

На правах рукописи

Чупина Татьяна Анатольевна

СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
ПРОИЗВОДНЫХ N-АЦИЛГАЛОГЕН(Н)АНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ,
АМИДОВ, ГИДРАЗИДОВ И 3,1-БЕНЗОКСАЗИН-4-ОНОВ С
АДАМАНТИЛЬНЫМ ЗАМЕСТИТЕЛЕМ

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Пермь – 2015

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

Научный руководитель

Коркодинова Любовь Михайловна

доктор фармацевтических наук, профессор, ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России

Официальные оппоненты:

Новиков Михаил Станиславович

доктор фармацевтических наук, доцент, ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии

Машевская Ирина Владимировна

доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», декан химического факультета.

Ведущая организация: ГБОУ ВПО "Башкирский государственный медицинский университет" Минздрава России, г. Уфа.

Защита состоится 17 марта 2015 г. в 14.00 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. (342) 233-55-01.

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

Текст диссертации размещен на сайте ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России <http://www.pfa.ru> 27 октября 2014 г.

Дата размещения объявления о защите диссертации на сайте Министерства образования и науки Российской Федерации <http://www.mon.gov.ru> «__» _____ 2015 г.

Автореферат, отзыв научного руководителя и объявление о защите диссертации размещены на сайте ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России <http://www.pfa.ru> «__» _____ 2015 г.

Автореферат разослан «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Н.В. Слепова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Производные анраниловой кислоты, являются не только исходными продуктами для получения азотсодержащих гетероциклических соединений, но и биологически активными веществами, которые проявляют широкий спектр фармакологической активности с низкой токсичностью, в частности, противовоспалительной, анальгезирующей, противомикробной, диуретической и цитотоксической.

Биологическая активность производных адамантана обусловлена симметрией и объемностью пространственного строения, что позволяет им легко проникать через биологические мембраны. Модификация структуры анраниловой кислоты путем введения адамантильного радикала значительно изменяет их биологическую активность, нередко усиливая ее. Синтез производных анраниловой кислоты с адамантильным заместителем, как высокоэффективных соединений, обладающих биологической активностью и с низкой токсичностью, является основой для пополнения арсенала лекарственных средств.

Коллективом кафедры Пермской фармацевтической академии проводятся систематические исследования в области синтеза, изучения биологической активности производных анраниловой кислоты и изучения связи структуры с биологической активностью.

Цель исследования. Целью исследования является разработка методик синтеза новых соединений в рядах производных N-ацил-галоген (H)анраниловых кислот, амидов, гидразидов и 3,1-бензоксазин-4-онов, изучение физико-химических свойств и оценка зависимости между строением и биологической активностью полученных соединений.

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

1. осуществить синтез производных N-ацилгалоген(H)анраниловых кислот амидов, гидразидов, 3,1-бензоксазин-4-онов.
2. изучить структуру и физико-химические свойства полученных соединений.
3. провести качественный анализ зависимости фармакологического действия полученных соединений от структуры и выявить наиболее перспективные для дальнейшего внедрения в медицинскую практику.

Научная новизна исследования. Разработаны методики синтеза ранее неизвестных N-ацилгалоген(H)анраниловых кислот, амидов, гидразидов, 3,1-бензоксазин-4-онов. Получено 122 соединения, из которых 76 являются новыми. Структура синтезированных веществ установлена на основании ИК - и ЯМР ¹H-спектроскопии.

Фармакологическому скринингу подвергнуто 64 вещества. Выявлено, что адамантиламид N-фураноил-5-йоданраниловой кислоты обладает выраженным гипогликемическим действием и относится к классу

практически нетоксичных веществ. На это соединение получено положительное решение на патент. Проведен анализ результатов исследования биологической активности синтезированных соединений в сравнении с лекарственными препаратами и установлены закономерности зависимости биологической активности от характера заместителей и структурных особенностей молекулы для целенаправленного синтеза высокоэффективных веществ.

Практическая значимость работы.

В процессе работы синтезировано 76 соединений, не описанных ранее в литературе.

Экспериментально проведены исследования на инсектицидную активность – 3 соединения, антимикробную – 52, противогрибковую – 4 и гипогликемическую – 5. Исследована качественная зависимость биологического действия от структуры.

По результатам научных исследований был оформлен акт внедрения от 7.02.2014 г. в ГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет» на адамантиламиды N-фураноил(бутаноил)-5-йодантраниловой кислоты, которые рекомендуются для углубленного исследования в качестве гипогликемических средств

Апробация работы и публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 10 научных работ, из них 4 статьи входят в список ВАК и получено одно положительное решение на патент.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований Пермской государственной фармацевтической академии (номер государственной регистрации 01.9.50.007417.). Тема утверждена на заседании Ученого совета Пермской государственной фармацевтической академии, протокол № 3 от 27 ноября 2008 года.

Личное участие автора в получении научных результатов. Изучены и обобщены данные отечественной и зарубежной литературы по методам получения и биологической активности производных антраниловой кислоты, полученных на ее основе гетероциклических систем.

Разработаны методики синтеза полученных 76 ранее неизвестных амидов, гидразидов N-ацилгалоген(Н)антраниловых кислот и 3,1-бензоксазин-4-онов, исследованы физико-химические свойства данных веществ. Структура соединений подтверждена данными ИК - и ЯМР ¹H-спектроскопии. На основе данных биологических испытаний полученных соединений, проведен анализ качественной зависимости структура – активность, позволяющей осуществлять синтез биологически активных веществ в исследуемых рядах. Установлено, что наиболее целесообразно проводить поиск новых веществ с противомикробным и противогрибковым действием в рядах адамантиламидов-N-ацил- и арил(алкил)амидов-N-адамантоил-N-замещенныхгалоген(Н)антраниловых кислот. Результаты проведенных исследований опубликованы в тезисах и

научных статьях, в том числе патенте и в журналах, рекомендованных списком ВАК.

Объем и структура диссертации. Работа состоит из введения, трех глав, выводов, списка литературы, включающего 137 наименования отечественных и зарубежных авторов; содержит 16 таблиц. Объем диссертации составляет 119 страниц машинописного текста.

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 специальности – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

На защиту выносятся:

1. Синтез N-ацилгалоген(Н)антраниловых кислот, амидов и гидразидов, гидразонов, 3,1-бензоксазин-4-онов, арил(алкил)амидов N-замещенных антраниловых кислот.
2. Физико-химические свойства и доказательство структуры полученных соединений на основе спектральных данных.
3. Анализ качественной зависимости структура–активность полученных соединений на основе биологических исследований гипогликемической, противомикробной, инсектицидной, антигельминтной и противогрибковой активностей и острой токсичности.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Производные антраниловой кислоты являются природными соединениями, что обуславливает их низкую токсичность и широкий спектр фармакологического действия. Поэтому синтез и поиск биологически активных соединений среди них является перспективным.

Глава 1. Синтез и биологическая активность N-ацилгалоген (Н)антраниловых кислот, амидов, гидразидов и 3,1-бензоксазин-4-онов с адамантильным заместителем.

В главе приводится обзор литературы по синтезу, свойствам и биологической активности в рядах производных N-ацилгалоген(Н)антраниловых кислот, амидов, гидразидов и 3,1-бензоксазин-4-онов с адамантильным заместителем.

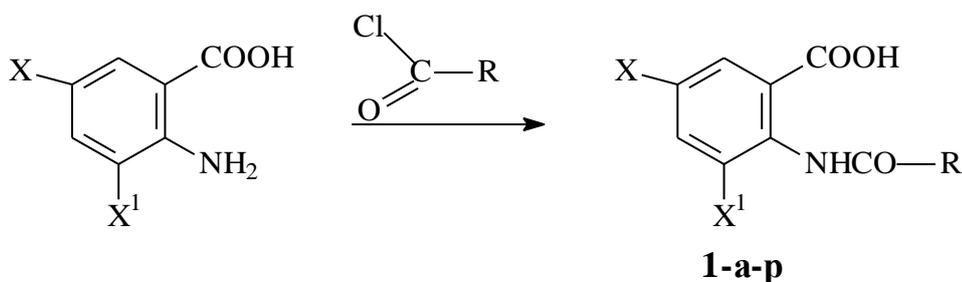
Глава 2. Синтез N-ацилгалоген(Н)антраниловых кислот, амидов, гидразидов и 3,1-бензоксазин-4-онов с адамантильным заместителем.

В главе представлены собственные исследования по методам синтеза и изучению свойств N-ацил-галоген(Н)антраниловых кислот, амидов, гидразидов и 3,1-бензоксазин-4-онов с адамантильным заместителем.

2.1. Получение N-ацилгалоген(Н)антраниловых кислот

В качестве исходных соединений для синтеза были использованы: 5-бромантраниловая, 3,5-дихлорантраниловая и 5-йодантраниловая кислоты, реакцией ацилирования которых хлорангидридами соответствующих кислот (схема 1) были получены N-ацильные производные **1а-р**. Реакцию проводили в бензоле при нагревании до 80°C в течение 1ч:

Схема 1



$X=X^1=Cl$ R=CH₂C₆H₅ (**1а**); R=CH₂CH₂CH₃ (**1б**); R=фурил (**1в**);

R= (CH₂)₃Cl(**1г**); R= C₆H₅(**1д**); R=Ad (**1е**).

$X=Br$; $X^1=H$ R=4-NO₂ C₆H₅(**1ж**); R=CONHCH₂CHCH₂(**1з**); R= Ad (**1и**).

$X=X^1=H$ R= Ad (**1к**).

$X=I$; $X^1=H$ R=3-NO₂C₆H₅ (**1л**); R= C₆H₅ (**1м**); R= CH₂CH₂CH₃ (**1н**); R= CH₂C₆H₅ (**1о**); R=4-CH₃C₆H₅ (**1п**); R=фурил (**1р**)

Это кристаллические вещества белого или желтого цвета, нерастворимые в воде, растворимые в органических растворителях, таких как ацетон, ДМСО, ДМФА.

Общими фрагментами структуры соединений **1а-р** являются бензольное кольцо, амидная и карбоксильная группы.

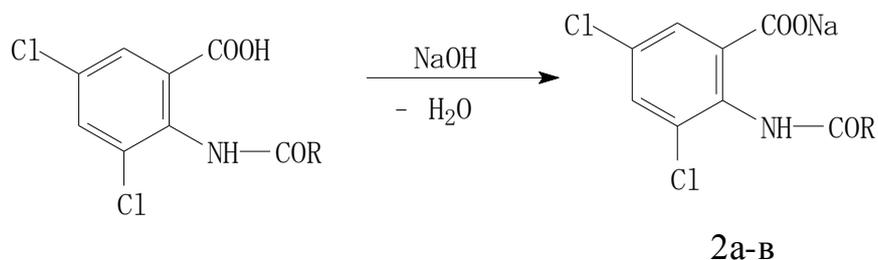
В ЯМР ¹H-спектрах, записанных в ДМСО-d₆, протоны ароматического кольца обнаруживаются в виде мультиплета в интервале 7,10-7,99 м.д. Сигнал протона амидной группы присутствует в слабом поле в виде синглета в области 9,09-10,05 м.д.

В ИК-спектре соединения **1а**, наблюдается полоса поглощения карбонила карбоксильной группы при 1696 см⁻¹. При 1576 см⁻¹ прописан карбонил, а 3368 прописывается вторичная аминогруппа ацильного фрагмента.

2.2. Синтез и свойства натриевых солей N-ацил-3,5-дихлорантраниловых кислот

При взаимодействии кислот с 10% спиртовым раствором NaOH при перемешивании в среде этанола в течение 1 часа были получены натриевые соли N-ацильных производных 3,5-дихлорантраниловых кислот.

Схема 2.



R= C₆H₄CH₂ (2а); CH₂CH₂CH₃ (2б); фурил (2в)

Синтезированные соединения представляют собой кристаллические вещества, белого или белого с желтоватым оттенком, кремового цвета, растворимые в воде, ацетоне, ДМСО, ДМФА, нерастворимые в этаноле.

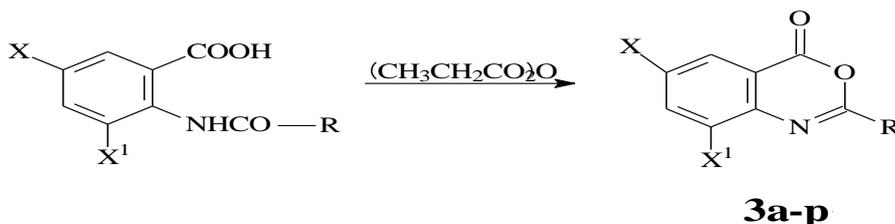
Общими фрагментами данных соединений являются бензольное кольцо и амидная группа. Структура полученных соединений подтверждена данными ЯМР ¹H спектрами.

В ЯМР ¹H-спектрах (ДМСО-d₆) соединений протоны ароматических колец обнаруживаются в виде мультиплета в интервале 6,52-7,78 м.д., а протон амидной группы в виде синглета в интервале 9,65-14,82.

2.3. 3,1-бензоксазин-4-оны их синтез и свойства.

В результате реакции внутримолекулярной циклизации N-фенилацетил-3,5-дихлорантраниловой кислоты (1а) в среде пропионового ангидрида при 80°C в течение 1 ч был получен 2-(бензил)-3,5-дихлор-3,1-бензоксазин-4-он (3а). Аналогично получены (3б-р).

Схема 3



X=X¹=Cl R=CH₂C₆H₅ (**3а**); R= Ad (**3б**); R=C₆H₅ (**3в**); R=CH₂CH₂CH₃ (**3г**); R=(CH₂)₃Cl (**3д**); R= фурил (**3е**).

X=Br; X¹=H R=4-NO₂ C₆H₅ (**3ж**); R=CONHCH₂CHCH₂ (**3з**); R= Ad (**3и**)

X=X¹=H R= Ad (**3к**).

X=I; X¹=H R=3-NO₂C₆H₅ (**3л**); R= C₆H₅ (**3м**); R= CH₂CH₂CH₃ (**3н**);

R=CH₂C₆H₅ (**3о**); R=4-CH₃C₆H₅ (**3п**); R=фурил (**3р**).

Соединения **3ж**, **3л-р**, являются известными в литературе, которые использованы для синтеза веществ с адамантильным заместителем. Это кристаллические вещества желтого, белого или белого с розоватым оттенком цвета, нерастворимые в воде, растворимые в ДМСО, ДМФА, этаноле.

Общими фрагментами данных соединений являются бензольное кольцо и лактонная группа.

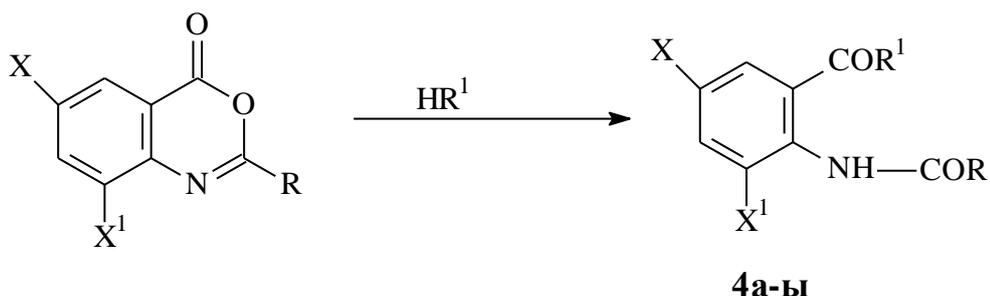
В ИК-спектрах соединения **3a** наблюдается полоса поглощения карбонила лактонной группы при 1772 см^{-1} .

В ЯМР ^1H -спектрах (ДМСО- d_6) синтезированных соединений ароматические протоны бензоксазинового цикла и заместителей во 2 положении, обнаруживаются в виде мультиплета в интервале 7,18-7,87 м.д.

2.4. Получение амидов *N*-ацил-моно(ди)галоген(Н)антранилиновых кислот и их свойства.

Дециклизацией 2-арил(алкил)-3,1-бензоксазин-4-онов различными аминами в среде 95%-ного этанола в присутствии триэтиламина при температуре 18-20°C были получены амиды *N*-ацил-моно-(ди)галогенантранилиновых кислот [4а-ы]:

Схема 4



$\text{X}=\text{X}^1=\text{Cl}$ $\text{R}=\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$; $\text{R}^1=\text{NHAd}$ (**4а**); $\text{R}^1=\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ (**4б**);

$\text{R}^1=\text{NH C}_2\text{H}_5$ (**4в**); $\text{R}^1=\text{морфолил}$ (**4г**); $\text{R}^1=\text{N}(\text{CH}_3)_2$ (**4д**); $\text{R}^1=\text{NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ (**4е**);

$\text{R}^1=\text{NH}(\text{CH}_2)_2$ $\text{R}=\text{Ad}$; $\text{R}^1=\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ (**4з**); $(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ (**4и**); $\text{R}^1=\text{морфолил}$ (**4к**); $\text{R}^1=\text{NHC}_2\text{H}_5$ (**4л**); $\text{R}^1=\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (**4м**); $\text{R}^1=\text{NHCH}_3$ (**4н**);

$\text{X}=\text{Br}$; $\text{X}^1=\text{H}$ $\text{R}^1=\text{NHAd}$; $\text{R}=\text{4-NO}_2\text{ C}_6\text{H}_5$ (**4о**); $\text{R}=\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ (**4п**);

$\text{X}=\text{I}$; $\text{X}^1=\text{H}$ $\text{R}^1=\text{NHAd}$; $\text{R}=\text{3-NO}_2\text{ C}_6\text{H}_5$ (**4р**); $\text{R}=\text{C}_6\text{H}_5$ (**4с**); $\text{R}=\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ (**4т**);

$\text{R}=\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ (**4у**); $\text{R}=\text{4-CH}_3\text{C}_6\text{H}_5$ (**4ф**); $\text{R}=\text{фурил}$ (**4ч**).

$\text{X}=\text{X}^1=\text{Cl}$ $\text{R}^1=\text{NHAd}$; $\text{R}=\text{C}_6\text{H}_5$ (**4ш**); $\text{R}=\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ (**4э**); $\text{R}=\text{фурил}$ (**4ю**).

$\text{X}=\text{X}^1=\text{H}$ $\text{R}=\text{NHAd}$; $\text{R}^1=\text{пиридил}$ (**4я**); $\text{R}^1=\text{NHC}_4\text{H}_9$ (**4й**);

$\text{R}^1=\text{NHCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ (**4х**); $\text{R}^1=\text{NHCH}-(\text{CH}_3)_2$ (**4ц**); $\text{R}^1=\text{NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ (**4щ**).

$\text{X}=\text{Br}$; $\text{X}^1=\text{H}$ $\text{R}=\text{NHAd}$; $\text{R}^1=\text{NHCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ (**4ы**).

Полученные соединения являются кристаллическими веществами белого, белого с желтоватым оттенком или желтого цвета, нерастворимыми в воде, растворимыми в ДМСО, ДМФА.

Бензольное кольцо, амидная группа и NH-ацильный фрагмент являются общими элементами структуры синтезированных амидов. В ИК-спектрах соединений **4а, г, л, м** наблюдаются полосы поглощения вторичных амино- ($3304\text{-}3240\text{ см}^{-1}$) и карбонильных групп ($1704\text{-}1620\text{ см}^{-1}$) амидного фрагмента.

В ЯМР ^1H -спектрах (ДМСО- d_6) полученных амидов протоны ароматических колец обнаруживаются в виде мультиплета в интервале 6,61-8,28 м.д., протон амидной группы в виде синглета 8,04-9,94, а NH ацильного фрагмента в области 9,05-11,72 м.д.

Введение в структуру молекулы электроноакцепторной нитрогруппы арильного фрагмента приводит к тому, что химический сдвиг протона

наблюдается в более слабом поле, а именно, в области 15,79 и 15,24 м.д. у соединений 4о и 4р соответственно.

2.5. Синтез и свойства ариламинов N-адамантил-N-замещенных антраниловых кислот

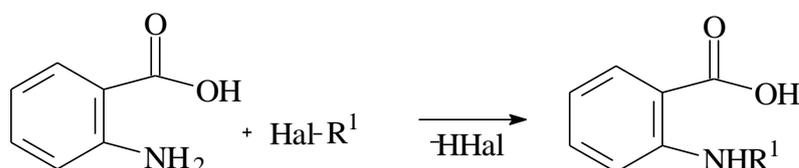
В обзоре литературы показано, что в ряду ариламинов N-ацил-N-замещенных антраниловых кислот, в частности, 4-броманилид N-адамантил-N-аллилантраниловой кислоты, проявляет высокую противовоспалительную и анальгетическую активности в сочетании с низкой токсичностью.

С целью поиска новых биологически активных соединений содержащих адамантильный заместитель в ряду использован димагнезиламинный способ. Впервые димагнезиламинный метод для синтеза ариламинов был предложен профессорами П.А. Петюниным и Ю.В. Кожевниковым, который значительно увеличивал выход конечных продуктов.

Известные в литературе ариламиды N-алкил (бензил, аллил) антраниловых кислот и 3,5-дихлорантраниловой кислоты были использованы для синтеза ариламинов N-адамантил-N-замещенных антраниловых кислот и 3,5-дихлорантраниловой кислоты.

Путем алкилирования антранилата калия алкил (алкенил) галогенидами получены соответствующие N-замещенные антраниловые кислоты:

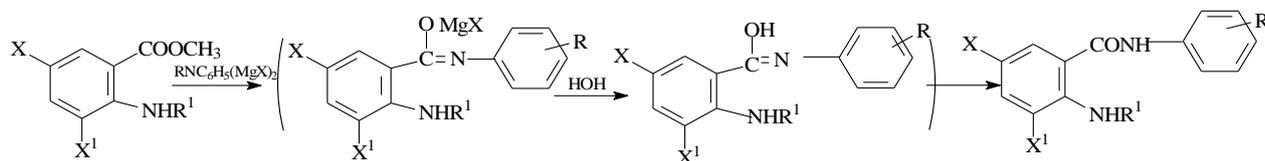
Схема 5.



R=CH₃ (5а); C₂H₅ (5б); CH₂CH=CH₂ (5в); CH₂C₆H₅ (5г).

Путем этерификации N-замещенных антраниловых кислот и 3,5-дихлорантраниловой кислоты осуществлен синтез соответствующих метиловых эфиров, из которых димагнезиламинным способом получены ариламиды **5 д-ч**

Схема 6



5 д-ч

R¹=H: X=X¹=H: R=4-Cl(5д); R=2-Cl(5ж).

X=X¹=Cl: R= 4-OC₂H₅(5з).

R¹=CH₃: X=X=H: R=4-OCH₃(5и); R=3Br(5к); R=4-CH₃(5л);

R=2-Cl(5м); R=H(5н); R=2-OCH₃(5о); R=2Br (5п).

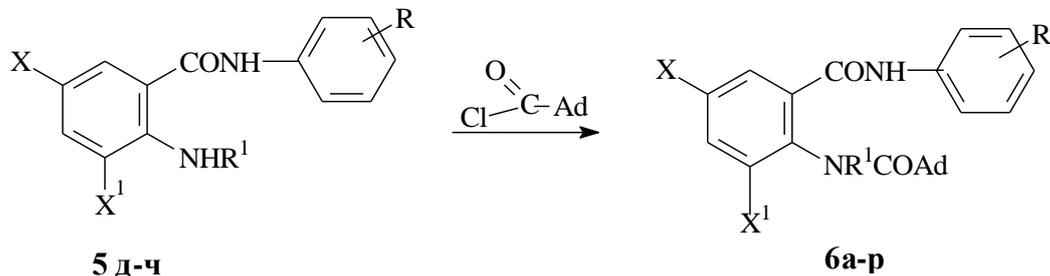
R¹=CH₂CH₃: X=X=H: R=3-Cl(5р).

R¹=CH₂C₆H₄: X=X=H: R=4-CH₃ (5с); R=4-Br (5т)

R¹=CH₂CHCH₂: X=X=H: R=2-CH₃(5у); R=H(5ф); R=2-пиридил (5ч)

Путем ацилирования ариламидами 3,5-дихлорантраниловой кислоты и N-замещенных антраниловых кислот в среде бензола хлорангидридом адамантанкарбоновой кислоты при нагревании в течение одного часа, были получены ариламиды N-адамантоил-3,5-дихлорантраниловой кислоты N-адамантоил-N-замещенных антраниловых кислот по следующей схеме:

Схема 7.



$\text{R}^1=\text{H}$; $\text{X}=\text{X}^1=\text{H}$: $\text{R}=4\text{-Cl}$ (**6а**); $\text{R}=2\text{-Cl}$ (**6б**).

$\text{X}=\text{X}^1=\text{Cl}$: $\text{R}=4\text{-OC}_2\text{H}_5$ (**6в**).

$\text{R}^1=\text{CH}_3$; $\text{X}=\text{X}^1=\text{H}$: $\text{R}=4\text{-OCH}_3$ (**6г**); $\text{R}=3\text{Br}$ (**6д**); $\text{R}=4\text{-CH}_3$ (**6е**); $\text{R}=2\text{-Cl}$ (**6ж**);

$\text{R}=\text{H}$ (**6з**); $\text{R}=2\text{-OCH}_3$ (**6и**); $\text{R}=2\text{Br}$ (**6к**).

$\text{R}^1=\text{CH}_2\text{CH}_3$; $\text{X}=\text{X}^1=\text{H}$: $\text{R}=3\text{-Cl}$ (**6л**).

$\text{R}^1=\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4$; $\text{X}=\text{X}^1=\text{H}$: $\text{R}=4\text{-CH}_3$ (**6м**); $\text{R}=4\text{-Br}$ (**6н**)

$\text{R}^1=\text{CH}_2\text{CHCH}_2$; $\text{X}=\text{X}^1=\text{H}$: $\text{R}=2\text{-CH}_3$ (**6о**); $\text{R}=\text{H}$ (**6п**); $\text{R}=2\text{-пиридил}$ (**6р**).

Ариламиды N-адамантоил-3,5-дихлорантраниловой кислоты и N-адамантоил-N-замещенных антраниловых кислот представляют собой белые кристаллические вещества растворимые в ацетоне, ДМФА и ДМСО, этаноле и нерастворимые в воде.

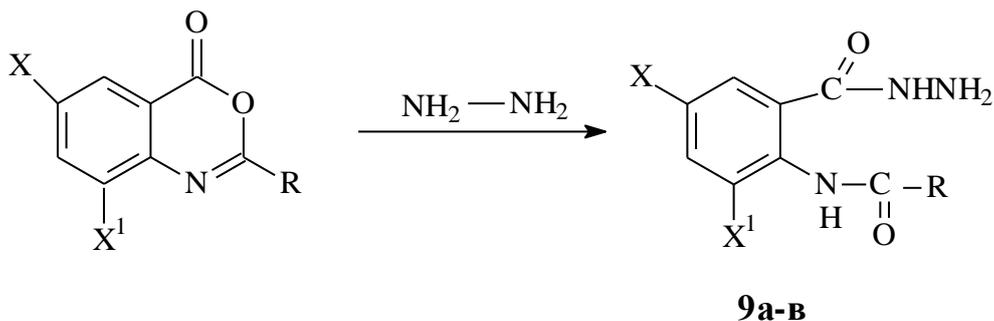
Ароматическое кольцо, адамантильный остаток и амидная группа являются общими фрагментами полученных веществ.

В ИК-спектрах соединений **6а**, **6д**, **6н** в ариламидном фрагменте полоса поглощения вторичной аминогруппы наблюдается при $3272\text{-}3296\text{ см}^{-1}$, а карбонила – $1700\text{-}1648\text{ см}^{-1}$ амидного фрагмента.

В ЯМР ^1H -спектрах (ДМСО- d_6) сигнал протонов адамантилового фрагмента прописывается в виде дуплета или мультиплета 1,22- 2,02 м.д., протоны ароматического кольца обнаруживаются в виде мультиплета в интервале 6,52-8,26 м.д., синглет протона амидной группы присутствует в области 9,28-10,39 м.д., а сигнал протона NH-ацильного фрагмента соединений **6а-6в** в интервале – 9,76 - 11,10 м.д.

2.6. Синтез и свойства гидразидов N-ацилгалоген(N)антраниловых кислот

При взаимодействии 3,1-бензоксазин-4-онов с гидразин гидратом в среде 95%-ного этанола при температуре $18\text{-}20^\circ\text{C}$ при постоянном перемешивании в течение 1 ч получены гидразиды N-адамантоилгалоген(N)антраниловых кислот **9а – в**.



$X=Br$ $X^1=H$ $R=Ad$ (**9а**); $X=X^1=Cl$ $R=Ad$ (**9б**),

$X=X^1=H$ $R=Ad$ (**9в**).

Это белые кристаллические вещества растворимые в ДМФА, ДМСО и диоксане, нерастворимые в воде, этаноле.

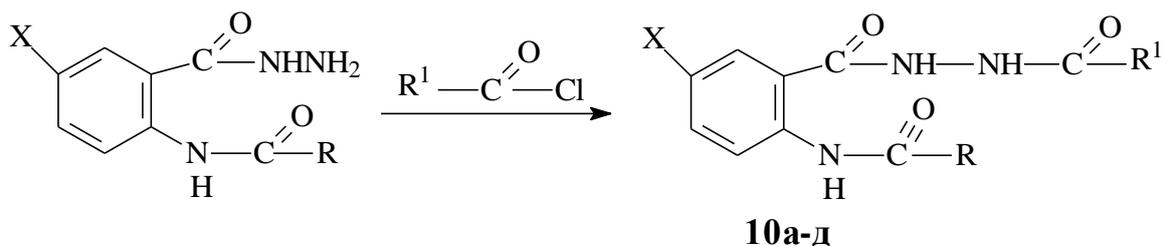
Общими фрагментами полученных соединений являются ароматическое кольцо, амидная и гидразидная группы.

В ИК-спектре соединения **9б** первичная аминогруппа подтверждается присутствием характерной полосы поглощения при 3880 см^{-1} , вторичные аминогруппы N-ацильного и гидразидного фрагментов наблюдаются при 3449 и 3320 см^{-1} , а карбонилы этих же групп – 1680 и 1600 см^{-1} .

В ЯМР ^1H -спектрах соединений **9б**, **9в**, записанных в ДМСО- d_6 , мультиплет адамантильного остатка наблюдается в интервале 1,65-2,07 м.д. Уширенный сигнал протонов NH_2 -группы гидразидного фрагмента обнаруживаются в интервале 6,40-6,77 м.д. Протоны ароматического кольца и протоны CONH гидразидной группы и NH -ацильного фрагмента прописываются в виде мультиплета в интервале 7,29-7,66 м.д.

2.7. Получение N-ацилгидразидов-N-ацил-5-бром(Н)антраниловых кислот

Ацилированием гидразидов N-ацил-5-галогенантраниловых кислот различными хлорангидридами кислот в бензоле при нагревании до 80°C в течение 1 ч были получены N-ацилгидразиды N-ацил-5-бром(Н)-галогенантраниловых кислот (**10а-д**):



$X=Br$: $R=Ad$: $R^1=фурил$ (**10а**), $R^1=4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ (**10б**); $R^1=C_6\text{H}_5$ (**10в**), $R^1=4\text{-NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (**10г**).

$X=H$: $R=CH(\text{CH}_3)_2$, $R^1=Ad$ (**10д**).

Синтезированные соединения – белые кристаллические вещества растворимые в ДМФА, ДМСО и диоксане, нерастворимые в воде, этаноле.

Общими фрагментами полученных соединений являются ароматическое кольцо, амидная и гидразидная группы.

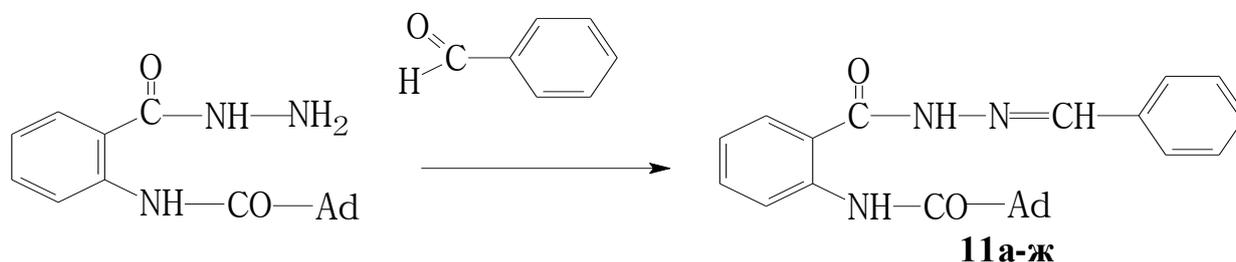
В ИК - спектрах соединений **10в**, **10г** полосы поглощения трех вторичных аминогрупп NH-ацильного и N- ацилгидразидного фрагментов наблюдаются при $3240-3376\text{ см}^{-1}$, а карбонилы этих же групп в интервале $1708-1576\text{ см}^{-1}$.

В ЯМР ^1H -спектрах (ДМСО- d_6) протоны ароматического кольца обнаруживаются в виде мультиплета в интервале 6,60-8,53 м.д. Сигнал протона амидной группы гидразидного фрагмента присутствует в виде синглета в области 10,47-10,56 м.д., протоны ацильного фрагмента гидразидной группы в интервале 10,76-10,99 м.д., а протон N-ацильного фрагмента антраниловой кислоты в более слабом поле при 10,23-11,30 м.д.

2.8. R-Бензилиденгидразиды N-адамантоилантраниловой кислоты их синтез и свойства.

Для синтеза бензилиденгидразидов N-адамантоилантраниловой кислоты проводили реакцию конденсации гидразида N-адамантоилантраниловой кислоты с бензальдегидом.

Схема 11



R=3-(2-OH-3-NO₂) фенил (**11а**); R=H (**11б**); R=4-NO₂ (**11в**);
R=4-CH₃ (**11г**); R=4-I (**11д**); R=2-NO₂ (**11е**); R=4-(C₂H₅)₂N (**11ж**).

Это белые, с желтоватым оттенком кристаллические вещества растворимые в ацетоне, ДМФА и ДМСО, не растворимые в воде, этаноле.

В ИК - спектрах соединений **11а, г** полоса поглощения вторичных аминогрупп бензилиденгидразидного и NH-адамантоильного фрагментов присутствует в области $3666-3272\text{ см}^{-1}$, а карбонилы этих же групп – $1712-1600\text{ см}^{-1}$ и протоны азометиновой группы N=CH в $1460-1464$ м.д.

В ЯМР ^1H -спектрах соединений **11а-ж**, записанных в ДМСО- d_6 , дублет протонов адантильного остатка наблюдаются в интервале 1,22-2,08 м.д. Протоны ароматических колец обнаруживаются в виде мультиплетов в интервале 6,72-8,44 м.д. Протон амидной группы гидразонного фрагмента прописываются в виде синглета в интервале 8,86 - 11,46 м.д., а протон N-ацильного фрагмента в виде синглета - 9,10-12,15 м.д.

Глава 3. Экспериментальная часть.

В главе представлены методики синтеза полученных соединений.

Глава 4. Биологическая активность производных.

Глава включает результаты биологических исследований синтезированных соединений и изучение связи структуры с фармакологическим действием.

4.1. Инсектицидная активность. Противокомарийная активность изучалась на личинках комаров Chironomidae. Результаты исследования представлены в таблице 1.

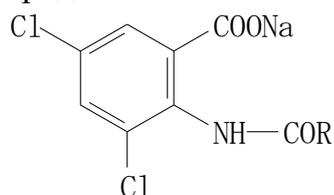


Таблица 1

Инсектицидная активность натриевых солей N-ацил-3,5-дихлорантраниловых кислот.

Соединение	R	Продолжительность жизни личинок, мин
Имидаклоприд		43,5±3,39
Диазинон		17,0±1,87
Пиримифос		24,5±1,69
2а	фурил	> 120
2б	C ₆ H ₄ CH ₂	> 120
2в	CH ₂ CH ₂ CH ₃	> 120

Исследуемые вещества оказались практически неактивными.

4.2. Противомикробное действие исследовано у 52 новых соединений. Определение проводили методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде в отношении фармакопейных штаммов: *Staphylococcus aureus* ATTC 6538-P, *Escherichia coli* ATSS 25922. Бактериостатический эффект исследуемых соединений сравнивали с действием диоксидина.

Противомикробное действие некоторых исследованных соединений представлено в табл. 2.

Таблица 2.

Противомикробная активность производных антраниловых кислот.

Ряд соединений	Соединение	Противомикробная активность, МПК, мкг/мл	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Адамантиламид <i>N</i> -бензоил-3,5-дихлорантраниловая кислота	4ц	125	125
3-бромфениламид <i>N</i> -адамантоил- <i>N</i> -метилантраниловая кислота	8б	250	250
4-метилфениламид <i>N</i> -адамантоил- <i>N</i> -бензилантраниловая кислота.	8и	250	500
4-бромфениламид <i>N</i> -адамантоил- <i>N</i> -бензилантраниловая кислота.	8к	250	500
Гидразид <i>N</i> -адамантоил-3,5-дихлорантраниловая кислота	9в	250	250
2-нитрофенил-бензилиденгидразид адамантоил антраниловая кислота	11е	500	500
<i>Диоксидин</i>		62,5-1000	3,9-62,5

Установлено, что наиболее целесообразно проводить синтез веществ с данным видом активности в рядах ариламинов и гидразидов N-замещенных-3,5-галоген (H)антралиловых кислот.

4.3. Противогрибковая активность

Противогрибковую активность определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде. Для всех испытуемых соединений были определены МПК в отношении фармакопейного штамма: *S.albicans*. В качестве эталона сравнения использовали флуконазол. Результаты исследования представлены в таблице 3.

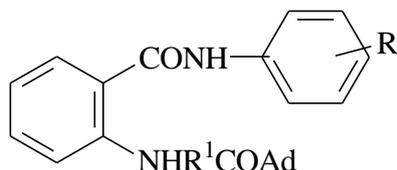


Таблица 3

Противогрибковая активность ариламинов N-адамантоил-N-замещенных антралиловых кислот

Соединение	R ¹	R	Противогрибковая активность, МПК, мкг/мл
			<i>S.albicans</i> мкг/мл
6б	H	4-ClC ₆ H ₄	125
6д	CH ₃	3-BrC ₆ H ₄	н/а
6л	C ₂ H ₅	3-ClC ₆ H ₄	250
6м	CH ₂ C ₆ H ₅	4-CH ₃ C ₆ H ₄	500
Флуконазол			Менее 8-32

Исследования показали, что три соединения проявили активность в отношении грибка *S.albicans*. Наиболее активными оказались соединения **6б** и **6л**, которые в арильном фрагменте содержат атом хлора. При этом при перемещении хлора из 3-го положения (**6л**) в 4-е противогрибковое действие увеличилось в 2 раза (**6б**) и составило 125 мкг/мл.

4.4. Гипогликемическая активность и острая токсичность

исследована у 6 соединений. Изучаемые соединения инъекцировали внутривенно в скрининговой дозе 25 мг/кг. Уровень гликемии характеризовали глюкозооксидазным методом до, а также через 3 и 5 часов после введения апробируемого соединения, а в контроле – одного растворителя. Содержание глюкозы в крови определяли на приборе Stat Fax 4500. В качестве препаратов сравнения использовали пероральные гипо-гликемические средства: карбутамид («Букарбан», Chinoïn) и гликлазид («Диабетон», Servier).

При оценке специфической активности изучаемых соединений, помимо достоверности отличий по сравнению с контролем, учитывалась стабильность их гипогликемического действия. Вещества с наиболее выраженным эффектом обеспечивали его сохранение на протяжении всего 5-часового периода наблюдения, соединения с умеренным действием – только в одной временной точке. Результаты испытаний наиболее активных веществ приведены в табл. 4.

Таблица 4

Гипогликемическая активность адамантиламидов N-ацил-5-
бром(йод)антраниловых кислот

Соединение	Уровень гликемии, ммоль/л			Изменение гликемии, %	
	исх.	3ч	5ч	3ч	5ч
4p	3,1±0,13	3,0±0,21	2,9±0,32	+8,3±6,92	-8,3±5,67
4o	3,6±0,18	3,9±0,32	3,3±0,15	-3,2±8,92	-6,5±12,3
4c	3,8±0,34	4,0±0,69	3,9±0,24	+5,3±16,8	+2,6±10,3
4т	3,7±0,32	2,7±0,26	2,9±0,34	- 27,0 ± 4,3*	- 21,6 ± 7,2*
4x	4,7±0,32	3,8±0,21	3,7±0,23	-19,1±4,18*	-21,3±4,42*
Контроль	3,65±0,06	3,41±0,10	3,49±0,07	-6,5±1,3	-4,4±2,0
4y	4,7±0,08	4,1±0,13	4,3±0,16	-12,0±6,16	-5,3±5,02
Контроль	4,73±0,14	4,44±0,18	4,27±0,19	-6,1±1,1	-9,7±2,2
Карбутамид	4,01±0,13	3,16±0,13	3,13±0,14	-21,2±2,0*	-21,9±2,8**
Гликлазид	5,36±0,23	3,38±0,14	3,65±0,25	-28,5±5,6**	-31,9±6,4**

Достоверность $p \leq 0,05$ – *, $p \leq 0,01$ – **, $p \leq 0,001$ – ***.

Гликлазид вызывает снижение уровня гликемии на 32,5% через 3 часа и на 14,0% спустя 5 часов опыта. Близкая к эталону сравнения активность отмечена у соединения **4т**, **4x**.

Токсичность определена на мышах при в/б введении. Соединения **4т**, **4x** относятся к пятому классу практически нетоксичных веществ по классификации К.К. Сидорова, тогда как препараты сравнения метформин и гликлазид – к 4 классу малотоксичных соединений.

Таким образом, по величине ЛД₅₀ (расчет величины ДЛ₅₀ проводили по методу Литчфилда и Уилкоксона в конце 14-суточного опыта), соединение **4т** в 2,8 и 3 раза безопаснее гликлазида и метформина соответственно. (табл.4).

Таблица 4

Острая токсичность соединения **4т**, **х** и эталонов сравнения

Серия опытов	n	ЛД ₅₀ , мг/кг
		мышь, в/б
4т	15	1155 (845÷1570)
4x		890(754÷ 1050)
Метформин	15	390 (275÷550)
Гликлазид	15	410 (295÷575)

Примечание: n – количество животных.

Таким образом, соединение **4т**, **х** в опытах на интактных мышах проявляет, в отличие от бигуанидов, гипогликемический эффект, выраженность которого аналогична производному сульфонилмочевины гликлазиду и практически нетоксичны, а в 2,8 и 2,2 соответственно безопаснее гликлазида. По результатам биологических исследований на гипогликемическую активность на соединение **4x** (адамантиламид N-фураноил-5-йодантраниловой кислоты) получено положительное решение на патент, а на соединение **4т** (адамантиламид N-бутаноил-5-йодантраниловой кислоты) подана заявка на патент.

Выводы:

1. Используя препаративные методики, было получено 76 соединений, не описанных ранее в литературе:
 - а) путем ацилирования N-ацилгалоген (H)антраниловых кислот, гидразидов N-ацил-5-бром (H)антраниловых кислот, N-замещенных арил(алкил)амидов различными хлорангидридами кислот получены соответствующие ацильные производные;
 - б) рециклизацией 2-замещенных-3,1-бензоксазин-4-онов различными аминами синтезированы амиды N-ацилгалоген (H)антраниловых кислот;
 - в) в результате внутримолекулярной циклизации N-ацил-галоген (H)антраниловых кислот получены 2-замещенные 6(6,8)-моно(ди)-галоген (H)-3,1-бензоксазин-4-оны;
 - г) рециклизацией 2-замещенных 6(6,8)-моно(ди)галоген (H)-3,1-бензоксазин-4-онов гидразингидратом осуществлен синтез гидразидов N-ацил-галоген (H)антраниловых кислот;
 - д) конденсацией гидразидов с бензальдегидами с образованием гидразонов.
 Структура полученных соединений подтверждена данными ИК -, ЯМР ¹H-спектроскопией.
2. Для поиска соединений с гипогликемическим действием наиболее перспективными классом являются адамантиламиды-N-ацил-галоген (H)антраниловых кислот.
3. Установлено, что наиболее целесообразно проводить синтез новых веществ с противомикробным и противогрибковым действием в рядах адамантиламидов-N-ацил- и арил(алкил)амидов N-адамантоил-N-замещенных антраниловых кислот.
4. Выраженную гипогликемическую активность проявили адамантиламид-N-фууроил-5-йодантраниловой кислоты и адамантиламид N-бутаноил-5-йодантраниловой кислоты. Определение острой токсичности соединений показало, что они являются практически нетоксичными по классификации Сидорова К.К.

Основное содержание диссертации изложено в работах:

1. **Исследование противовоспалительной, анальгетической активности и токсичности синтезированных амидов N-аллилоксамоил-5-бром(H)антраниловой кислоты.** / Е. Р. Курбатов, А. Б. Шакирова, Л. М. Коркодинова, Т. А. Чупина // *Вопросы биол., мед. и фармацевт. химии.* – 2011. – №11. – С. 60–62.
2. Чупина, Т. А. Противомикробная активность вновь полученных замещенных гидразидов N-ацил-5-галогенантраниловых кислот / Т. А. Чупина, Е. Р. Курбатов, Л. М. Коркодинова // *Сборник научных статей и тезисов XII международного конгресса “Здоровье и образование в XXI веке”*: материалы, посвящ. 50-летию РУДН (7–10 дек. 2011 г., Москва). – Москва, 2011. – С. 59.
3. Чупина, Т.А. Синтез и гипогликемическая активность адамантиламидов N-ацил-5-бром(йод)антраниловой кислоты / Т. А. Чупина, Л. М. Коркодинова // *Современные проблемы химической науки и образования*

- : сб. материалов всерос. конф. с междунар. участием, посвящ. 75-летию со дня рождения В. В. Кормачева (19–20 апр. 2012 г., г. Чебоксары) : в 2 т. – Чебоксары, 2012. – Т. 2. – С. 196–197.
4. Чупина, Т. А. Гипогликемическая активность замещенных амидов NH-ароил-5-бром(йод)антраниловых кислот [Электронный ресурс] / Е. Р. Курбатов, Т. А. Чупина Н. А. Власова. // Бюл. мед. интернет-конф. – Режим доступа : www.medconfer.com.
 5. **Чупина, Т. А. Синтез, свойства амидов и противомикробная активность ацилгидразидов N-адамантоил(фураноил-2)-5-бром(йод)антарниловых кислот / Е. Р. Курбатов, Т. А. Чупина, Н. А. Власова // Вестн. Воронеж. гос. ун-та. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2013. – № 2. – С. 45–48.**
 6. Чупина, Т. А. Синтез и исследование на антимикробную активность ариламинов N-адамантоил N-замещенных антраниловых кислот / Т. А. Чупина, Л. М. Коркодинова // Актуальные вопросы медицинской науки: сб. тез. науч. работ студентов и молодых ученых всерос. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию Е. Н. Дормидонтова. – Ярославль. – 2013. – С. 243.
 7. Чупина, Т. А. Синтез, свойства и противомикробная активность адамантиламидов N-ацил-5-бром(йод) антраниловых кислот / Т. А. Чупина, Е. Р. Курбатов // Университетская наука: взгляд в будущее : материалы итоговой науч. конф. сотрудников РАМН и отделения РАЕН, посвящ. 76-летию Курского гос. ун- (2–3 февр. 2011 г.). – Курск, 2011. – Т. 2. – С. 289–291.
 8. Заявка 007/1512 Российская Федерация. Адамантиламид NH-фураноил-5-йодантраниловой кислоты, проявляющий гипогликемическую активность / Чупина Т. А. [и др.] (Россия) ; заявитель Гос. бюджетное образоват. учреждение высш. профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, RU.2012122440/04(034056) ; пат. поверенный Чупина Т.А. – №201222440/04(034056). – Заявл. 30.05.2012. Положительное решение от: 13.01.2014
 9. **Чупина, Т. А. Синтез и исследование на антимикробную и противогрибковую активности ариламинов N-адамантоил-N-замещенных антраниловых кислот / Т. А. Чупина, Л. М. Коркодинова // Вестн. Волгогр. гос. мед. ун-та. – 2014. – С 146. – Материалы V Всерос. науч.-практ. семинара.**
 10. **Гипогликемическая активность N-замещенных амидов антраниловых кислот. / Е. Р. Курбатов [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2014. – Т. 48, № 10. – С. 37–38.**

Чупина Татьяна Анатольевна

Синтез, свойства и биологическая активность производных N-ацил-галоген(Н)атраниловых кислот, амидов, гидразидов и 3,1-бензоксазин-4-онов с адамантильным заместителем.

Разработаны методики синтеза ранее неизвестных N-ацил-галоген (Н)атраниловых кислот, амидов, гидразидов и 3,1-бензоксазин-4-онов. Получено 122 соединения, из которых новыми являются 76. Структура синтезированных веществ установлена на основании ИК - и ЯМР ¹H-спектроскопии.

Фармакологическому скринингу подвергнуто 64 вещества. Выявлено, что адамантиламид N-фураноил-5-йодантраниловой кислоты обладает выраженным гипогликемическим действием и относится к классу практически нетоксичных веществ. На это соединение получено положительное решение на патент. Проведен анализ результатов исследования биологической активности синтезированных соединений в сравнении с лекарственными препаратами и установлены закономерности зависимости биологической активности от характера заместителей и структурных особенностей молекулы для целенаправленного синтеза высокоэффективных веществ.

Chupina Tatiana

Synthesis , properties, and biological activity of derivatives of N-acyl- halo (H) atranilic acid, amides , hydrazides and 3,1 - benzoxazin -4 -ones with an adamantyl substituent.

Techniques of synthesis of anthranilic acids earlier unknown N-atsilhalogen (H) atranilic acid, amides, hydrazides, 3,1-benzoksazin-4-onov are developed. 122 connections from which new are 76 are received. The structure of the synthesized substances is established on the basis of ИК - and a ¹H-spectroscopy nuclear magnetic resonance.

64 substances are subjected to pharmacological screening. It is revealed that adamantilamid N-furanoil-5-yodantranic acids possess the expressed hypoglycemic action and belongs to the class of almost nontoxic substances. On this connection the positive decision on the patent is received. The analysis of results of research of biological activity of the synthesized connections in comparison with medicines is carried out and consistent patterns of dependence of biological activity from character of deputies and structural features of a molecule for purposeful synthesis of highly effective substances are determined.