

На правах рукописи

**КИРИКОВ АРТЕМ ЮРЬЕВИЧ**

**СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ  
2-ГЕТАРИЛАМИНО-5,5-ДИМЕТИЛ-4-ОКСОГЕКС-2-ЕНОВЫХ  
КИСЛОТ И ИХ АМИДОВ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Пермь – 2013

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: **Игидов Назим Мусабекович**  
доктор фармацевтических наук, доцент ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант: **Махмудов Рамиз Рагибович**  
кандидат фармацевтических наук, доцент лаборатория БАВ ЕНИ ПГНИУ, заведующий лабораторией биологически активных веществ

Официальные оппоненты: **Михалёв Александр Иванович**  
доктор фармацевтических наук, профессор, ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, заведующий кафедрой биологической химии

**Лисовенко Наталья Юрьевна**

кандидат химических наук  
Пермский государственный научно-исследовательский университет, доцент кафедры природных и биологически активных соединений химического факультета

Ведущая организация: ГБОУ ВПО "Башкирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится 17 декабря 2013 г. в 12 часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2. Тел./факс (342) 233-55-01.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46.

Дата размещения объявления о защите диссертации на сайте Министерства образования и науки Российской Федерации <http://www.mon.gov.ru> «15» ноября 2013 г. и на сайте ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России <http://www.pfa.ru> «15» ноября 2013 г.

Автореферат разослан «16» ноября 2013 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат фармацевтических наук

 Н.В. Слепова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Одним из направлений поиска биологически активных веществ является тонкий органический синтез. Несмотря на то, что ацилпировиноградные кислоты (АПК), открытые еще в конце XIX века, всесторонне исследовались в течение последних 20-30 лет, они не утратили своей привлекательности для исследователей. (Гет)ароилпировиноградные кислоты, имея в своем составе несколько реакционных центров, обладают высокой реакционной способностью, вследствие чего открываются широкие возможности для синтеза, как ациклических, так гетероциклических соединений, обладающих широким спектром биологического действия. Однако практически неизученными остаются реакции алканоилпировиноградных кислот с нуклеофильными реагентами. До наших исследований отсутствовали сведения о синтезе и свойствах енаминопроизводных и енаминоамидов пивалоилпировиноградной кислоты, содержащих в положении 2 молекулы гетарильный фрагмент. Они в фармакологическом плане могут быть не менее перспективными, чем другие производные АПК. Поэтому, весьма актуальным является дальнейшее исследование их свойств и возможности применения в органическом синтезе, с целью создания новых структур и поиска среди них лекарственных средств.

**Цель работы.** Целью настоящего исследования является синтез новых биологически активных производных пивалоилпировиноградной кислоты – енаминокислот и их амидов, а также выявление взаимосвязи строения полученных веществ с их биологической активностью.

**Задачи исследования.** Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Осуществить синтез и изучить особенности строения енаминокислот, содержащих в своем составе фармакофорные фрагменты антипирина, тиофена.
2. Получить аммонийные соли на основе реакции енаминокислот с пиридиламинами.
3. Изучить циклизацию 2-гетариламино-5,5-диметил--4-оксогекс-2-еновых кислот под действием уксусного ангидрида.
4. Дециклизацией 5-трет-бутил-3-гетарилимино-2,3-дигидрофуран-2-онов под действием O- и N-нуклеофилов получить енаминоамиды пивалоилпировиноградной кислоты.
5. Изучить биологическую активность синтезированных соединений и выявить взаимосвязь структуры с действием.

### **Научная новизна:**

1. Установлено, что при взаимодействии пивалоилпировиноградной кислоты с аминокантипирином и аминотиофенами образуются енаминокислоты.

2. Впервые установлено, что 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновые кислоты циклизуются в среде уксусного ангидрида в 5-трет-бутил-3-гетарилимино-2,3-дигидрофуран-2-оны.

3. Выявлено, что дециклизация фуранонов-2 под действием спиртов, первичных алифатических, циклоалифатических и гетариламинов приводит к образованию эфиров и N-замещенных амидов 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот.

4. На основании данных ИК, ЯМР  $^1\text{H}$  спектроскопии и масс-спектрометрии установлена структура и выявлены особенности строения полученных соединений.

5. Исследована биологическая активность синтезированных соединений. Выявлены некоторые закономерности связи строения с активностью.

**Практическая значимость.** Разработаны препаративные методы синтеза ранее неизвестных производных пивалоилпировиноградной кислоты – 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот, 5-трет-бутил-3-гетарилимино-2,3-дигидрофуран-2-онов, эфиров 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот, N-замещенных амидов 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот. Синтезировано 66 новых соединений. Среди полученных соединений проведен скрининг на наличие противовоспалительной, анальгетической, гипогликемической и противомикробной активности. Для дальнейшего углубленного изучения предложены: 2-[(1,5-диметил-3-оксо-2-фенил-2,3-дигидро-1*H*-пиразол-4-ил)амино]-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновая кислота, 2-[(3-карбамоил-4,5,6,7-тетрагидробензо[*b*]тиофен-2-ил)амино]-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновая кислота, 2-[(1,5-диметил-3-оксо-2-фенил-2,3-дигидро-1*H*-пиразол-4-ил)амино]-5,5-диметил-4-оксо-N-фенетилгекса-2-енамид.

**Связь задач исследования с планом фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (№ государственной регистрации 01.9.50 00 7426).

**Личный вклад автора.** Автор непосредственно участвовал в изучении и обобщении данных отечественной и зарубежной литературы, синтезе органических соединений, проведении биологических испытаний, обработке и обосновании экспериментальных данных, апробации результатов

исследований, подготовке и написания научных публикаций по выполненной работе.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2 и 3 паспорта фармацевтическая химия, фармакогнозия.

**Апробация работы.** Материалы диссертационной работы обсуждались на итоговых научных конференциях профессорско-преподавательского состава в Пермской государственной фармацевтической академии в 2010-2013 годах; на конференциях с международным участием: «XIV молодежная конференция по органической химии» Екатеринбург 2011г; «Синтез знаний в естественных науках рудник будущего: проекты, технологии, оборудование» Пермь 2011г; IV Международной научно-практической конференции «Современная медицина и фармацевтика: анализ и перспективы развития» Москва 2012г.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 10 работ, в том числе 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК.

**Объем и структура диссертации.** Содержание работы изложено на 116 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов и списка литературы. Список литературы включает 113 работ отечественных и зарубежных авторов. Диссертация содержит 21 таблицу, 7 схем, 2 рисунка.

Глава 1 посвящена синтезу, химическим свойствам и биологической активности продуктов химических превращений пивалоилпировиноградной кислоты.

Во 2 главе приводится обсуждение результатов собственных исследований.

В 3 главе приведены результаты изучения фармакологической активности полученных соединений.

В 4 главе изложена экспериментальная химическая часть исследования.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

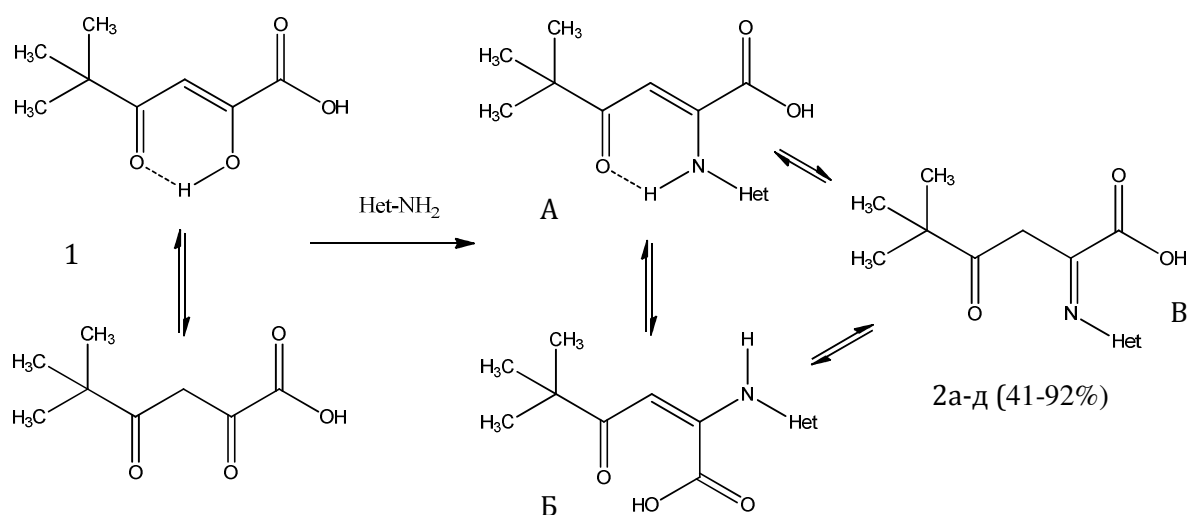
1. Результаты синтеза 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот, их солей, эфиров и амидов.
2. Установление структуры полученных соединений на основании данных ИК, ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии и масс-спектрометрии
3. Анализ результатов фармакологического скрининга синтезированных соединений.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

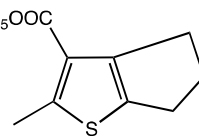
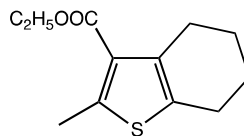
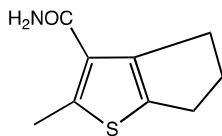
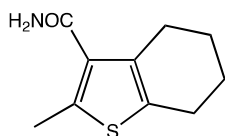
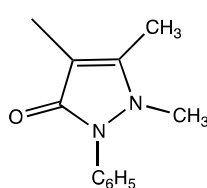
### 1. Синтез, свойства 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот

#### 1.1. Синтез новых 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот

С целью дальнейшего исследования химического поведения пивалоилпировиноградной кислоты в реакции с гетариламинами, особенностей строения, а также для поиска новых биологически активных соединений нами изучено её взаимодействие с 4-аминоантипирином и 2-аминотиофенами. Установлено, что кратковременное нагревание эквимольных количеств реагентов в бензоле или уксусной кислоте приводит к образованию 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот (2а-д).



где Het=



Полученные соединения представляют собой кристаллические вещества желтого или оранжевого цвета, растворимые в бензоле, толуоле, ацетоне, диметилсульфоксиде, диметилформамиде, малорастворимые в эфире, ацетонитриле, не растворимые в гексане и воде. Соединения со спиртовым раствором хлорида железа дают вишнево-красное окрашивание, обусловленное присутствием карбоксильной группы.

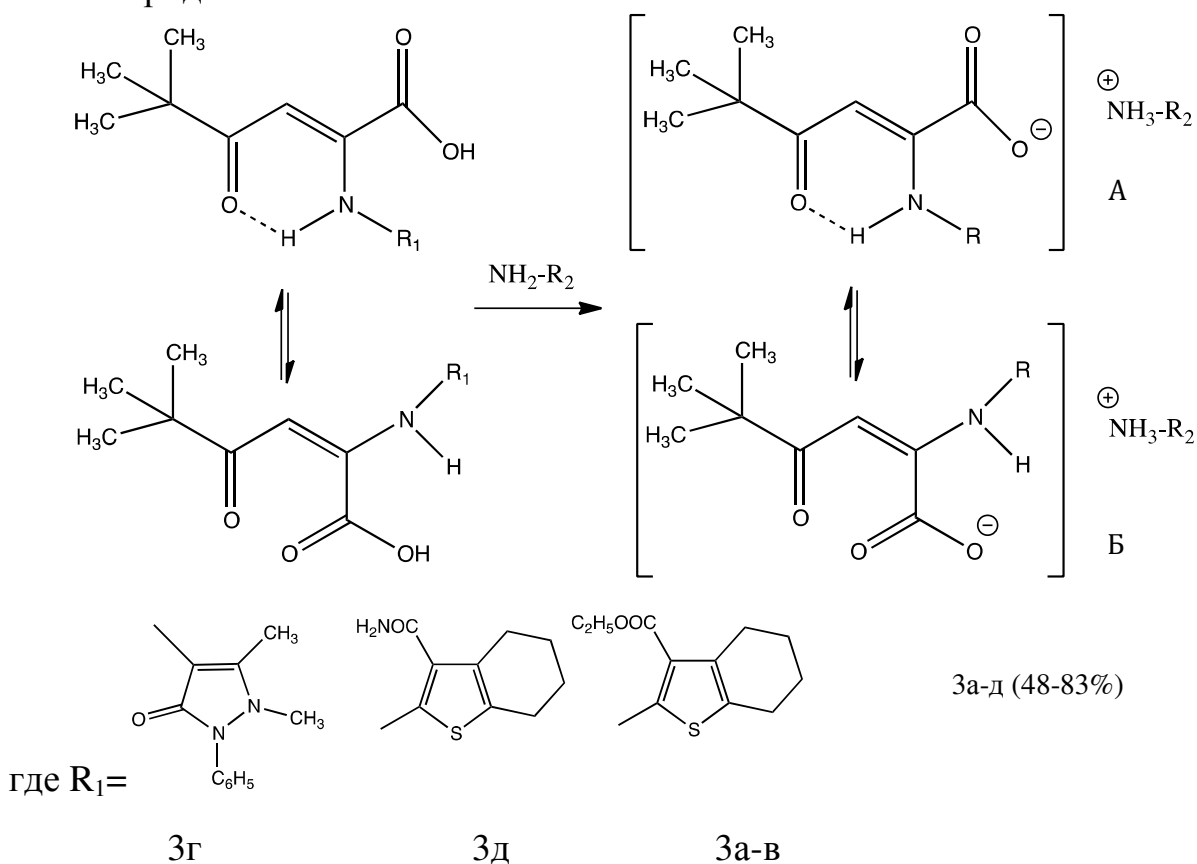
В спектрах ЯМР <sup>1</sup>Н соединений (2а-д), снятых в ДМСО-d<sub>6</sub>, наблюдается разнообразие таутомерных форм. Соединения (2б, 2в) находятся в растворе виде двух енаминокетонных форм А и Б, характеризуются присутствием в

спектрах сигналов метиновых протонов при 5.68-6.04 и 6.01-6.39 м.д. соответственно. Для соединения (2г), кроме двух енаминокетонных форм А и Б, отмечено наличие третьей таутомерной формы – иминной В, что доказывается присутствием в спектре дополнительного сигнала двух протонов метиленовой группы при 3.77 м.д. В случае соединения 2а обнаружена одна форма Б, о чем свидетельствует наличие в спектре только одного сигнала метинового протона при 5.82 м.д., а для соединения 2д – форма А, сигнал метинового протона которого находится в более слабом поле при 6.25 м.д.. Наличие в масс-спектрах соединений (2а-г) пиков молекулярных и фрагментных ионов также подтверждает предложенную структуру.

## 1.2. Химические свойства енаминокислот

### 1.2.1. Взаимодействие 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот с пиридиламинами

С целью расширения ряда солей енаминокислот и изучения особенностей их строения, а также для биологических испытаний нами получены 5,5-диметил-2-гетарил-4-оксогекс-2-еноаты 2-пиридиламмония (3а), 3-пиридиламмония (3б), 3-метил-2-пиридиламмония (3в), 4-метил-2-пиридиламмония (3г, 3д), при кратковременном нагревании енаминокислот (2а, 2б, 2г) с 2-,3-аминопиридинами, 2-амино-3-метилпиридином, 2-амино-4-метилпиридином.



где  $R_2 =$  2-пиридил (3а), 3-пиридил (3б), 3-метилпиридил (3в), 4-метилпиридил (3г), 4-метилпиридил (3д).

Полученные соединения представляют собой бесцветные (3г) или окрашенные в желтоватый цвет (3а-в, 3д) кристаллические вещества, растворимые в хлороформе, ацетоне, диметилсульфоксиде, диметилформамиде, малорастворимые в эфире, воде и не растворимые в гексане.

В ИК спектрах соединений (3в-д.), снятых в пасте вазелинового масла, присутствуют полосы поглощения валентных колебаний NH-групп при 3347-3406  $\text{см}^{-1}$ , 3269-3300  $\text{см}^{-1}$ , 3160-3227  $\text{см}^{-1}$ , полоса валентных колебаний карбонила карбоксилата-аниона при 1651-1671  $\text{см}^{-1}$ , а также низкочастотная полоса поглощения валентных колебаний кетонного карбонила при 1573-1606  $\text{см}^{-1}$ .

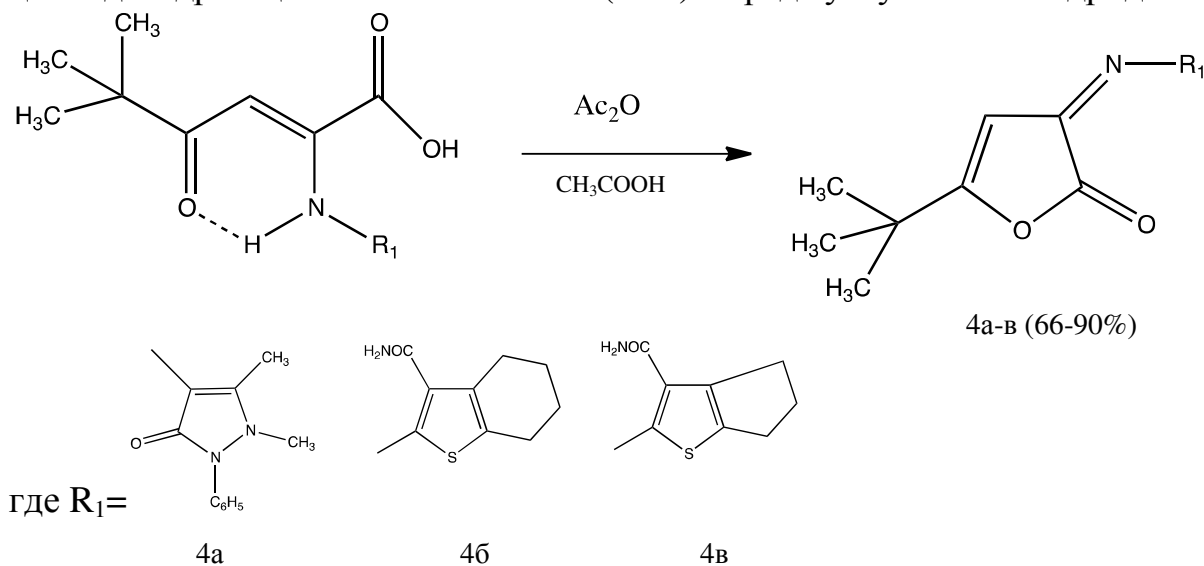
В спектрах ПМР соединений (3в-д.) отмечено наличие только сильнополюного сигнала метинового протона при 5.00-5,83 м.д., что свидетельствует о существовании их только в форме Б (Е-конфигурации).

В спектрах соединений (3а, 3б), кроме синглета метинового протона формы Б при 5.58-5.80 м.д., обнаружен сигнал второго метинового протона формы А (Z-конфигурации) при 6.15-6.24 м.д.

Уширенный сигнал трех протонов аммонийной группы наблюдается при 6.43-6.91 м.д., а также синглет протона NH группы при 11,21-12,56 м.д.. Сигнал протона NH группы в спектре соединения (3в) обнаружить не удастся, по-видимому, вследствие его значительного уширения.

### 1.2.2. Внутримолекулярная циклизация

Для сравнительной оценки реакционной способности, а также для дальнейшего синтеза потенциально биологически активных веществ нами получены 5-трет-бутил-3-гетарилимино-2,3-дигидро-2-фураноны (4а-в) циклодегидратацией енамино кислот (2а-в) в среде уксусного ангидрида.





Фураноны (4а-в) – интенсивно окрашенные от желтого до красного цвета кристаллические вещества, растворимые в хлороформе, ДМСО, ДМФА, малорастворимые в бензоле, толуоле, эфире, не растворимые в гексане и воде.

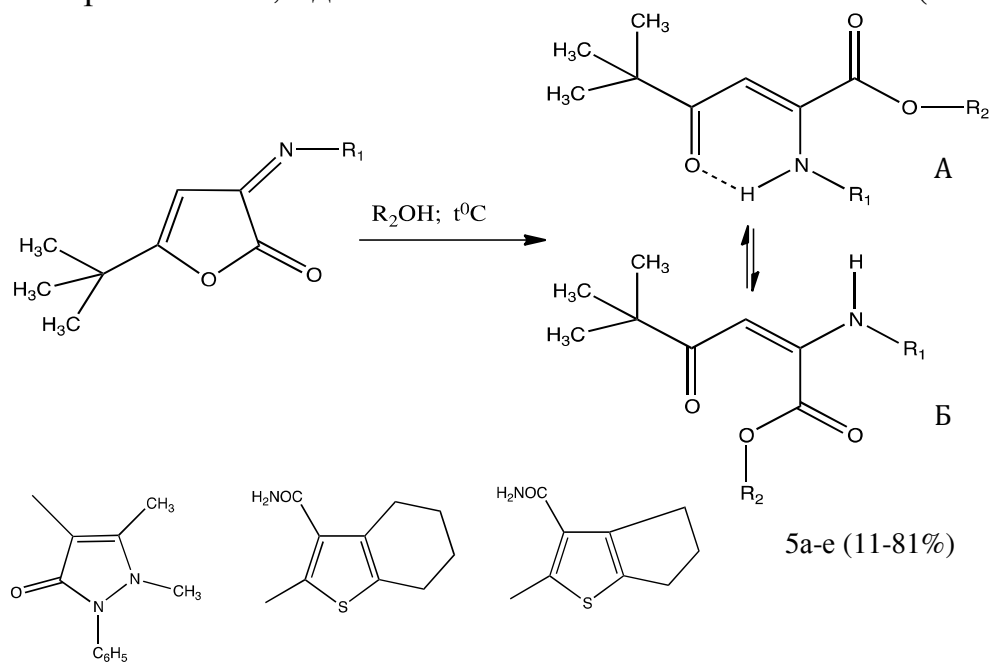
В ИК спектрах соединений (4а, 4б) имеется полоса поглощения в области 1788- 1792 см<sup>-1</sup>, характерная для валентных колебаний лактонного карбонила фуранового цикла.

В спектрах ЯМР <sup>1</sup>Н отсутствует сигнал протона аминогруппы, синглет метинового протона Н<sup>4</sup> наблюдается в области 6.19-6.95 м.д. Енаминокислоты (2г, 2д) не подвергаются циклизации в данных условиях. В результате реакции были выделены исходные соединения.

## 2. Взаимодействие 5-трет-бутил-3-гетарилимино-2,3-дигидрофуран-2-онов с моноклеофилами

### 2.1. Реакции с О-нуклеофилами

Нами изучено взаимодействие 5-трет-бутил-3-гетариламино-3(Н)-фуран-2-онов (4а-в) со спиртами. В результате реакции выделены алкиловые эфиры 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот (5а-е).



где R<sub>1</sub>=

5а-б

5в-г

5д-е

R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub> (5а, 5б), C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (5в, 5г), (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH (5д, 5е)

Полученные соединения представляют собой желтые (5а, 5б) или оранжевые (5в-е) кристаллические вещества, растворимые в бензоле, толуоле, спирте, хлороформе, ацетоне, эфире не растворимые в воде и гексане.

В ИК-спектрах соединений (5а, 5б, 5г), записанных в вазелиновом масле, присутствует полоса поглощения в области 1732-1744 см<sup>-1</sup>, характерная для валентных колебаний сложноэфирного карбонила. У соединений (5б, 5г) полоса поглощения валентных колебаний аминогруппы наблюдается при 3339-3341 см<sup>-1</sup>. Сигнал NH группы в ИК-спектре соединения (5а) отсутствует, по-видимому, вследствие вовлечения аминогруппы в ВВС с С<sup>4</sup>=О группой.

Согласно данным спектров ЯМР<sup>1</sup>H соединения (5а, 5б, 5д) существуют в растворе в одной енамино-кетонной форме в виде Z-изомера (форма А), что подтверждается наличием одного синглета метинового протона при 5.86-5.98 м.д. и сигнала протона вторичной аминогруппы при 11.14-11.45 м.д.

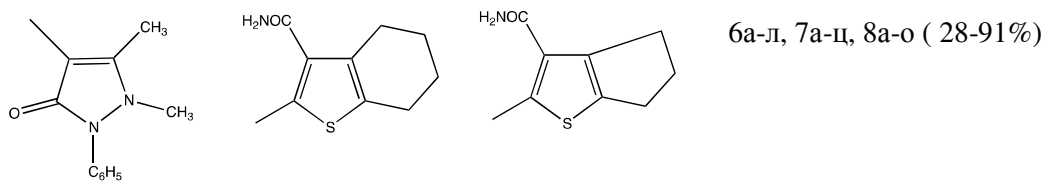
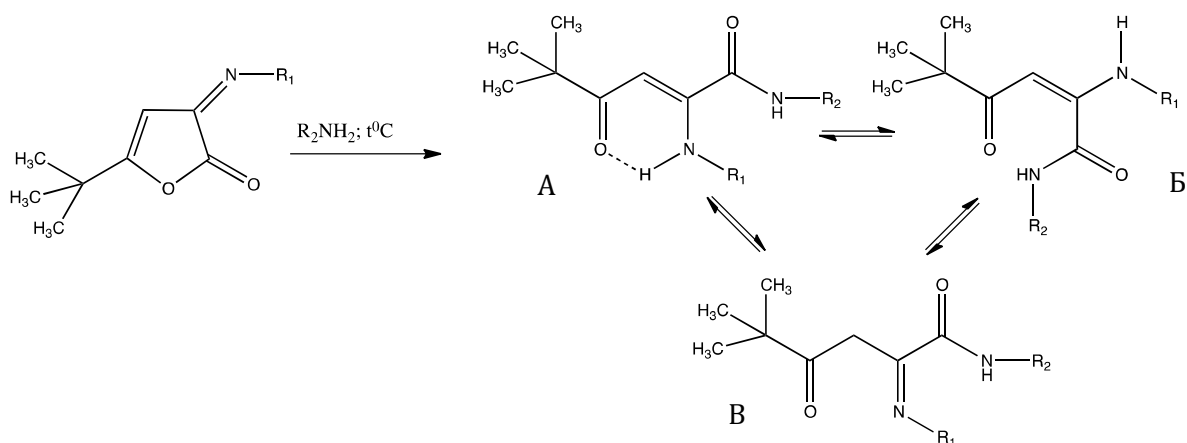
Кроме того в спектрах ЯМР <sup>1</sup>H соединений (5в, 5г, 5е) наряду с сигналом метинового протона при 5.97-6.45 м.д формы А, появляется сигнал второго метинового протона при 5,31-6.13 м.д., что подтверждает наличие формы Б.

В масс-спектре соединения (5б) обнаружены пики со следующими значениями m/z: 386(30.0)[M+1]<sup>+</sup>, 340 (100.0) [M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>, 313 (40.0) [M-COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>, что не противоречит предлагаемой структуре.

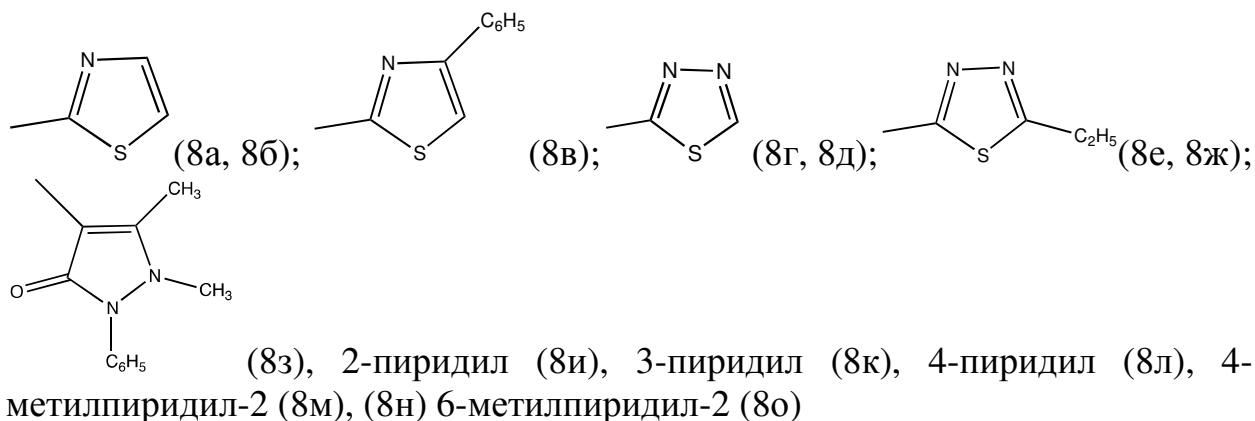
Нам не удалось вовлечь во взаимодействие 5-трет-бутил-3-гетариламино-3(Н)-фуран-2-оны со стерически затрудненными бутиловым спиртом, бензиловым спиртом, 2-N,N-диэтиламиноэтанолом, ментолом в аналогичных условиях. Были выделены исходные соединения.

### 2.3.2. Реакции с N-нуклеофилами

С целью поиска новых биологически активных соединений среди производных пивалоилпировиноградной кислоты нами исследовано взаимодействие иминофуранонов с первичными аминами. При кратковременном нагревании 5-трет-бутил-3-гетариламино -3(Н)-фуран-2-онов (4а-в) с алифатическими, циклоалифатическими, ароматическими и гетариламинами в толуоле были выделены продукты дециклизации - N-замещенные амиды 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот (6а-л), (7а-ц), (8а-о).



$R_2 = (\text{CH}_3)_3\text{C}$  (6а, 6б, 6в),  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$  (6г, 6д, 6е), циклогексил (6ж, 6з),  $\text{C}_6\text{H}_5(\text{CH}_2)_2$  (6и, 6к, 6л),  $\text{C}_6\text{H}_5$  (7а, 7б, 7в), 4- $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$  (7г, 7д), 2- $\text{C}_2\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_4$  (7е, 7ж), 4- $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$  (7з, 7и), 2- $\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_6\text{H}_4$  (7к, 7л), 4- $\text{CH}_3\text{CONHC}_6\text{H}_4$  (7м, 7н), 4- $\text{ClC}_6\text{H}_4$  (7о, 7п, 7р), 4- $\text{BrC}_6\text{H}_4$  (7с, 7т, 7у), 2- $\text{CH}_3\text{-5-NO}_2\text{C}_6\text{H}_3$  (7ф, 7х), 2-ОН-3-і-Pr-6- $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_2$  (7ц)



Структура синтезированных енаминоамидов подтверждена данными ИК-, ПМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, а также отрицательной пробой со спиртовым раствором хлорида железа (III).

### 3. Биологическая активность синтезированных соединений

Полученные соединения были подвергнуты фармакологическому скринингу на наличие противомикробной, противовоспалительной, антипростагландиновой, анальгетической, гипогликемической активности, а также изучена их острая токсичность.

Исследование острой токсичности, антипростагландиновой, анальгетической активности проводилось в лаборатории биологически активных веществ Естественнонаучного института Пермского

государственного научно-исследовательского университета под руководством кандидата фармацевтических наук, доцента Махмудова Р.Р.

Противомикробная активность изучена на кафедре микробиологии в Пермской государственной фармацевтической академии под руководством заведующей кафедрой, доктора фармацевтических наук, профессора Одеговой Т.Ф.

Противовоспалительная и гипогликемическая активность исследована на кафедре фармакологии в Пермской государственной фармацевтической академии под руководством заведующего кафедрой, доктора медицинских наук, профессора Котегова В.П.

### 3.1 Острая токсичность

Исследование острой токсичности наиболее активных соединений проводилось в лаборатории биологически активных веществ Естественнонаучного института Пермского государственного научно-исследовательского университета.

Острую токсичность изучали на мышах обоего пола массой от 18 до 22 г. При сортировке животных учитывали отсутствие статистически достоверного отклонения по массе. Каждое соединение исследовали на 10 животных. Экспериментальным животным вводили исследуемые вещества в 3% крахмальной слизи однократно перорально в диапазоне доз от 100 до 1500 мг/кг. За животными вели наблюдение в течение 10 дней, фиксируя поведение, интенсивность и характер двигательной активности, наличие судорог, координацию движений, тонус скелетной мускулатуры, реакции на раздражители, потребление воды и пищи, изменение массы тела. Контрольной группе вводили перорально 3% крахмальную слизь. Результаты обрабатывали по Прозоровскому с вычислением средней смертельной дозы (ЛД<sub>50</sub>) при  $p \leq 0,05$ .

Таблица 1

Исследование острой токсичности соединений в опытах на мышах при внутрибрюшинном введении.

Соединения	ЛД <sub>50</sub>
2а	1200 $p \leq 0,05$
2б	1500 $p \leq 0,05$
6и	1200 $p \leq 0,05$
6л	1500 $p \leq 0,05$
7н	1500 $p \leq 0,05$
7т	1500 $p \leq 0,05$
8к	1500 $p \leq 0,05$
метамизол Na	2900*(2160-3340)
диклофенак	74*(48,8-124)

Из таблицы видно, что испытанные соединения являются менее токсичными веществами, чем диклофенак и согласно классификации степени воздействия на организм их можно отнести к 3 классу опасности (умеренно опасным веществам).

### 3.2 Противомикробная активность

Определение противомикробной активности проводили у 46 соединений методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде. Исследования проводили по отношению к двум видам тест - микробов: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

Для заражения используется суточная агаровая культура, которая смывается изотоническим раствором хлорида натрия и доводится по оптическому стандарту до концентрации 500 млн. микробных тел в 1 мл, стандартное разведение доводится еще до содержания 5 млн. микробных тел в 1 мл. В качестве эталона сравнения использовали антибактериальные препараты – левомицетин и норфлоксацин.

Таблица 2

Противомикробная активность наиболее активных соединений

Соединение	МПК, мкг/мл <i>S. aureus</i>	МПК, мкг/мл <i>E. coli</i>
2б	15,6	31
2в	250	125
2г	125	1000
7д	125	125
8а	125	500
8г	125	1000
Препарат сравнения левомицетин	0,5-100	0,5-200
Препарат сравнения норфлоксацин	0,06- >32	0,03-32,0

Как видно из таблицы, только соединение (2б), имеет противомикробный эффект на уровне препаратов сравнения – левомицетина и норфлоксацина, остальные соединения проявили слабую противомикробную активность.

### 3.3 Противовоспалительная активность

Наличие противовоспалительной активности было исследовано у 28 соединений. Для скрининга соединений исследуемых рядов использовали модель воспаления, вызываемого субплантарной инъекцией 0,1 мл 1% водного раствора каррагинина в заднюю лапу крыс. Показателем действия исследуемых соединений, вводимых внутрь (ч/рот) в дозе 50 мг/кг в 2% растворе крахмальной слизи за 1 час до инъекции каррагинина, служила величина отека лапки, определяемая онкометрически. Выраженность экссудативной реакции животных оценивали онкометрически по изменению

объема воспаленной лапы через 3 и 5 часов после введения каррагинина. Препаратом сравнения служил диклофенак в дозе 10 и 50 мг/кг, вводимый аналогично изучаемым соединениям.

Таблица 3

Противовоспалительная активность наиболее активных соединений

Соединение	Торможение каррагининового отека, %			
	мг/кг	1 час	3 час	5 час
1	2	3	4	5
2а	50	45,2**	76,4*	74,8**
2б	50	48,8	69,4	73,7
6г	50	37,5**	52,4*	1,54
6и	50	68,1**	81,1*	69,0*
6к	50	5,7	51,8*	60,9
6л	50	56,7	59,3	11,1
7о	50	23,7	50,9	7,4
7т	50	12,3	65,6	55,8
диклофенак	2	25,5	40,8	41,0
диклофенак	10	40,2	65,6	60,1
диклофенак	24	57,4	69,4	72,2
диклофенак	50	12,6	38,4	34,7

\*Относительно соответствующего контроля  $p \leq 0,05$

\*\*Относительно соответствующего контроля  $p \leq 0,01$

При введении апробируемых соединений в эквитоксической дозе, равной  $1/30LD_{50}$ , противовоспалительная активность, превосходящая таковую препарата сравнения (диклофенак 2 мг/кг) на протяжении всего исследования, отмечена у соединений 2а, 2б, 6и. На протяжении 3-5 часов более активно, чем диклофенак, экссудативное воспаление подавляли вещества 6к, 7т. Следует отметить, что выраженность противовоспалительного действия наиболее активных соединений 2а, 2б и 6и, проявленная ими в дозе, равной  $1/30LD_{50}$ , проявляется у препарата

сравнения лишь при повышении его эквитоксической дозы до  $1/4LD_{50}$  (диклофенак 24 мг\кг).

### 3.4 Изучение антипростагландиновой активности

Первоначально было изучено влияние арахидоновой кислоты (фирмы MERCK-Schuchardt), на моторную функцию желудочно-кишечного тракта. Определены минимально и максимально эффективные дозы АХК вызывающие нарушение пищеварения (изменение цвета кала, диарею). Препарат вводили орально, однократно в виде раствора в подсолнечном масле в диапазоне доз от 3,0 до 100,0 мкг/кг. Контрольные животные получали эквивалентное количество подсолнечного масла. Наблюдение за динамикой дефекации проводили ежечасно, с момента введения АХК в течение 7 часов. опыты показали, что начальные признаки расстройства дефекации возникали уже через 1-2 часа после введения АХК. Пик действия наступал через 3 часа постепенно снижаясь, нормализовался по истечении 6-7 часов.

Мы изучили 8 наиболее активных соединений, на наличие антипростагландинового действия.

Исследуемые вещества вводили однократно, орально в крахмальной слизи в дозе 50 мг/кг по каррагениновому воспалению, за час до введения арахидоновой кислоты (100 мкг/кг- оптимально эффективная доза) контрольные животные получали эквивалентное количество крахмальной слизи. Результаты опытов учитывали на пике действия, т.е. через 3 часа после введения.

Таблица 4

Сравнительная характеристика показателей антипростагландинового действия и отека на каррагениновой модели соединений (доза 50 мг/кг)

№ соед.	Каррагениновое воспаление. Ингибирование отека в % к контролю, 3 часа	Антипростагландиновое действие. Ингибирование диареи, %, 3 часа
1	2	3
2а	76	84
2б	69	70
6г	52	48,5
6д	42	48
6и	81	92
6к	52	55
6л	59	60
7т	65	68

Эффект считали достоверным при  $p < 0,05$

Исследование показало, что показатели ингибирования отека, вызванного каррагенином, и ингибирования диареи, вызванной арахидоновой кислотой, у лекарственных препаратов довольно хорошо

коррелируют между собой, - коэффициент корреляции ( $r = 0,97$ ), который рассчитывался для двух рядов величин по формуле в программе Excel:

$$r_{XY} = \frac{\text{cov}_{XY}}{\sigma_X \sigma_Y} = \frac{\sum(X - \bar{X})(Y - \bar{Y})}{\sqrt{\sum(X - \bar{X})^2 \sum(Y - \bar{Y})^2}}$$

Высокий показатель коэффициента корреляции доказывает высокую точность обоих исследований, а также наличие противовоспалительной активности у исследуемых соединений.

Корреляционную зависимость ингибирования диареи и ингибирования отека соединениями (2а,2б,6г,6д,6и,6к,6л,7т) можно увидеть на рисунке 2.

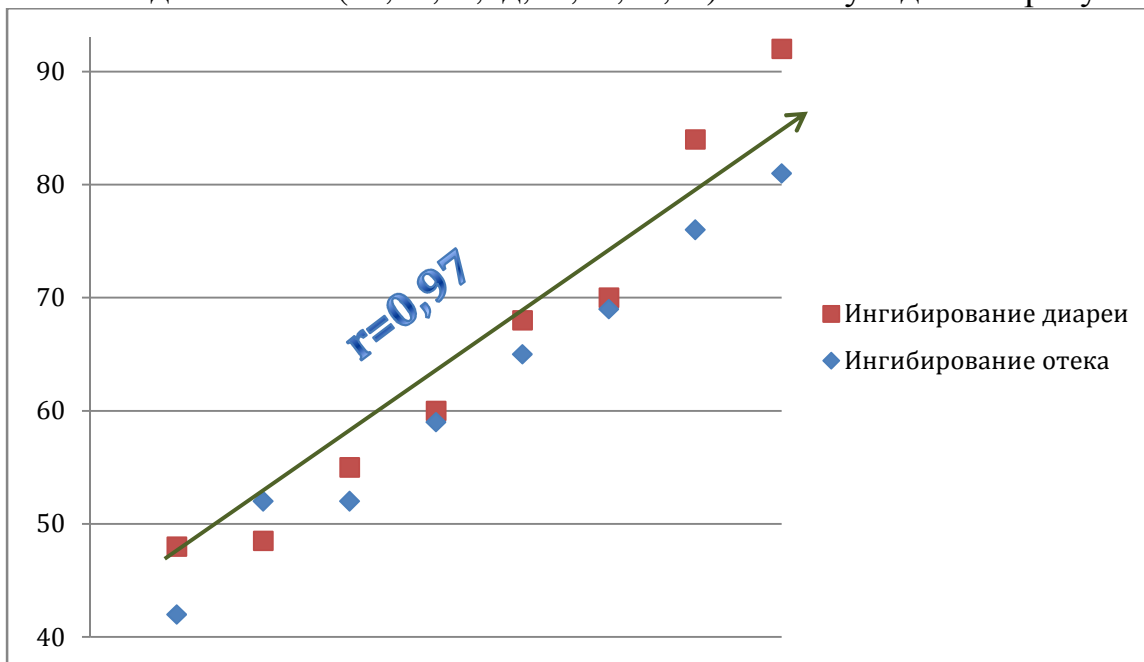


Рис.2 Корреляционное поле

### 3.5 Анальгетическая активность

Анальгетическая активность 17 соединений была изучена на нелинейных белых мышах массой 18-22 г по методике термического раздражения "горячая пластинка". Исследуемые соединения вводили внутрь в дозе 50 мг/кг в виде взвеси в 2% крахмальном растворе за 30 минут до помещения животных на нагретую до 53,5<sup>0</sup>С металлическую пластинку. Показателем изменения болевой чувствительности служила длительность пребывания животных на «горячей пластинке» до наступления оборонительной реакции - облизывания задних лапок, измеряемая в секундах. Эффект оценивали через 0,5; 1,0; 1,5 и 2,0 ч после введения соединений. В опытах использовались животные с исходным временем наступления оборонительного рефлекса - не более 15 сек. Каждое соединение испытывали на 6 животных. Результаты оценивали по увеличению времени наступления оборонительного рефлекса по сравнению с исходными данными. Контрольной группе животных вводили 2% крахмальную слизь. В качестве препаратов сравнения использовали



метамизол Na (ООО «Фармхимкомплект») и субстанцию натриевой соли диклофенака (Sigma®) в дозе 50 мг/кг.

Статистическую обработку данных проводили по критерию Стьюдента. Эффект считали достоверным при  $p \leq 0,05$  по сравнению с контролем и препаратом сравнения - метамизолом Na.

Таблица 5

Анальгетическая активность наиболее активных соединений

Соединение	Доза мг/кг	Время защитного рефлекса, сек (120 минут)
1	2	3
2в	50	20,0±2,76 p<0,05
6ж	50	22,8±2,0 p<0,05
6и	50	30,2±3,5 p<0,05
8е	50	22,1±1,0 p<0,01
8к	50	21,4±2,6 p<0,05
Контроль 2% крахмальная слизь	50	10,2±0,3
метамизол Na	50	25,2±0,5
диклофенак	50	22,8±0,9

Из таблицы видно, что среди всех испытанных соединений наиболее выраженным анальгетическим эффектом обладает соединение би, по активности незначительно превышающее активность метамизола Na и диклофенака. Остальные соединения несколько уступают препаратам сравнения.

### 3.6 Гипогликемическая активность

Проведен скрининг 11 соединений: амидов и солей 2-гетериламинопроизводных 5,5-диметил-4-оксо-2-гексеновых кислот целью анализа их влияния на уровень гликемии интактных крыс. Эксперименты выполнены на нелинейных крысах-самцах массой 210-240 г. Исследуемые вещества и препараты сравнения вводили однократно через рот в скрининговой дозе 25 мг/кг в виде суспензии на 1% крахмальной слизи. Содержание глюкозы в крови животных определяли глюкозооксидазным методом до, а также через 3 и 5 часов после введения исследуемых веществ. В качестве эталонов сравнения использовали препараты двух классов: производные

сульфонилмочевины - гликлазид и карбутамид, а также производное бигуанидного ряда - метформин.

Таблица 5

Влияние амидов и солей 2-гетериламино-производных 5,5-диметил-4-оксо-2-гексеновых кислот на уровень гликемии интактных крыс

Серия опыта	Уровень гликемии		
	исходн., ммоль/л	3 час, % от исх.	5 час, % от исх.
9ж	3,30±0,24	+10,40±6,67*	+16,49±6,91*
5г	3,88±0,22	+4,77±3,63*	+8,41±5,79
9е	3,92±0,26	-12,49±4,04	+6,81±5,48
Контроль	<b>3,65±0,06</b>	<b>-6,5±1,3</b>	<b>-4,5±2,0</b>
9г	4,23±0,23	-8,10±4,85	-0,63±5,47
Контроль	<b>4,23±0,13</b>	<b>-4,56±2,11</b>	<b>-5,92±3,11</b>
7б	4,67±0,11	-0,31±5,32	-11,59±4,14
9и	4,45±0,19	-6,06±4,84	+5,41±1,80
Контроль	<b>4,73±0,14</b>	<b>-6,1±1,1</b>	<b>-9,7±2,2</b>
3а	5,05±0,15	-5,44±4,00	+0,11±5,03
Контроль	<b>4,96±0,14</b>	<b>-6,7±2,3</b>	<b>-11,2±2,5</b>
9к	5,38±0,08	-12,99±1,71*	+2,61±3,21*
7ч	5,88±0,22	-11,49±4,31	-6,14±6,23
3е	5,85±0,13	-7,09±4,01	-5,46±3,33
3б	5,73±0,16	-8,74±3,40	-1,27±5,48
Контроль	<b>5,55±0,16</b>	<b>-3,05±4,10</b>	<b>-13,30±4,02</b>
Гликлазид	4,28±0,39	-24,8±3,0*	-14,5±4,9
Карбутамид	4,10±0,13	-17,1±8,7	-19,5±2,2*
Метформин	4,10±0,79	+6,1±4,1*	+ 8,9±4,6*
Контроль	<b>4,02±0,14</b>	<b>- 5,5±2,4</b>	<b>-8,2±1,5</b>

Примечание: достоверность отличий по сравнению с соответствующим контролем при  $P \leq 0,05$  - \*.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о неоднозначном влиянии соединений данного ряда на уровень гликемии интактных животных. В отличие от производных сульфонилмочевины, обладающих гипогликемическим эффектом и в отличие от производных бигуанида, повышающих сахар крови нормогликемических животных, изучаемые вещества на уровень глюкозы крови действуют разнонаправлено.

## **Выводы.**

1. При взаимодействии пивалоилпировиноградной кислоты с гетариламинами образуются енаминокислоты.
2. Установлено, что циклизация 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот в уксусном ангидриде происходит с образованием 5-трет-бутил-3-гетарилимино-2,3-дигидро-2-фуранонов.
3. Показано, что реакция 5-трет-бутил-3-гетарилимино-2,3-дигидро-2-фуранонов со спиртами и первичными аминами приводит к образованию продуктов дециклизации – N-замещенных амидов 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот
4. При фармакологическом скрининге синтезированных соединений, выявлены вещества, обладающие противовоспалительной, анальгетической и гипогликемической активностью.
5. Для углубленных фармакологических исследований предлагаются соединения:
  - 2-[(1,5-диметил-3-оксо-2-фенил-2,3-дигидро-1*H*-пиразол-4-ил)амино]-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновая кислота
  - 2-[(3-карбамоил-4,5,6,7-тетрагидробензо[*b*]тиофен-2-ил)амино]-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновая кислота
  - 2-[(1,5-диметил-3-оксо-2-фенил-2,3-дигидро-1*H*-пиразол-4-ил)амино]-5,5-диметил-4-оксо-N-фенетилгекса-2-енамид

## **Основные положения диссертации изложены в работах:**

1. **Кириков, А.Ю.** Синтез, свойства и биологическая активность 2-гетериламинопроизводных 5,5-диметил-4-оксо-2-гексеновых кислот / А.Ю. Кириков, Н.М. Игидов, Е.С. Березина и др. // Вестник ПГФА.- 2010. -№7.- С.240-242.
2. **Кириков, А.Ю.** Синтез и биологическая активность N-замещённых амидов 2-(4-антипириламино)-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновой кислоты / А.Ю. Кириков, М.А. Киселев, Н.М. Игидов и др. // Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализации: мат. науч. -практ. конф. с междунар. участием. – Пермь.- 2011. - С. 90-92.
3. Киселёв, М.А. Синтез, свойства и биологическая активность N-гетериламидов 2-[(3-карбамоил-4,5,6,7-тетрагидробензо[b]тиофен-2-ил)амино]-5,5-диметил-4-оксогексен-2-овых кислот / М.А. Киселёв, **А.Ю. Кириков**, Н.М. Игидов и др. // Вестник ПГФА.- 2011.- №8. -С.82-84.
4. **Кириков, А.Ю.** Синтез, нуклеофильные превращения 3-(4-антипирилимино)-5-трет-бутил-3Н-фуран-2-она/ А.Ю. Кириков, М.А. Киселёв, Н.М. Игидов и др.// Синтез знаний в естественных науках рудник будущего: проекты, технологии, оборудование. Материалы международной конференции. Пермь. - 2011. - Том 2. - С. 427-430.
5. Макаров, А.С. Синтез и некоторые химические превращения енамино- и енгидразинопроводных пивалоилпировиноградной кислоты / А.С. Макаров, **А.Ю. Кириков**, Н.М. Игидов, и др. //Материалы XIV молодежной конференции по органической химии. - Екатеринбург. - 2011. - С.168-170.
- 6.Кириков, А.Ю. Синтез и свойства алкиловых эфиров 2-(гетериламино)-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот//А.Ю. Кириков, Н.М. Игидов // Вестник ПГФА. - 2012. - № 9- С. 89-90.
7. **Кириков, А.Ю.** Биологическая активность N-ариламидов 2-(4-антипириламино)-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновой кислоты // А.Ю. Кириков, Н.М. Игидов, А.Г. Гольдштейн и др. // Современная медицина и фармацевтика: анализ и перспективы развития. Материалы IV Международной научно-практической конференции.-Журнал «Естественные и технические науки» и издательство «Спутник +».- Москва.- 2012. – С. 42-44.
8. **Кириков, А.Ю.** Синтез и биологическая активность амидов и эфиров 2-(1,5-диметил-3-оксо-2-фенил-2,3-дигидро-1Н-пиразол-4-ил) амино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновой кислоты. / А.Ю. Кириков, Н.М. Игидов, А.Г. Гольдштейн и др. // Научные ведомости БелГУ. -№ 16 (135).- ВЫПУСК 19.-Белгород. -2012. – С.119-122.

9. Кириков, А.Ю. Синтез и нуклеофильные превращения 2-((5-(трет-бутил)-2-оксофуран-3(2H)-илиден)амино-4,5,6,7-тетрагидробезотиофена-3-карбоксамид) // А.Ю. Кириков, Н.М. Игидов, И.Н. Чернов и др. // Баш. хим. журнал. -Т.20. - №1. - 2013г. - С.18-21

10. Кириков, А.Ю. Синтез и гипогликемическая активность амидов и солей 2-гетариламинопроизводных 5,5-диметил-4-оксо-2-гексеновых кислот.// А.Ю. Кириков, Н.М. Игидов, И.П. Булатов и др.// Современные проблемы науки и образования. -Электронный журнал. -№2. - 2013. Веб-ресурс: <http://www.science-education.ru/108-8759>

#### **Кириков Артем Юрьевич (Россия)**

Реакцией пивалоилпировиноградной кислоты с гетариламинами осуществлен синтез ранее не известных 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот, циклодегидратация которых под действием уксусного ангидрида приводит к образованию 5-трет-бутил-3-гетарилимино-2,3-дигидро-2-фуранонов. В результате дециклизации иминофуранонов под действием спиртов и первичных аминов получены эфиры и N-замещенные амиды 2-гетариламино-5,5-диметил-4-оксогекс-2-еновых кислот. Изучена их противомикробная, противовоспалительная, антипростагландиновая, анальгетическая и гипогликемическая активность.

#### **Kirikov Artem Yurievich (Russia)**

By reaction pivaloylpiruvic acid with hetarylamines the synthesis of 5,5-dimethyl-2-(hetaryl-amino)-4-oxohex-2-enoic acids was carried out. The cyclodehydration of this acids by treatment of acetic anhydride leads to 5-(*tert*-butyl)-3-(hetaryl-imino)furan-2(3*H*)-ones. The result of decyclization 5-(*tert*-butyl)-3-(hetaryl-imino)furan-2(3*H*)-ones by treatment alcohols, amines is formation ethers and N-substituted amides of 5,5-dimethyl-2-(hetaryl-amino)-4-oxohex-2-enoic acids. The antimicrobial, anti-inflammatory, anti-prostaglandin, analgesic and hypoglycemic activities of compounds were studied.