

На правах рукописи

ПАНТЮХИН АЛЕКСЕЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ

**СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
БИЦИКЛИЧЕСКИХ 1,3-ДИКЕТОНОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ**

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:

Михайловский Александр Георгиевич

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

Официальные оппоненты:

Шевурдов Владимир Петрович

доктор фармацевтических наук, профессор, ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», профессор кафедры органической и фармацевтической химии

Юнникова Лидия Петровна

доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВПО «Пермская государственная сельскохозяйственная академия имени академика Д.Н. Прянишникова», заведующая кафедрой общей химии

Ведущая организация: государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится 17 марта 2015 г. в 12.00 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> 20 ноября 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 темы. 1,3-Дикарбонильные соединения, в частности 1,3-дикетоны, хорошо известны в качестве реагентов в химии гетероциклов. При целенаправленном поиске биологически активных соединений особый интерес представляют структуры, родственные алкалоидам и уже известным лекарственным веществам. Большинство алкалоидов и их синтетических аналогов имеют в своей структуре два и более цикла. Соответственно в качестве исходных реагентов целесообразно использовать циклические дикетоны. Часто важную роль в структуре играет наличие ароматического цикла. Во-первых, ароматический цикл обычно несет в себе определенную биологическую роль. Во-вторых, меняя заместители в ароматическом цикле, можно объяснить связь действия со строением. Присутствие ароматического цикла часто делает молекулу более устойчивой при хранении, что очень немаловажно для потенциального лекарственного препарата.

Для получения исходных циклических дикетонов нами выбрана классическая методика ацилирования енаминов. Начало применения этой реакции было положено 60 лет назад. Однако целенаправленные исследования для биологического скрининга в данной области практически неизвестны.

Существенным также является тот факт, что исходные вещества (циклогексанон, триэтиламин, ароматические кислоты и др.) являются продуктами крупнотоннажного производства химической промышленности, их стоимость в современных условиях рынка минимальна.

Цель работы. Целью данной работы является целенаправленный синтез новых веществ – бициклических 1,3-дикетонов и гетероциклов на их основе, которые могут служить в качестве новых реагентов в органическом синтезе и потенциальных лекарственных средств. На основе синтетической базы будет проведен широкий фармакологический скрининг и установление связи фармакологического действия со строением.

Задачи исследования. Задачами исследования являются: разработка методов синтеза, исследование реакционной способности (реакции ацилирования енаминов, гетероциклизация под действием нуклеофилов и др.), установление структуры и исследование спектральных свойств, фармакологический скрининг, обобщение и анализ полученных результатов.

Научная новизна.

1. На основе реакции ацилирования циклических енаминов предложен метод синтеза 3-арил- и 3-арилметил-4,5,6,7-тетрагидроиндазолов. Обнаружено, что полученные соединения дают устойчивые гидрохлориды, что делает их перспективными для биологического скрининга.
2. Разработан метод синтеза 3-арил-4,5,6,7-тетрагидро-2,1-бензизоксазолов, заключающийся во взаимодействии бициклических 1,3-дикетонов с гидроксиламином. Полученные соединения проявили анальгетическую активность.
3. На примере 2-(2,4-диметилбензоил)-циклогексанона обнаружено превращение под действием о-фенилендиамина при кипячении в уксусной кислоте: образование производного 1,4-добензазепина с последующим ацилированием остатком 2,4-диметилбензойной кислоты.
4. Реакцией бициклических 1,3-дикетонов с ацетатом формамина и карбонатом гуанидина получены соответствующие 4-арил-5,6,7,8-тетрагидрохиназолы.

5. Кипячением 2-арилциклогексанонов с гидрохлоридом этилглицината в среде диметилформамида синтезированы этиловые эфиры 3-арил-4,5,6,7-тетрагидро-2-индолкарбоновой кислоты.

Практическая значимость. Разработаны способы синтеза гетероциклических соединений - производных 1,3-дикетонов: 3-арил-4,5,6,7-тетрагидроиндазолов, 3-арил-2,4,5,6-тетрагидроциклопента[с]пиразолов, 3-(*n*-толил)-4,5,6,7,8,9,10,11,12,13-декагидро-2*H*-циклодо-дека[с]пиразола, 3-арил-4,5,6,7-тетрагидро-2,1-бензизоксазолов, 3-арил-5,6-дигидро-цикло-пента[с] изоксазолов, 3-(4-бромфенил)-4,5,6,7,8,9,10,11, 12,13-декагидроциклододека[с] изоксазола, 2-амино-4-арил-5,6,7,8-тетрагидрохиназолов, 3-арил-5,6,7,8-тетрагидрохиназолинов, этиловых эфиров 3-арил-4,5,6,7-тетрагидро-2-индолкарбоновых кислот. Синтезировано 59 новых соединений. Среди полученных соединений проведен скрининг 46 соединений на анальгетическую, гипогликемическую и противомикробную активности. Для дальнейшего углубленного изучения предложен 3-(1-нафтилметил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид, обладающий противомикробными свойствами.

В результате биологических испытаний запатентованы:

- а. 3-(1-нафтилметил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид, обладающий противомикробными свойствами
- б. 3-(2-бромфенил) и 3-бензил-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлориды обладающие противомикробным действием
- в. 3-(3,4-диметоксифенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид в качестве анальгетического и противомикробного средства.

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

Личное участие автора. Пантюхин А. А. непосредственно участвовал в синтезе органических соединений, 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 научных конференциях в Пермской государственной фармацевтической академии в 2009-2014 годах; на Всероссийской конференции по органической химии г. Москва, ИОХ им. Н.Д. Зелинского, 2009 год; Международной научной конференции «Новые направления в химии гетероциклических соединений» г. Железноводск, 2011 год; Всероссийской научной конференции с международным участием «Успехи синтеза и комплексообразования» г. Москва, 2014 год; Межвузовской ежегодной заочной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы современной медицины», г. Екатеринбург, 2014 год.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 15 работ: из них 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК, 3 патента, 7 тезисов докладов конференций различного уровня.

Объём и структура диссертации. Содержание работы изложено на 117 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов и списка литературы. Список литературы включает 143 работы отечественных и зарубежных авторов. Диссертация содержит 31 таблицу, 39 схем, 11 рисунков.

Глава 1 представляет собой литературный обзор по синтезу, химическим свойствам и биологической активности 1,3-дикетонов и их производных. Во 2 главе приводится обсуждение результатов химических исследований. В 3 главе приведены результаты изучения фармакологической активности полученных соединений. В 4 главе изложена экспериментальная часть исследования.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Циклические 1,3-дикетоны: свойства, получение, применение в синтезе биологически активных гетероциклов

В главе систематизированы литературные данные по методам синтеза и реакционной способности 1,3-дикетонов. Рассмотрены возможности этих соединений в синтезе гетероциклов.

Обсуждены также вопросы биологической активности циклических 1,3-дикетонов и гетероциклических соединений, которые получают, используя 1,3-дикетоны в качестве синтонов.

Глава 2. Синтез бициклических 1,3-дикетонов и их производных

В данной главе представлены методы получения различных бициклических 1,3-дикетонов. Они представляют собой кристаллические или маслянистые вещества от желтого до коричневого цвета. Исследованы превращения этих соединений с бинуклеофильными реагентами. Обсуждается строение и свойства полученных веществ.

2.1. Синтез и свойства бициклических 1,3-дикетонов

Ацилированием циклических енаминов получали бициклические 1,3-дикетоны.

В результате ацилирования соответствующих енаминов и последующего гидролиза были получены 1,3-дикетоны **1 – 12** (схемы 1 - 3).

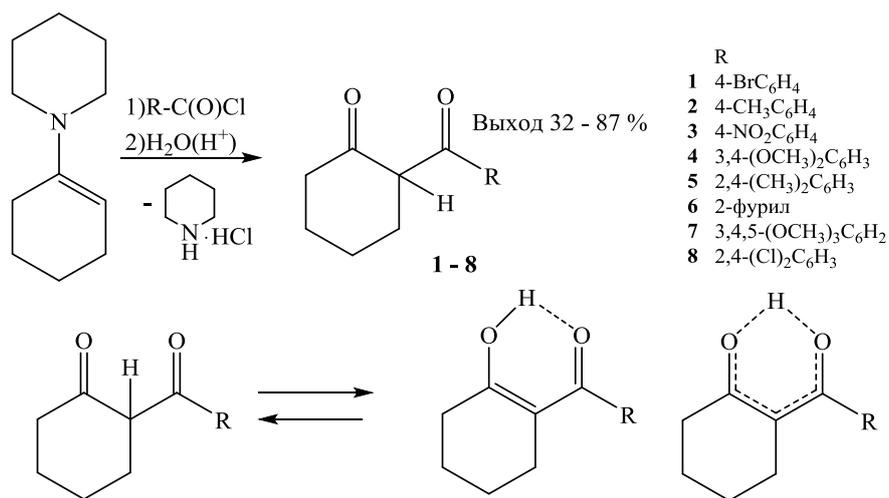


Схема 1.

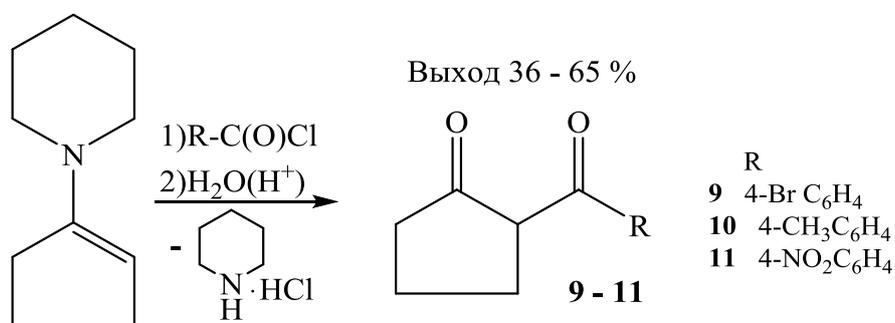


Схема 2.

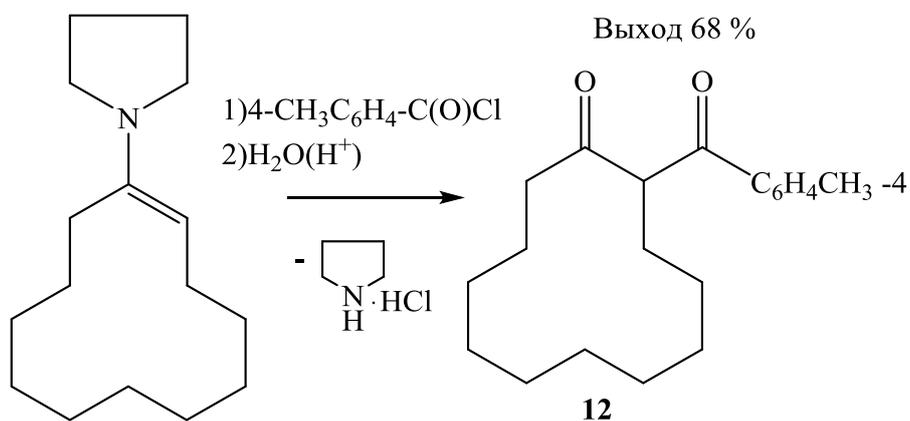


Схема 3.

2.2. Синтез и свойства производных пиразола

1,3-Дикетоны в реакциях с бинуклеофильными реагентами дают гетероциклы, среди которых имеются биологически активные соединения, в частности, производные пиразола, обладающие различными видами биологической активности.

Производные пиразола получены взаимодействием соответствующих дикетон-нов и гидразингидрата (**13 - 34**) (схемы 4 - 6).

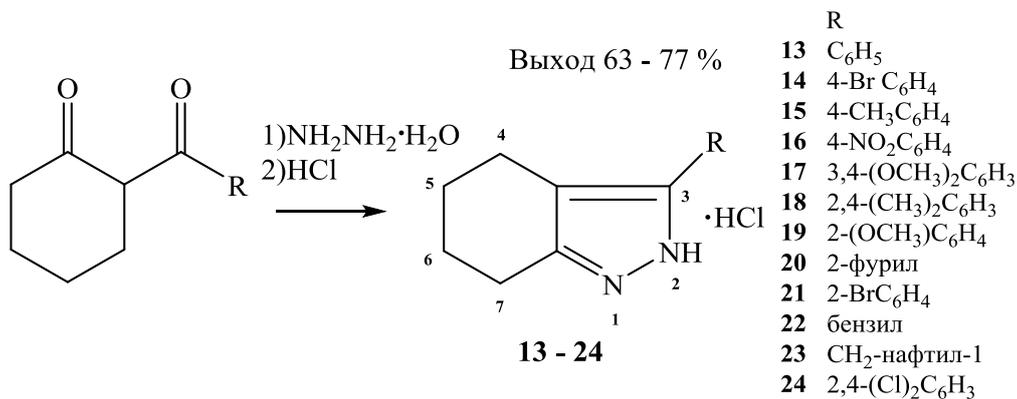


Схема 4.

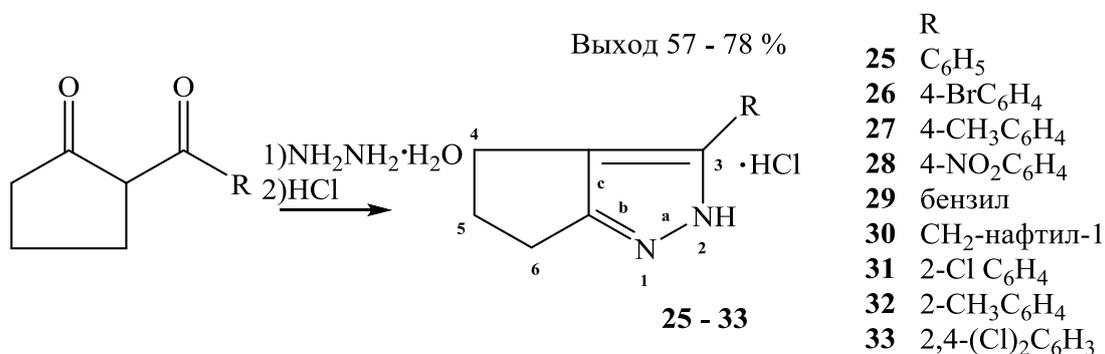


Схема 5.

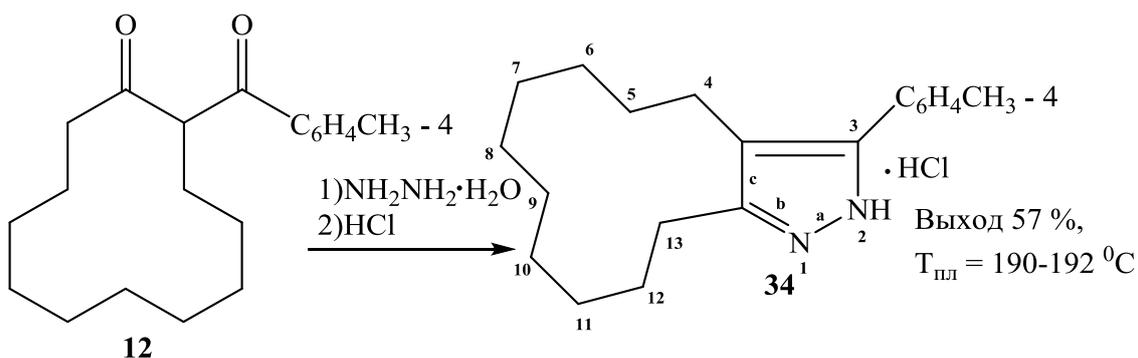


Схема 6.

2.3. Синтез и свойства производных изоксазола

В рамках исследования превращений бициклических 1,3-дикетон-ов с бинуклеофильными реагентами изучали возможность образования изоксазолов. В результате реакции дикетон-ов с основанием гидросиламина при кипячении в изопропаноле были получены 3-арил-4,5,6,7-тетрагидро-2,1-бензизоксазолы **35 - 40** (схема

7), 3-R-5,6-дигидро-циклопента[с]изоксазолы **41** – **45** (схема 8) и 3-(4-бромфенил)-4,5,6,7,8,9,10,11,12,13-декагидроциклододека[с]-изоксазол **46** (схема 9).

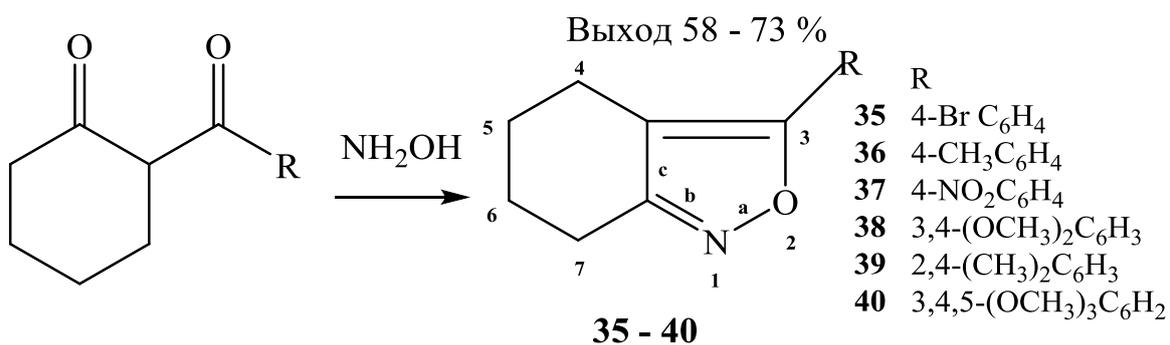


Схема 7.

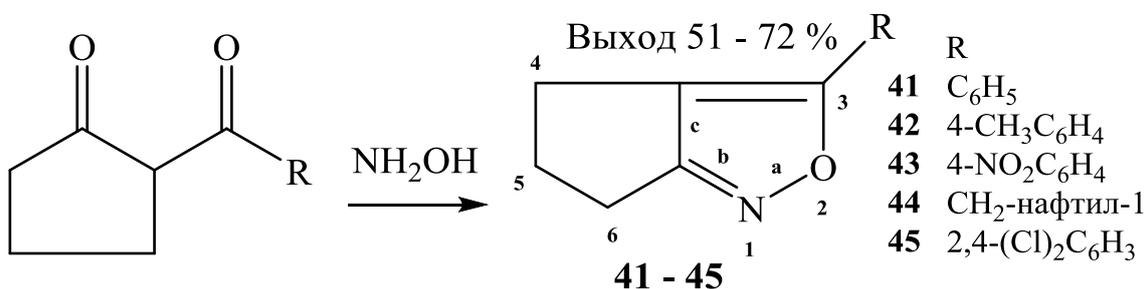


Схема 8.

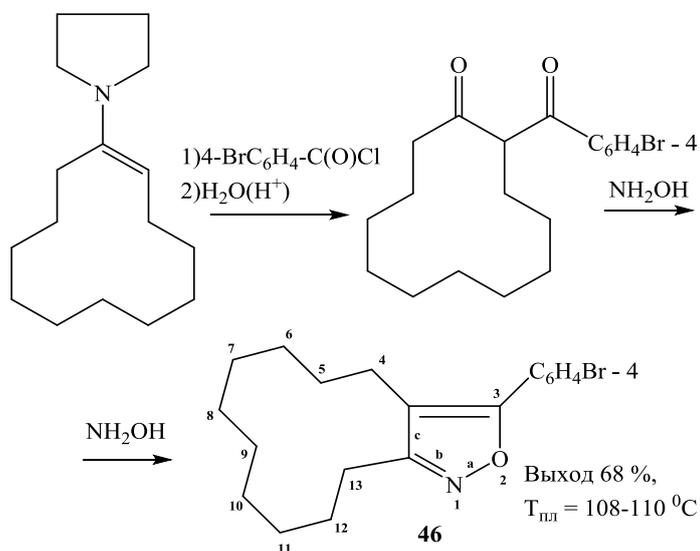


Схема 9.

Региоселективность присоединения гидроксилamina доказана на примере соединения **36** методом РСА (рис. 1).

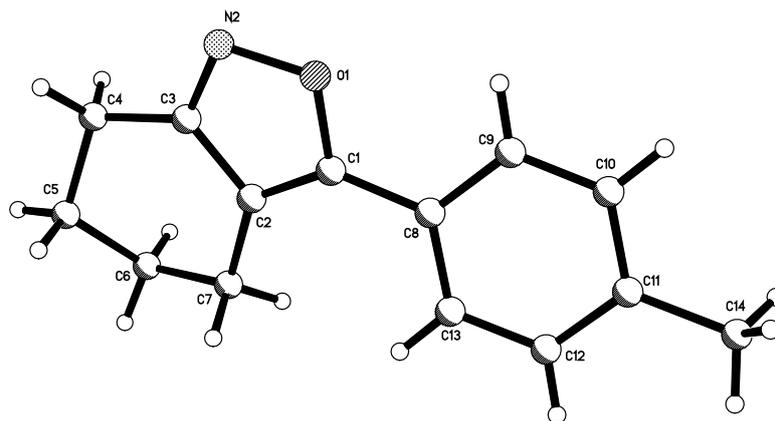


Рис. 1. Структура соединения **36**. Данные РСА.

2.4. Синтез и свойства 2-амино-4-R-5,6,7,8-тетрагидрохиназолов

Исследования показали, что 1,3-дикетоны при кипячении в толуоле с карбонатом гуанидина образуют производные 2-амино-4-R-5,6,7,8-тетрагидрохиназолов, их последующая обработка хлороводородом дает устойчивые гидрохлориды **47** – **52** (схема 10).

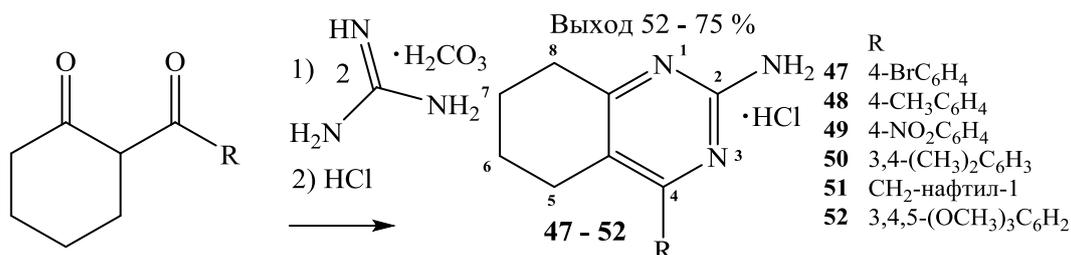


Схема 10.

2.5. Синтез и свойства (1,3-дигидроспиро[бензо[d]имидазол-2,1'-циклогексан]-2'-ил)метанолов

Взаимодействие 2-ароилциклогексанонов с *o*-фенилендиамином, при кипячении в ледяной уксусной кислоте, привело к получению 2-спиро-(2-ароилциклогексил)-1,2-дигидробензимидазолов **53**, **54** и 1-(2,4-диметилбензоил)-5-(2,4-ксилил)-1H-бензо[*b*]1,4-дiazепину **55** (схема 11).

Образование соединения **55**, при кипячении дикетона в ледяной уксусной кислоте с *o*-фенилендиамином, может быть объяснено термодинамической устойчивостью образующейся структуры. Ацилирование по атому азота способствует большей симметрии молекулы, что, возможно, повышает ее стабильность.

Структура соединения **55** доказана методом РСА (рис. 2).

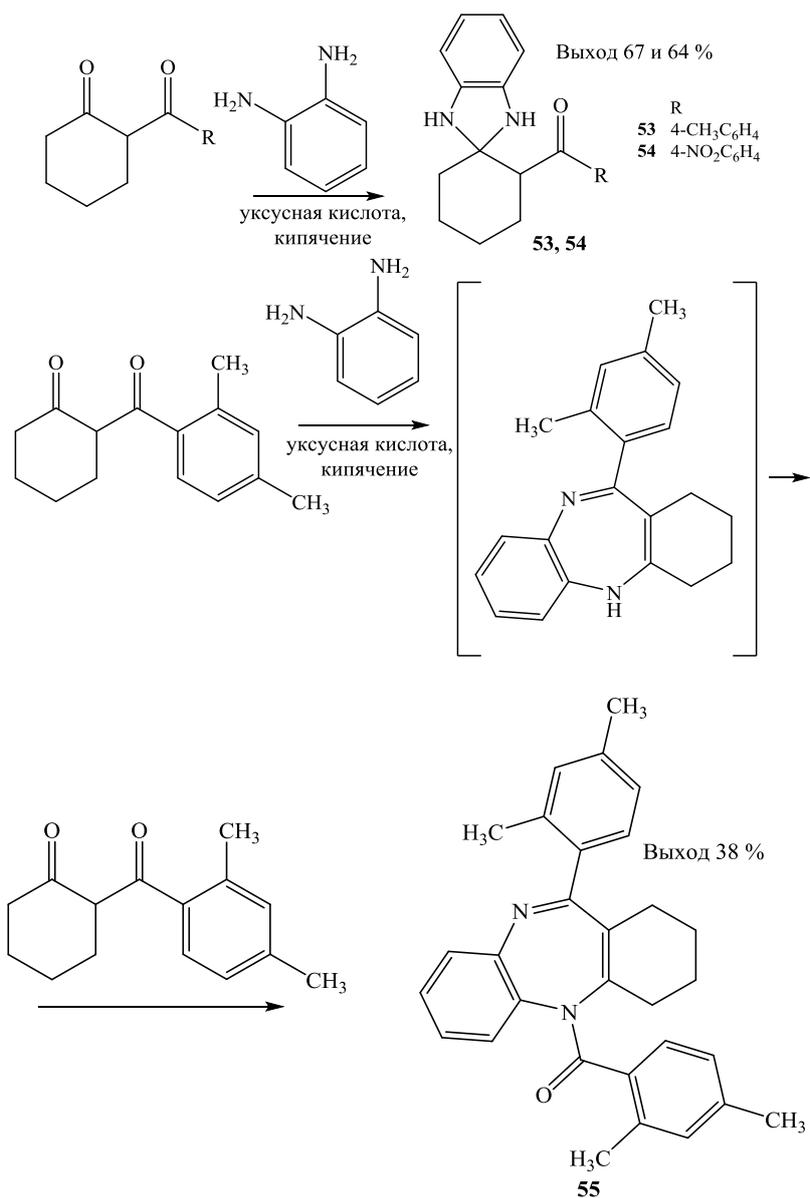


Схема 11.

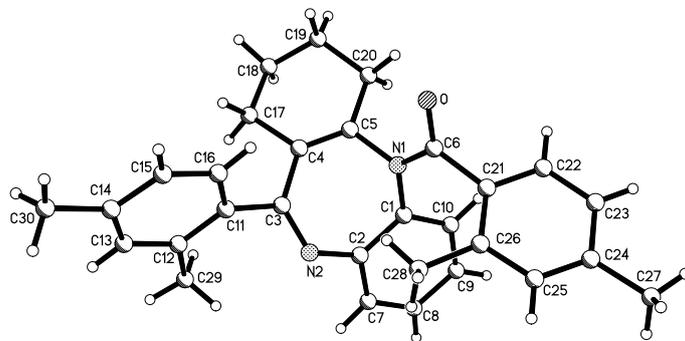


Рис. 2. Структура соединения **55**. Данные РСА.

2.6. Синтез 3-арил-5,6,7,8-тетрагидрохиназолинов

Исследования показали, что 2-арилциклогексаноны **1** и **3** при кипячении в толуоле с ацетатом формамидина образуют производные хинола **56**, **57** (схема 12).

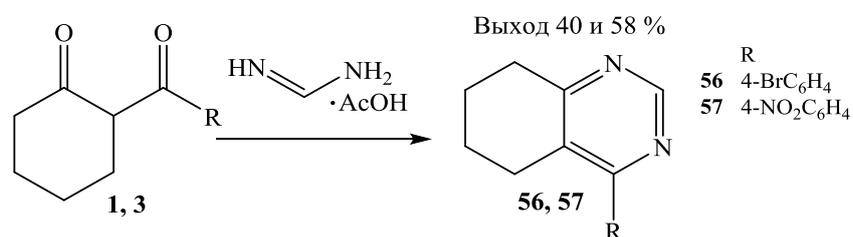


Схема 12.

2.7. Синтез этиловых эфиров 3-арил-4,5,6,7-тетрагидро-2-индолкарбоновых кислот

Кипячение 2-арилциклогексанонов **1** и **5** с этилглицинатом в толуоле привело к образованию производных 4,5,6,7-тетрагидроиндола **58**, **59** (схема 13).

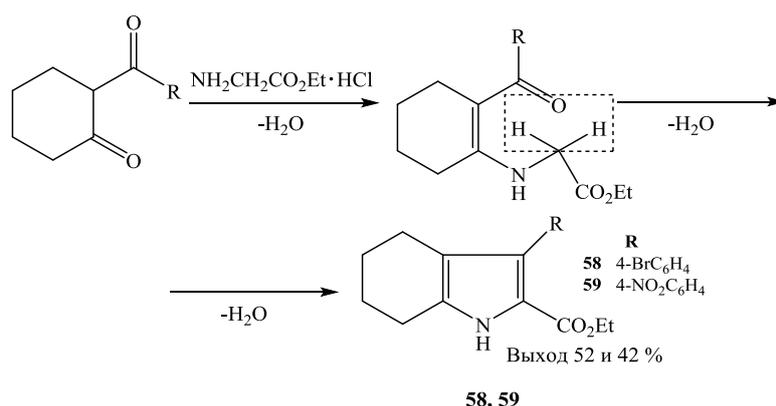


Схема 13.

Структура полученных соединений доказана методом ЯМР ¹H, ИК и масс-спектрометрии.

Глава 3. Биологическая активность бициклических 1,3-дикетонов и гетероциклов на их основе

Для определения биологической активности полученных соединений были проведены испытания на противомикробную, анальгетическую и гипогликемическую активность. Проведен прогноз биологической активности с помощью OSIRIS Property Explorer и PASS-Online.

Для изучения противомикробной активности синтезированных соединений нами было исследовано наличие противомикробной активности у 47 соединений.

Определение противомикробной активности соединений **1 - 7, 13 - 23, 35 - 40** проводили в научно-исследовательской лаборатории БАВ ЕНИ ГОУ ВПО «Пермский государственный научно-исследовательский университет» под руководством научного сотрудника Александровой Г.А. Антибактериальное действие выявляли методом двукратных серийных разведений (таблицы 1 - 4).

Исследование противомикробной активности соединений **9, 11, 12, 24 - 34, 41, 43, 45 - 48, 51, 52** проводили на кафедре микробиологии ПГФА под руководством профессора Одеговой Т.Ф. также методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде (таблица 5)

Таблица 1. Противомикробная активность соединений **1 - 7**

Соединение	R	МИК в отношении <i>Candida albicans</i> , мкг/мл
1	4-BrC ₆ H ₄	1000
2	4-CH ₃ C ₆ H ₄	500
3	4-NO ₂ C ₆ H ₄	>1000
4	3,4-(OCH ₃) ₂ C ₆ H ₃	—
5	2,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	>1000
6	2-фурил	>1000
7	3,4,5-(OCH ₃) ₃ C ₆ H ₂	—
контроль: ДМСО		рост

Примечание: “—” - отсутствие эффекта.

Таблица 2. Противомикробная активность соединений **13 - 16, 18 - 23**

Соединение	R	Противомикробная активность, мкг/мл					
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Candida albicans</i>	
		МИК	МБК	МИК	МБК	МИК	МБК
13	C ₆ H ₅	—	—	31.2	62.5	62.5	125.0
14	4-BrC ₆ H ₄	—	—	2.0	7.8	7.8	—
15	4-CH ₃ C ₆ H ₄	—	—	7.8	31.2	3.9	31.2
16	4-NO ₂ C ₆ H ₄	>1000	—	15.6	1000	500.0	—
18	2,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	—	—	15.6	62.5	125.0	>1000
19	2-(OCH ₃)C ₆ H ₄	>1000	—	15.6	31.2	7.8	—
20	2-фурил	>1000	—	<500.0	500.0	125.0	250.0
21	2-BrC ₆ H ₄	—	—	15.6	15.6	62.5	250
22	бензил	—	—	31.2	62.5	125	500
23	CH ₂ -нафтил-1	—	—	0.5	2.0	2.0	62.5
фенилсалицилат		—	—	750	2000	—	—
контроль: ДМСО		рост		рост		рост	

Примечание: “—” - отсутствие эффекта.

Таблица 3. Противомикробная активность соединения **17**

Со- еди- не- ние	R	Противомикробная активность, мкг/мл							
		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>St. epidermidis</i>		<i>St. saprophyticus</i>		<i>Candida albicans</i>	
		МИК	МБК	МИК	МБК	МИК	МБК	МИК	МБК
17	3,4- (OCH ₃) ₂ C ₆ H ₃	3.9	62.5	>15.6 <31.2	500.0	250.0	>1000.0	>100 0	>500 <1000
фенилсалицилат		750	2000	>1000	>100 0	>100 0	>1000	–	–
контроль: ДМСО		рост		рост		рост		рост	

Примечание: “–” - отсутствие эффекта.

Таблица 4. Противомикробная активность соединений **35 - 40**

Соединение	R	МИК в отношении <i>Candida albicans</i> , мкг/мл
35	4-BrC ₆ H ₄	–
36	4-CH ₃ C ₆ H ₄	1000
37	4-NO ₂ C ₆ H ₄	1000
38	3,4-(OCH ₃) ₂ C ₆ H ₃	–
39	2,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	1000
40	3,4-(OCH ₃) ₃ C ₆ H ₂	–
контроль: ДМСО	–	рост

Примечание: “–” - отсутствие эффекта.

Таблица 5. Противомикробная активность синтезированных соединений

Соеди- еди- нение	R	Противомикробная активность, мкг/мл	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
		МПК	МПК
Производные 2-ароилциклопентанона			
9	4-BrC ₆ H ₄	–	–
11	4-NO ₂ C ₆ H ₄	250	125
2-(4-Метилбензоил)циклододекан-1-он			
12	4-CH ₃ C ₆ H ₄	250	250
3-(2,4-Дихлорфенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазол			
24	2,4-(Cl) ₂ C ₆ H ₃	15.6	31
Производные 3-R-2,4,5,6-тетрагидроциклопента[с]пиразола			
25	C ₆ H ₅	–	–
26	4-BrC ₆ H ₄	–	–
27	4-CH ₃ C ₆ H ₄	250	500
28	4-NO ₂ C ₆ H ₄	–	1000
29	бензил	500	500
30	CH ₂ -нафтил-1	250	250
31	2-Cl C ₆ H ₄	–	–
32	2-CH ₃ C ₆ H ₄	–	–
33	2,4-(Cl) ₂ C ₆ H ₃	–	–

Соединение	R	Противомикробная активность, мкг/мл	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
		МПК	МПК
3-(<i>n</i>-толил)-4,5,6,7,8,9,10,11,12,13-декагидроциклододека[с]пирозол			
34	4-CH ₃ C ₆ H ₄	500	1000
Производные 3-арил-5,6-дигидро-циклопента[с]изоксазола			
41	C ₆ H ₅	–	–
43	4-NO ₂ C ₆ H ₄	1000	1000
45	2,4-(Cl) ₂ C ₆ H ₃	–	–
3-(4-бромфенил)-4,5,6,7,8,9,10,11, 12,13-декагидроциклододека[с]-изоксазол			
46	4-BrC ₆ H ₄	–	–
Производные 2-амино-4-<i>R</i>-5,6,7,8-тетрагидрохиназола			
47	4- BrC ₆ H ₄	500	500
48	4- CH ₃ C ₆ H ₄	250	250
51	1-нафтил	250	250
52	3,4,5-(OCH ₃) ₃ C ₆ H ₂	–	–
Диоксидин		62,5	3,9
контроль: ДМСО		рост	рост

Примечание: “ – ” - отсутствие эффекта.

Таким образом, в результате исследования противомикробной активности наиболее перспективными для поиска антимикробных препаратов оказались производные 3-*R*-4,5,6,7-тетрагидроиндазола, обладающие выраженным антимикробным действием.

Анальгетическую активность и токсичность исследовали в научно-исследовательской лаборатории ЕНИ ПГНИУ под руководством доцента Махмудова Р.Р. на беспородных белых мышах массой 18 – 22 г методом термического раздражения «горячая пластинка».

Исследуемые препараты вводили внутривентриально в виде взвеси в 2% крахмальной слизи в дозе 50 мг/кг. У интактных животных латентный период оборонительного рефлекса не превышал 10 секунд. Показателем болевой чувствительности служила длительность пребывания животного на горячей пластинке в ответ на термическое раздражение. В качестве стандартного препарата использовали метамизол натрия в дозе 93 мг/кг, что соответствует ED₅₀ при пероральном введении.

На основании полученных данных (таблицы 6 и 7) можно сделать вывод о том, что анальгетическая активность характерна как для исходных дикетонов, так и для соответствующих им бензизоксазолов и повышается при наличии в ароматическом ядре двух метильных или метокси-групп.

Таблица 6. Анальгетическая активность 2-арилциклогексанонов

Соединение	R	Время оборонительного рефлекса, мин
1	4-BrC ₆ H ₄	16.42 ± 1.99 (p<0.05)
2	4-CH ₃ C ₆ H ₄	16.80 ± 1.90 (p<0.01)
3	4-NO ₂ C ₆ H ₄	19.18 ± 3.52 (p<0.05)
4	3,4-(OCH ₃) ₂ C ₆ H ₃	16.25 ± 4.87 (p>0.05)

Соединение	R	Время оборонительного рефлекса, мин
5	2,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	21.74 ± 3.23 (p<0.01)
6	2-фурил	15.19 ± 1.62 (p>0.05)
7	3,4,5-(OCH ₃) ₃ C ₆ H ₂	19.06 ± 3.86 (p<0.05)
контроль: 2% крахмальная слизь		10.75 ± 1.63
метамизол натрия		17.58 ± 1.11 (p<0.01)

Таблица 7. Анальгетическая активность 3-арил-4,5,6,7-тетрагидро-2,1-бензизоксазолов

Соединение	R	Время оборонительного рефлекса, мин
35	4-BrC ₆ H ₄	18.70 ± 2.80 (p<0.05)
36	4-CH ₃ C ₆ H ₄	19.90 ± 3.20 (p<0.05)
37	4-NO ₂ C ₆ H ₄	17.82 ± 2.40 (p<0.05)
38	3,4-(OCH ₃) ₂ C ₆ H ₃	20.56 ± 2.03 (p<0.001)
39	2,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	19.26 ± 3.50 (p<0.05)
40	3,4,5-(OCH ₃) ₃ C ₆ H ₂	16.80 ± 1.90 (p<0.05)
контроль: 2% крахмальная слизь		10.75 ± 1.63
метамизол натрия		17.58 ± 1.11 (p<0.01)

Острая токсичность соединений **17**, **21** – **23** при пероральном введении оказалась более 1000,0 мг/кг, что позволяет отнести их к малотоксичным веществам по классификации Сидорова К.К.

Полученные результаты показывают перспективность поиска анальгетических средств в ряду 2-ароилциклогексанонов и соответствующих им 3-арил-4, 5,6,7-тетрагидро-2,1-бензизоксазолов.

Скрининговые исследования гипогликемической активности соединений выполнены на кафедре фармакологии ПГФА под руководством профессора Котегова В.П. на самцах белых нелинейных крыс массой 200-220г. В каждой группе эксперимента было по 6 животных.

Изучаемые вещества с учетом малого количества их субстанции инъецировали внутривенно на 1% крахмальной слизи в скрининговой дозе 25 мг/кг. В контрольной серии опыта животным вводили эквивалентные количества крахмальной слизи.

Содержание глюкозы в крови крыс определяли глюкозооксидазным методом на биохимическом анализаторе StatFax 4500 до, а также спустя 3 и 5 час после введения соединений. В качестве эталона сравнения использовали пероральный противодиабетический препарат гликлазид («Диабетон», Servier, лекарственная форма – таблетка), вводимый через рот в аналогичной дозе.

Наиболее выраженным гипогликемическим действием обладали соединения, имеющие заместитель только во 2 положении (таблица 8).

Таблица 8. Гипогликемическая активность 3-арил-4,5,6,7-тетрагидроиндазолов.

Соединение	R	Уровень гликемии, ммоль/л			Изменение гликемии, %	
		исходный	ч/з 3 часа	ч/з 5 часов	3 часа	5 часов
14	4- BrC ₆ H ₄	4,42 ±0,13	4,27 ±0,15	4,10 ± 0,11	-3,39 ±1,08	7,24 ±3,49
15	4- CH ₃ C ₆ H ₄	4,20 ±0,16	4,22 ±0,21	3,85 ±0,24	+0,48 ±5,93	-8,33 ±4,16
16	4- NO ₂ C ₆ H ₄	4,68 ±0,23	4,67 ±0,21	4,43 ±0,19	-0,21 ±5,48	-5,34 ±4,05
18	2,4- (CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	4,17 ±0,18	3,62 ±0,21	3,98 ±0,27	-13,19 ±3,05* ^o	-4,56 ±7,04
19	2- (OCH ₃)C ₆ H ₄	4,38 ±0,11	2,95 ±0,13	3,78 ±0,16	-32,65 ±3,81*	-13,70 ±2,56*
21	2- BrC ₆ H ₄	4,28 ±0,23	3,57 ±0,21	2,88 ±0,18	-16,59 ±4,42*	-32,71 ±6,68* ^o
Гликлазид		4,23 ±0,15	3,17 ±0,10	3,62 ±0,10	-25,06 ±1,40*	-14,42 ±2,58*
Контроль		4,00 ±0,16	3,80 ±0,15	3,75 ±0,18	-5,00 ±2,02	-6,25 ±1,13

Примечание: *-достоверность отличий по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$;
^o - достоверность отличий по сравнению с гликлазидом при $p \leq 0,05$.

ВЫВОДЫ

1. На основе реакции ацилирования циклических енаминов предложен метод синтеза 3-арил- и 3-арилметил-4,5,6,7-тетрагидроиндазолов. Обнаружено, что полученные соединения дают устойчивые гидрохлориды, что делает их перспективными для биологического скрининга.
2. Разработан метод синтеза 3-арил-4,5,6,7-тетрагидро-2,1-бензизоксазолов, заключающийся во взаимодействии бициклических 1,3-дикетонов с гидроксиламином. Полученные соединения проявили анальгетическую активность.
3. На примере 2-(2,4-диметилбензоил)-циклогексанона обнаружено превращение под действием о-фенилендиамина при кипячении в уксусной кислоте: образование производного 1,4-добензазепина с последующим ацилированием остатком 2,4-диметилбензойной кислоты.
4. Реакцией бициклических 1,3-дикетонов с ацетатом формамидина и карбонатом гуанидина получены соответствующие 4-арил-5,6,7,8-тетрагидрохиназолы.
5. Кипячением 2-ароилциклогексанонов с гидрохлоридом этилглицината в среде диметилформамида синтезированы этиловые эфиры 3-арил-4,5,6,7-тетрагидро-2-индолкарбоновой кислоты.
6. В результате биологических испытаний запатентованы:
 - а. 3-(1-нафтилметил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид, обладающий противомикробными свойствами
 - б. 3-(2-бромфенил) и 3-бензил-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлориды обладающие противомикробным действием

- в. 3-(3,4-диметоксифенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид в качестве анальгетического и противомикробного средства.
7. Для углубленного исследования рекомендован 3-(1-нафтилметил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид, обладающий антимикробным действием (МИК/МБК для *Staphylococcus aureus* 0.5 / 2.0 мкг/мл; для *Candida albicans* 2.0 / 62.5 мкг/мл)

Основные положения диссертации изложены в следующих работах:

1. 3-(3,4-диметоксифенил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид, анальгетическое и противомикробное средство: пат. RU2485105C1 Российский: МПК C07D231/56 / А.А. Пантюхин, С.Ю. Баландина, Г.А. Александрова, Р.Р. Махмудов, А.Г. Михайловский, Н.Н. Першина, М.И. Вахрин; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – №2012112102; заявл. 28.03.2012; опубл. 20.06.2012. Бюл. № 17.
2. 3-(1-нафтилметил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлорид, средство, обладающее противомикробными свойствами: пат. RU2459808C1 Российский: МПК C07D231/56 / А.А. Пантюхин, Н.Н. Першина, А.Г. Михайловский, М.И. Вахрин, Г.А. Александрова, И.О. Крылова, Р.Р. Махмудов; заявитель и патентообладатель ФГОУ ВПО «Пермский государственный университет», ГОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию». – №2011107489; заявл. 25.02.2011; опубл. 27.08.2012. Бюл. № 24.
3. 3-(2-бромфенил) и 3-бензил-4,5,6,7-тетрагидроиндазола гидрохлориды, противомикробное средство на их основе: пат. RU2469027C2 Российский: МПК C07D231/56 / А.А. Пантюхин, Н.Н. Першина, А.Г. Михайловский, Е.В. Вихарева, Г.А. Александрова, И.О. Крылова, Р.Р. Махмудов; заявитель и патентообладатель ФГОУ ВПО «Пермский государственный университет», ГОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию». – №2011107488; заявл. 25.02.2011; опубл. 10.12.2012. Бюл. № 34.
4. Михайловский А.Г. 2-Ароилциклогексаноны в синтезе азолов/ А.Г. Михайловский ..., А.А. Пантюхин и др. // Химия гетероциклических соединений. – №6. – 2010г. – С. 905-911.
5. Михайловский А.Г. Реакция 2-(2,4-диметилбензоил)циклогексанона с о-фенилендиамином/ А.Г. Михайловский, З.Г. Алиев, А.А. Пантюхин, Н.Н. Першина// ЖОрХ. – Т.47. – Вып. 12. – 2011 г. – С. 1868-1869.
6. Пантюхин А.А. Синтез и противомикробная активность 3-арил-4,5,6,7-тетрагидроиндазолов / А.А. Пантюхин, А.Г. Михайловский, Г.А. Александрова и др. // Хим.-фарм. журнал. – Т.46. – №8. – 2012г. – С.12-14.
7. Пантюхин А.А. Синтез, анальгетическая и противомикробная активность 2-ароилциклогексанонов и 3-арил-4,5,6,7-тетрагидро-2,1-бензизоксазолов / А.А. Пантюхин, Н.Н. Першина, С.А. Баландина и др. // Хим.-фарм. журнал. – Т.47. – №4. – 2013г. – С.17-19.

8. Михайловский А.Г. 2-Ароилциклогексаноны в синтезе 4-арил-5,6,7,8-тетрагидрохиназолов и 3-арил-4,5,6,7-тетрагидроиндолов / А.Г. Михайловский, А.А. Пантюхин // ЖОрХ. – Т. 50. – № 9. – 2014. – С. 1389-1390.
9. Михайловский А.Г. Бициклические 1,3-дикетоны – реагенты в синтезе биологически активных соединений./ А.Г. Михайловский ..., А.А. Пантюхин и др. // Всероссийская конференция по органической химии: тез. докл. – М.:ИОХ им. Зелинского РАН. – 2009г. – С. 294.
10. Михайловский А.Г. Бициклические дикетоны в синтезе потенциальных антидепрессантов / А.Г. Михайловский, А.А. Пантюхин, Н.Г. Базина и др. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск: Пятигорская ГФА. – 2010г. – Вып. 65. – С. 355-356.
11. Михайловский А.Г. Бициклические 1,3-дикетоны в синтезе биологически-активных азолов. / А.Г. Михайловский, А.А. Пантюхин, З.Г. Алиев, М.И. Вахрин // Вторая Международная научная конференция: «Новые направления в химии гетероциклических соединений»: тез. докл. – Ставрополь: Графа – 2011г. – С. 98.
12. Пантюхин А.А. Синтез, свойства и биологическая активность 3-арил-4,5,6,7-тетрагидроиндазолов. / А.А. Пантюхин, Н.Н. Першина // «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки»: Первая молодежная интернет-конференция молодых ученых: тез. докл. –Запорожье: ЗГМУ – 2012г.
13. Пантюхин А.А. Синтез биологически активных гетероциклов на основе бициклических 1,3-дикетонов // Современные тенденции и перспективы развития фармацевтического образования и науки: Вестник ПГФА. – Пермь: ПГФА. – 2013 – № 11. – С. 123-124.
14. Михайловский А.Г. Синтез и гипогликемическая активность 3-арил-4,5,6,7-тетрагидроиндазолов. / А.Г. Михайловский ..., А.А. Пантюхин и др. // «Актуальные вопросы современной медицины»: сборник научных трудов по итогам межвузовской ежегодной заочной научно-практической конференции с международным участием – Екатеринбург – 2014г. – С. 302-306.
15. Михайловский А.Г. Бициклические дикетоны – строительные блоки в синтезе биологически активных гетероциклов. / А.Г. Михайловский, А.А. Пантюхин, Н.Н. Першина // Третья Всероссийская научная конференция(с международным участием): «Успехи синтеза и комплексообразования»: тез. докл. – М.:РУДН. – 2014г. – Ч.1: Секция «Органическая химия». – С. 364.

Пантюхин Алексей Александрович (Россия)

Синтез, свойства и биологическая активность бициклических 1,3-дикетонов и их производных

Путём ацилирования циклических енаминов с последующим гидролизом синтезированы бициклические 1,3-дикетоны. В качестве исходных кетонов были выбраны циклогексанон, циклопентанон и циклододеканон. Взаимодействие бициклических 1,3-дикетонов с различными бинуклеофилами даёт гетероциклические соединения: пиразолы, изоксазолы, хиनाзолы, бензимидазолы и др. Среди полученных соединений были найдены вещества с антимикробным, анальгетическим и гипогликемическим действием. Выявлена корреляция между фармакологическим эффектом и строением ароматического фрагмента, а также числом метиленовых групп. Высокий уровень антимикробной активности показали гидрохлориды производных 4,5,6,7-тетрагидроиндазола, наиболее активным среди них оказался гидрохлорид 3-(1-нафтилметил)-4,5,6,7-тетрагидроиндазола.

Pantukhin Aleksey (Russia)

Synthesis, properties and biological activity of bicyclic 1,3-diketones and their derivatives

Via acylation of cyclic enamines with subsequent hydrolysis the bicyclic 1,3-diketones were synthesized. As starting ketones cyclohexanone, cyclopentanone and cyclododecanone were used and as acylating reagents aroylchlorides and chlorides of phenylacetic and 1-naphthylacetic acid were chosen. The interaction of bicyclic 1,3-diketones with various binucleophiles yields heterocyclic compounds: pyrazoles, isoxazoles, quinazoles, benzimidazoles etc. Among prepared compounds the substances with antimicrobial, analgetic and hypoglycemic effects were found. The correlation between pharmacological effect and structure of aromatic fragment and also number of methylene groups was revealed. Hydrochlorides of 4,5,6,7-tetrahydroindazole derivatives showed high level of antimicrobial activity, the most active among them proved out to be 3-(1-naphthylmethyl)-4,5,6,7-tetrahydroindazole's hydrochloride