2 ± 2,08	-
	имidakлоприд	-	43,5 ± 3,39
	диазинон	-	17,0 ± 1,87
	пиримифос	-	24,5 ± 1,69

*Показатели статистически значимы ($p \leq 0,05$) относительно контроля и препаратов сравнения.

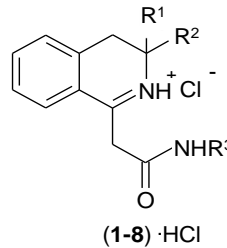
5.4. Антиаритмическая и коагулянтная активность

Антиаритмическую активность исследовали на модели аритмии, вызванной внутривенным введением 3 % раствора хлорида кальция, в дозе 280 мг/кг.

Опыты проводились на белых мышах массой 18–24 г. Исследуемые вещества вводили внутривенно за 2 мин до воспроизведения аритмии, их активность оценивали по способности предупреждать смертельные нарушения сердечного ритма. Эффективную антиаритмическую дозу определяли экспресс-методом.

Исследования влияния соединений на время свертывания крови проведены с помощью коагулометра «АПГ-02-П». Использовали цитратную (3,8 %) кровь (9:1) кроликов.

Все изученные вещества проявили антиаритмическую активность (табл. 5), за исключением соединения **3**. Наиболее активным оказался гидрохлорид изохинолина **5**·HCl, для которого величина ЭД₅₀ составила 4,6 мг/кг, АИ=14,2. Таким образом, образом, антиаритмическая активность этого соединения в 2,8 раза превосходит действие лидокаина (АИ=5,1).



R¹+R², R³: 2Me, *n*-Pr(**1**); 2Me, *n*-Bu(**2**); 2Me, *n*-C₆H₁₁(**3**); MeEt, *n*-Bu(**4**); (CH₂)₄, H(**5**); (CH₂)₄, *n*-Pr(**6**); (CH₂)₄, *n*-Bu(**7**); (CH₂)₅, H(**8**).

Таблица 5

Антиаритмическая и коагулянтная (гемостатическая) активность соединений (1–8)·HCl

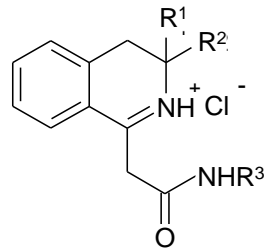
Соединение	Антиаритмическая активность		Коагулянтная активность			
	ЭД ₅₀ , мк/кг	АИ	время свертывания, сек, контроль	время свертывания, сек, опыт	% изменения свертываемости	P
1 ·HCl	10,9 (8,0–15,0)	3,3	185,8±5,62	153±4,60	+17,4	< 0,01
2 ·HCl	5,6 (4,7–7,6)	6,6	174,6±9,04	134,3±9,33	+23,1	< 0,01
3 ·HCl	-	-	152,3±3,83	114,8±4,55	+24,6	< 0,001
4 ·HCl	5,2 (4,2–6,3)	6,8	188,4±13,40	129,0±7,77	+31,2	< 0,01
5 ·HCl	4,6 (3,3–6,3)	14,2	189,4±5,46	117,5±5,54	+37,9	< 0,001
6 ·HCl	4,5 (3,9–5,0)	7,2	189,4±16,10	125,9±4,09	+33,5	< 0,05
7 ·HCl	11,2 (9,2–13,4)	6,3	175,4±16,61	107,3±3,75	+38,8	< 0,01
8 ·HCl	10,3 (8,4–5,9)	6,3	173,3±11,68	106,7±7,48	+38,4	< 0,001
Препараты сравнения						
Лидокаин	7,7 (5,9–9,4)	5,1	-	-	-	-
Этамзилат	-	-	144,1±7,83	121,0±7,20	+16,0	< 0,05

Исследования влияния на гемостаз показали, что все вещества (1–8)·HCl проявляют коагулянтное (гемостатическое) действие, превосходя по уровню активности этамзилат. Наиболее активны амиды, имеющие в своей структуре 3-спиро-циклоалкильные радикалы (гидрохлориды **5–8**), ускоряющие свертываемость крови на 33,5–38,8 %, в то время как у этамзилата этот показатель составляет лишь 16 %.

5.5. Острая токсичность

Острая токсичность была определена у 9 соединений. Острую токсичность соединений (1–8)·HCl определяли при внутривенном способе введения. Для эксперимента были взяты белые нелинейные мыши обоего пола.

Как видно из полученных данных (табл. 6), наименее токсичными по сравнению с лидокаином являются 7 соединений.



(1-8)·HCl

R¹+R², R³: 2Me, *n*-Pr(1); 2Me, *n*-Bu(2); 2Me, *n*-C₆H₁₁(3); MeEt, *n*-Bu(4); (CH₂)₄, H(5); (CH₂)₄, *n*-Pr(6); (CH₂)₄, *n*-Bu(7); (CH₂)₅, H(8).

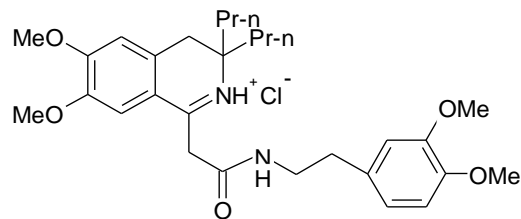
Таблица 6

Острая токсичность соединений (1-8)·HCl

Соединение	ЛД ₅₀ , мг/кг
1·HCl	35,5 (29,0–42,0)
2·HCl	36,8 (26,0–50,0)
3·HCl	43,0 (29,0–64,0)
4·HCl	35,5 (29,0–42,0)
5·HCl	65,0 (56,0–75,0)
6·HCl	32,5 (28,0–38,0)
7·HCl	70,8 (62,0–80,0)
8·HCl	65,0 (56,0–75,0)
Лидокаин	32,5 (34,2–44,5)
Этамзилат	-

Обладающее высокой антиаритмической и гемостатической активностью соединение (5)·HCl, в сравнении с лидокаином в 2 раза менее токсично.

Для соединения **18**, сочетающего высокую анальгетическую и антигельминтную активность, также была исследована острая токсичность (таблица 7). Для эксперимента были взяты белые нелинейные мыши обоего пола. В качестве эталонов сравнения использовали пирантел и левамизол. Острая токсичность (ЛД₅₀) соединения **18** при внутрибрюшинном введении составила 282 (240–320) мг/кг, что позволяет отнести его к малотоксичным по классификации Сидорова К. К.



(18)·HCl

Таблица 7

Острая токсичность соединения (18)·HCl

Соединение	ЛД ₅₀ , мг/кг, способ введения
Пирантел	4470 (2983–5815), перорально
Левамизол	282 (159–419), перорально; 43 (39–47), внутрибрюшинно
(18)·HCl	282 (240–320), внутрибрюшинно

Выводы

1. Оптимизирована методика синтеза на основе реакции Риттера, в результате:

- а) Впервые получены гидрохлориды ряда 3,3-диалкил-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден-*N*-алкил-ацетамидов (*N*-алкил C₃-C₆) – водорастворимые вещества, удобные для фармакологического скрининга;
- б) Синтезированы ранее не изученные 3,3-дипропил-6,7-диметокси-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден-ацетамидов гидрохлориды, что показывает возможность удлинения радикалов в положении 3;
- в) Синтезированы ранее не известные хлориды 1-дихлорметил-3,3-диалкил-3,4-дигидроизохинолиния;
- г) Впервые получены *N*-замещенные по гидразидной группе 3,3-диалкил-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден-ацетогидразиды. Защита гидразидной группы осуществлена с помощью бензальдегида, бензоилхлорида, фенилизотиоцианата и фенилизотиоцианата, в последнем случае образуется цикл 1,3,4-тиадиазола;
- д) Осуществлен синтез 3-метил-3,4-дигидроизохинолинов на основе эвгенола, являющегося продуктом крупнотоннажного производства.

2. Для енаминов ряда 3,3-диалкил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина:

- а) Выявлено взаимодействие с фенилизотиоцианатом и бензоилизоцианатом с образованием енаминотиоамидов;
- б) Впервые изучено взаимодействие енаминоамидов с нингидрином. В этом случае в зависимости от строения амидной группы различаются реакционные центры, но в любом случае образуется система индено[1,2-*b*]пиррола, способная к перегруппировке с образованием конденсированного изохромена;
- в) Установлено, что 1-бензоил- и 1-карбэтоксипирроло[1,2-*a*]изохинолин-2,3-дионы в реакциях с нуклеофилами проявляют себя в качестве ацилирующих реагентов, способных к гетероциклизации.

3. Структура полученных соединений подтверждена данными ИК-спектроскопии, ЯМР ¹H и ¹³C-спектроскопии, масс-спектрометрии, элементного анализа и рентгеноструктурного анализа.

4. Осуществлен анализ данных скрининга на анальгетическую, противовоспалительную, антигельминтную, инсектицидную активность, влияние на свертываемость крови, выявлены закономерности «структура-активность».

5. Выявлены наиболее активные вещества:

- а) (1-(2-Фениламино)-2-оксоэтил)-4*H*-спиро[циклопентан-1,3-изохинолин]-2-ия хлорид (**5**), превосходящий по антиаритмическому эффекту лидокаин в 2,8 раза, по гемостатическому эффекту на 21,9 % этамзилат;
- б) (4-(2-Фениламино)-2-тиоксоэтил)-1*H*-спиро[бензо[*f*]изохинолин-2,1-циклопентан]-3-ия хлорид (**77**). Проявляет антигельминтное действие на уровне левамизола, в 6,36 раза превосходя по времени гибели червей пирантел, инсектицидное действие на уровне пиримифоса;
- в) 1-[2-(3,4-Диметоксифенетиламино)-2-оксоэтил]-6,7-диметокси-3,3-ди-(*n*-пропил)-3,4-дигидроизохинолиния хлорид (**18**) сочетает 2 вида действия – антигельминтное и анальгетическое. Проявляя антигельминтное действие на уровне левамизола, соединение менее токсично по сравнению с ним в 6,6 раза, и превосходит по эффекту пирантел. По анальгетическому действию в 2 раза превосходит метамизол натрия и в 1,5 раза нимесулид.

Рекомендации

Соединение **18** рекомендуется для углубленных исследований с целью дальнейшего изучения в качестве антигельминтного и анальгетического средства.

Основное содержание диссертации опубликовано в работах:

Статьи в рецензируемых научных журналах и изданиях перечня ВАК

1. Михайловский А. Г. Тиокарбамоилирование 1,3,3-триметил-3,4-дигидроизохинолинов бензоилизотиоцианатом / А. Г. Михайловский, А. С. Юсов, О. В. Гашкова // Журн. органич. химии. – 2015. – Т. 51, № 12. – С. 1851–1852.
2. Михайловский А. Г. Синтез и свойства 1-ароил-5,5-диалкил-2,3,5,6-тетрагидропирроло[2,1-*a*]изохинолин-2,3-дионов / А. Г. Михайловский, А. С. Юсов, О. В. Гашкова // Журн. органич. химии. – 2016. – Т. 52, № 2. – С. 240–244.
3. Михайловский А. Г. Реакция нингидрина с енаминоамидами ряда 3,3-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина и дротаверином / А. Г. Михайловский, Д. В. Корчагин, О. В. Гашкова, А. С. Юсов // Журн. органич. химии. – 2016. – Т. 52, № 9. – С. 1351–1355.
4. Михайловский А. Г. Реакция енаминопирролидида и пиперидида ряда 2,2-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина с нингидрином / А. Г. Михайловский, Д. В. Корчагин, А. С. Юсов [и др.] // Химия гетероцикл. соединений. – 2016. – Т. 52, № 10. – С. 852–854.
5. Сурикова О. В. Синтез, антигельминтная и инсектицидная активность гидрохлоридов 1-*R*-3-метил-6-метокси-7-(*n*-пропокси)-3,4-дигидроизохинолина / О. В. Сурикова, А. Г. Михайловский, Б. Я. Сыропятов, А. С. Юсов // Хим.-фарм. журн. – 2016. – Т. 50, № 12. – С. 22–25.
6. Сурикова О. В. Синтез, антигельминтная и инсектицидная активность амидов 2-[3-метил-6-метокси-7-(*n*-пропокси)-3,4-дигидроизохинолин-1]этановой кислоты / О. В. Сурикова, А. Г. Михайловский, Б. Я. Сыропятов, А. С. Юсов, Ю. Д. Худякова // Хим.-фарм. журн. – 2017. – Т. 51, № 1. – С. 23–26.
7. Сурикова О. В. Синтез и анальгетическая активность 1-замещённых 3-метил-6-метокси-7-(*n*-бутокси)-3,4-дигидроизохинолина / О. В. Сурикова, А. С. Юсов, Р. Р. Махмудов [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2017. – Т. 51, № 1. – С. 20–22.
8. Михайловский А. Г. Реакция (*Z*)-2-(3,3-диметил-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден)-*N*-(2,4-диметилфенил)-ацетамидов с нингидрином / А. Г. Михайловский, А. С. Юсов, Д. В. Корчагин [и др.] // Журн. органич. химии. – 2017. – Т. 53, № 5. – С. 774–776.
9. Михайловский А. Г. Реакции этил 6,6-диалкил-8,9-диоксо-5,6,8,9-тетрагидробензо[*f*]пирроло[2,1-*a*]изохинолин-10-карбоксилатов с *N*-нуклеофилами / А. Г. Михайловский, А. С. Юсов, О. В. Гашкова // Журн. органич. химии. – 2017. – Т. 53, № 8. – С. 1207–1210.
10. Михайловский А. Г. *N*-замещённые цианацетилгидразиды в синтезе 3,3-диалкил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов по реакции Риттера / А. Г. Михайловский, Д. В. Корчагин, А. С. Юсов [и др.] // Химия гетероцикл. соединений. – 2017. – Т. 53, № 10. – С. 1114–1119.
11. Михайловский А. Г. Синтез и биологическая активность хлоридов 1-хлорметил и 1-дихлорметил-3,3-диалкил-3,4-дигидроизохинолиния / А. Г. Михайловский, О. В. Гашкова, И. П. Рудакова, С. В. Чащина, А. С. Юсов // Хим.-фарм. журн. – 2018. – Т. 52, № 5. – С. 18–21.
12. Михайловский А. Г. Реакции аннелирования енаминоуреидов ряда 3,3-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина действием оксалилхлорида и нингидрина / А. Г. Михайловский, А. С. Юсов, Д. В. Корчагин [и др.] // Журн. органич. химии. – 2018. – Т. 54, № 5. – С. 710–715.
13. Михайловский А. Г. Синтез, анальгетическая, антигельминтная и инсектицидная активность хлоридов 3,3-диалкил-1-(2-фениламино-2-тиоксиэтил)-3,4-дигидроизохинолиния / А. Г. Михайловский, А. С. Юсов, Р. Р. Махмудов [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2018. – Т. 52, № 8. – С. 89–94.
14. Юсов А. С. Синтез (3,3-дипропил-6,7-диметокси-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден)-ацетамидов / А. С. Юсов, С. В. Чащина, А. Г. Михайловский [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2019. – Т. 53, № 1. – С. 36–40.
15. Гашкова О. В. Синтез, антиаритмическая и гемостатическая активность гидрохлоридов (3,3-диалкил-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден)-*N*-алкилацетамидов / О. В. Гашкова, А. Г. Михайловский, И. П. Рудакова, А. В. Старкова, А. С. Юсов // Хим.-фарм. журн. – 2019. – Т. 53, № 6. – С. 25–28.

Тезисы докладов и другие публикации

1. **Юсов А. С.** 1-бензоил-5,5-диметил-2,3,5,6-тетрагидропирроло[2,1-*a*]изохинолин-2,3-дион в реакции с N-нуклеофилами / **А. С. Юсов**, А. Г. Михайловский // Всероссийская школа-конференция с международным участием «Байкальская школа-конференция по химии 2017» – Сб. науч. трудов. – С. 151–152. Изд. «Оттиск»
2. **Юсов А. С.** Реакция енаминоамидов ряда 3,3-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина с нингидрином / **А. С. Юсов**, А. Г. Михайловский, Д. В. Корчагин // Сборник тезисов VII Молодежной конференции ИОХ РАН. – 2017. – С. 172–173.
3. Михайловский А. Г. Енаминоамиды ряда 3,3-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина в реакции с нингидрином / А. Г. Михайловский, **А. С. Юсов**, Д. В. Корчагин [и др.] // V Всероссийская конференция с международным участием «Енамины в органическом синтезе» посвященной 100-летию со дня рождения профессора В.С. Шкляева. – 2017. – 107 с.
4. Михайловский А. Г. Енаминоамиды ряда 3,3-диметил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина в реакции с нингидрином / А. Г. Михайловский, **А. С. Юсов** // I Всероссийская научная конференция с международным участием «Синтез, анализ и технологии в контексте зеленой химии», Астрахань. 2017. – С. 14.
5. **Юсов А. С.** Синтез и анальгетическая активность 1-замещённых 3-метил-6-метокси-7-(*n*-бутокси)-3,4-дигидроизохинолина / **А. С. Юсов**, А. Г. Михайловский, Р. Р. Махмудов // Научно-практическая конференция с международным участием «Создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление развития фармацевтической науки», Пермь. – 2017. – С. – 153–155.
6. Михайловский А. Г. Реакция N-(2,4-диметилфенил)-енаминоамидов ряда 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина с нингидрином / А. Г. Михайловский, **А. С. Юсов**, Д. В. Корчагин, [и др.] // Международная научная конференция, посвящённая 100-летию кафедры органической химии ПГНИУ «От синтеза полиэтилена до стереодивергентности: развитие химии за 100 лет». – 2018. – С. 157–158.
7. **Юсов А. С.** Синтез и анальгетическая активность хлоридов 1-замещённых 7-(*n*-бутокси)-6-метокси-3-метил-3,4-дигидроизохинолина / **А. С. Юсов**, А. Г. Михайловский, Р. Р. Махмудов // VIII Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург. – 2018. – С. – 157–160.
8. Михайловский А. Г. Синтез 1-замещённых производных 3,4-дигидроизохинолина циклоконденсацией по Риттеру на основе эвгенола и диалкилбензилкарбинолов / А. Г. Михайловский, Б. Я. Сыропятов, **А. С. Юсов**, [и др.] // Научно-практическая конференция с международным участием «Создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление развития фармацевтической науки», Пермь. – 2018. – С. – 74–77.

Юсов Алексей Сергеевич (Россия)

Разработаны методы синтеза новых производных изохинолина: 3,3-диалкил-3,4-дигидроизохинолин-1(2*H*)-илиден-ацетамидов (в том числе 3,3-дипропил-производных), а также схожих с ними по изохинолиновому фрагменту 1-дихлорметил-изохинолинов и N-замещённых 1-ацетогидразидо-изохинолинов. Проведены исследования анальгетической, противовоспалительной, антигельминтной, инсектицидной, коагулянтной и антиаритмической активности.

Yusov Alexey Sergeevich (Russia)

Methods have been developed for the synthesis of new isoquinoline derivatives: 3,3-dialkyl-3,4-dihydroisoquinoline-1(2*H*)-ylidene-acetamides (including 3,3-dipropyl-derivatives), as well as similar with them in isoquinoline fragment 1-dichloromethyl-isoquinolines and N-substituted 1-acetohydrazido-isoquinolines. The research of analgesic, anti-inflammatory, anthelmintic, insecticidi, coagulant and antiarrhythmic activity were carried out.