

На правах рукописи

КИЗИМОВА ИРИНА АНАТОЛЬЕВНА

**СИНТЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА
ОСНОВЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ 5-ЗАМЕЩЕННЫХ 3-(2-N-
ФЕНИЛАМИНОБЕНЗОИЛ)ГИДРАЗОНОВ 2,3-ДИГИДРО-2,3-
ФУРАНДИОНОВ С НУКЛЕОФИЛЬНЫМИ РЕАГЕНТАМИ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени кандидата
фармацевтических наук**

Пермь — 2020

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

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор **Игидов Назим Мусабекович**

Научный консультант:

кандидат биологических наук, доцент **Чащина Светлана Викторовна**

Официальные оппоненты:

Шорманов Владимир Камбулатович – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармацевтической, токсикологической и аналитической химии, профессор

Глушков Владимир Александрович – доктор химических наук, доцент, «Институт технической химии Уральского отделения Российской академии наук» – филиал федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, лаборатория биологически активных соединений, старший научный сотрудник

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа.

Защита состоится « 24 » ноября 2020 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.02, при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2, тел./факс (342)233-55-01).

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

Автореферат разослан « ____ » _____ 2020 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

кандидат химических наук

Замараева Татьяна Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Введение

Актуальность темы. Одной из важнейших задач фармацевтической науки является поиск высокоэффективных и малотоксичных биологически активных соединений среди продуктов органического синтеза. 3-Гидразано(имино)-3*H*-фуран-2-оны, имеющие в своем составе несколько реакционных центров, в настоящее время широко используются в качестве полифункциональных синтонов для синтеза различных ациклических и гетероциклических соединений, многие из которых обладают биологической активностью.

В качестве фармакофорной группы нами выбран гидразид *N*-фенилантраниловой кислоты, который является структурным фрагментом нестероидных противовоспалительных лекарственных средств, таких как мефенамовая, меклофенамовая, флуфенамовая кислоты.

Все это свидетельствует об актуальности данной работы, посвященной изучению взаимодействия 5-замещенных 3-(2-*N*-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов с нуклеофильными реагентами.

Степень разработанности темы исследования. За последние годы опубликован ряд работ, посвященных синтезу биологически активных соединений, на основе химических превращений 3-гидразано(имино)-3*H*-фуран-2-онов с нуклеофильными реагентами. Однако отсутствуют данные о синтезе и реакционной способности ацилгидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов, содержащих в своем составе фрагмент гидразида *N*-фенилантраниловой кислоты.

В настоящей работе приведены результаты исследования, посвященного синтезу и изучению реакционной способности 5-замещенных 3-(2-*N*-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов с *ОН*-, *NH*- и *СН*- нуклеофилами с целью поиска новых биологически активных соединений среди продуктов их химических превращений.

Целью настоящего исследования является синтез новых биологически активных соединений на основе взаимодействия 5-замещенных 3-(2-*N*-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов с *ОН*-, *NH*- и *СН*- нуклеофильными реагентами.

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

1. Осуществить синтез новых гидразонокислот на основе взаимодействия ацилпировиноградных кислот с гидразидом *N*-фенилантраниловой кислоты и изучить особенности их строения.
2. Провести циклизацию 4-*R*-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразанобутановых кислот в 5-замещенные 3-(2-*N*-фениламинобензоил)гидразоны 2,3-дигидро-2,3-фурандионов под действием пропионового ангидрида.
3. Изучить химические свойства 3-(2-*N*-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов в реакциях с *ОН*-, *NH*- и *СН*- нуклеофильными реагентами.
4. Установить структуру полученных соединений методами ИК-, ЯМР¹H-, ЯМР¹³C-спектроскопии, масс-спектрометрии и рентгеноструктурного анализа.
5. Провести фармакологический скрининг синтезированных соединений и выбрать наиболее перспективные из них для углубленных исследований.

Научная новизна. Установлено, что реакция гидразида *N*-фенилантраниловой кислоты протекает региоселективно по второму атому углерода ацилпировиноградных кислот с образованием ранее неописанных 4-*R*-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)-

гидразобутановых кислот. Циклизацией гидразонокислот впервые получены 5-замещенные 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразоны 2,3-дигидро-2,3-фуран-дионов.

Впервые показано, что 5-замещенные 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразоны 2,3-дигидро-2,3-фурандионов вступают во взаимодействие с первичными и вторичными спиртами только в присутствии катализатора – триэтиламина.

Дециклизацией 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов под действием первичных аминов впервые получены гидразоамиды ацилпировиноградных кислот. Доказано, что они в кристаллическом состоянии находятся только в гидразонной форме, а в растворах наблюдается смесь гидразонных и циклической форм.

Впервые осуществлен синтез эфиров и амидов 2-амино-4-оксо-5-(2-оксо-2-R-этилиден-1-(2-фениламино)бензамидо-4,5-дигидро-1*H*-пиррол)-3-карбоновых кислот рециклизацией 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов под действием производных циануксусной кислоты.

На основании данных ИК-, ЯМР¹H-, ЯМР¹³C- спектроскопии, масс-спектрометрии и рентгеноструктурного анализа установлена структура и выявлены особенности строения полученных соединений.

Изучена противовоспалительная, анальгетическая, антибактериальная, противогрибковая, цитотоксическая активности синтезированных соединений. Выявлены соединения-лидеры, обладающие анальгетической, противовоспалительной, цитотоксической активностью, определена их острая токсичность.

Теоретическая и практическая значимость. Были разработаны методики синтеза 4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразобутановых кислот, 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов, алкил-4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразобутаноатов, N-алкил/арил/гетарил-4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразобутанамидов, эфиров и амидов 2-амино-4-оксо-5-(2-оксо-2-R-этилиден-1-(2-фениламино)бензамидо-4,5-дигидро-1*H*-пиррол)-3-карбоновых кислот.

В процессе работы было получено 102 соединения, не описанных ранее в литературе, из них у 22 соединений определена антибактериальная и противогрибковая активность, противовоспалительная – у 48, анальгетическая – у 42, цитотоксическая – у 1 соединения, острая токсичность у 4 соединений. Выявлены перспективные соединения для дальнейшего исследования, проявившие высокую цитотоксическую, противовоспалительную и анальгетическую активность.

Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры общей и органической химии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (Акт внедрения научных достижений в учебный процесс от 26.03.2020 г.) и в научно-исследовательскую и учебную работу научно-исследовательской лаборатории биологически активных соединений ПГНИУ (Акт о внедрении результатов диссертационной работы от 07.09.2020 г.)

Методология и методы исследования. В исследовании использовался широкий спектр методов классического органического синтеза и дальнейшего выделения продуктов реакций. Для идентификации структуры соединений были использованы методы ИК-, ЯМР¹H-, ЯМР¹³C- спектроскопии, масс-спектрометрии и РСА. Для определения биологической активности и оценки острой токсичности полученных соединений применялись методы *in vivo* и *in vitro*. Результаты эксперимента подвергнуты статистической обработке с использованием методов математической статистики.

Степень достоверности. Результаты исследований получены на приборах: ИК-спектры на спектрометре ФСМ-1201 (Россия), спектры ЯМР¹H и ЯМР¹³C были записаны на приборе Bruker Avance III (400 и 100 МГц) внутренний стандарт - остаточный сигнал от дейтерорастворителя, для масс-спектров использовался спектрометр Kratos MS-30, ионизация ЭУ (70 эВ, температура камеры ионизации 200°C). Рентгеноструктурный анализ выполнен на монокристалльном дифрактометре Xcalibur Ruby с CCD-детектором по стандартной методике (MoK α -излучение, 295(2) К, ω -сканирование с шагом 1°). Достоверность научных положений и выводов базируется на достаточных по своему объему данных и количеству материала, современных методах исследования и статистической обработке данных.

Личный вклад автора. Автор участвовал во всех этапах исследовательской работы по анализу и обобщению отечественных и зарубежных литературных данных, а также синтезу, анализу и обработке данных по полученным соединениям, написанию научных статей, тезисов и глав диссертации.

Публикации. Основное содержание материалов диссертации было изложено в 14 печатных работах, в том числе в 6 статьях в журналах, рекомендованных перечнем ВАК и базой данных SCOPUS, в 8 статьях и тезисах в электронных журналах, сборниках и материалах научных конференций различного уровня.

Апробация работы. Результаты исследований были изложены в виде тезисов на XXV Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные вопросы создания новых лекарственных средств» (г. Харьков, 2018 г.), V молодежной школе-конференции «Современные аспекты химии» (г. Пермь, 2018 г.), Международной научно-практической конференции «Создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление развития фармацевтической науки» (г. Пермь, 2018 г.), Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 85-летию Ю. С. Андрейчикова (г. Пермь, 2019).

Внедрение результатов исследования. Результаты работы внедрены в лекционный и практический курс учебной дисциплины «Органическая химия», в научно-исследовательскую работу студентов, аспирантов кафедры общей и органической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования ФГБОУ ВО ПГФА, а также в работу научно-исследовательской лаборатории по изучению биологически активных соединений ФГБОУ ВО ПГНИУ.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пункту 1 – исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения структуры синтетического и природного происхождения и выявления связей и закономерностей между строением и свойствами веществ.

Исследования выполнены в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (номер государственной регистрации 01.9.50 007419).

Объем и структура диссертации. Материалы диссертационного исследования изложены на 167 страницах машинописного текста. Диссертация состоит из введения, литературного обзора (гл. 1), объектов и методов исследования (гл. 2), обсуждения экспериментальных результатов (гл. 3), биологической активности (гл. 4),

экспериментальной химической части (гл. 5), заключения, списка литературы, приложения. Диссертация содержит 44 схемы, 29 таблиц и 10 рисунков. Список литературы включает 144 работы, из которых 32 – на иностранных языках.

Благодарность. Автор выражает благодарность к.х.н. Мокрушину И.Г. (ПГНИУ, г. Пермь), к.х.н. Дмитриеву М.В. (ПГНИУ, г. Пермь), к.ф.н. Новиковой В.В. (ПГФА, г. Пермь), к.ф.н. Махмудову Р.Р. (ПГНИУ, г. Пермь), старшему преподавателю Иванову Д.В. (ПГНИУ, г. Пермь), к.х.н., доценту Рубцову А.Е. (ПГНИУ, г. Пермь) за помощь и оказанную поддержку.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Синтез и биологическая активность производных антраниловой кислоты

В главе приводятся обобщенные литературные данные по способам синтеза, исследованию химических свойств и биологической активности производных 3-гидразоно(имино)3*H*-фуран-2-онов.

Глава 2. Объекты и методы исследования

Объектами исследования были 4-*R*-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)-гидразобутановые кислоты, 5-замещенные 3-(2-*N*-фениламинобензоил)гидразоны 2,3-дигидро-2,3-фурандионов и продукты их химических превращений: алкил-4-*R*-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразобутаноаты, *N*-алкил(арил)-4-*R*-4-оксо-2-(2-фениламинобензоилгидразоно)бутанамиды, эфиры и амиды 2-амино-4-оксо-5-(2-оксо-2-*R*-этилиден-1-(2-фениламино)бензамидо-4,5-дигидро-1*H*-пиррол)-3-карбоновых кислот. Приведены приборы, на которых была осуществлена запись ИК-, ЯМР ¹H-, ЯМР ¹³C-, масс-спектров, РСА, температур плавления, а также методики определения антибактериальной, противогрибковой противовоспалительной, антиноцицептивной, цитотоксической активностей и острой токсичности.

Глава 3. Обсуждение экспериментальных результатов

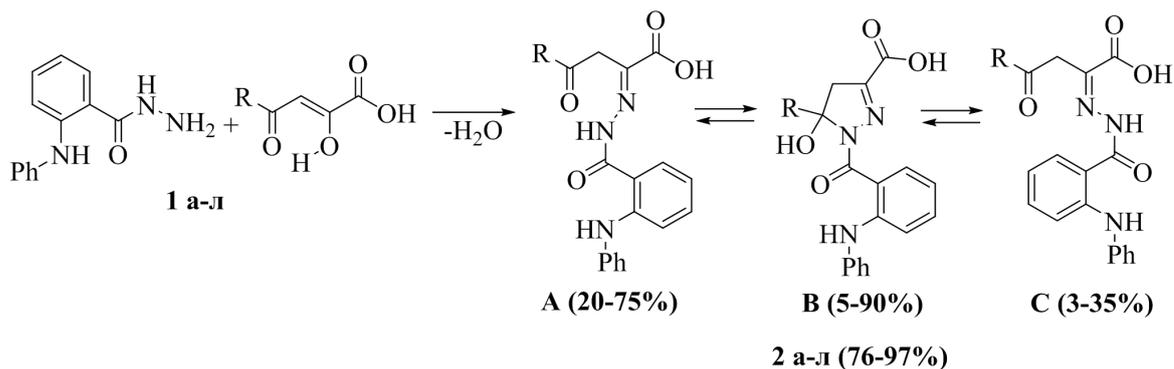
В настоящей главе представлены данные о синтезе новых производных АПК: гидразонокислот, гидразонов 2,3-дигидро 2,3-фурандионов, гидразоноэфиров, гидразоноамидов, 2-аминопирролов. Обсуждается структура и свойства синтезированных соединений.

3.1. Получение 5-замещенных 3-(2-*N*-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов

3.1.1. Синтез исходных 4-*R*-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразобутановых кислот

Выбор гидразида *N*-фенилантраниловой кислоты продиктован не только химическими целями, но и возможностью получения на основе ацилпировиноградных кислот соединений, обладающих биологической активностью. Для этого были введены во взаимодействие кислоты **1a–л** с гидразидом *N*-фенилантраниловой кислоты в среде ацетонитрила (Схема 1).

Гидразонокислоты **2a–л** представляют собой желтые и светло-желтые кристаллические соединения, растворимые в диметилсульфоксиде, диметилформамиде, ацетоне, трудно растворимые в изопропиловом спирте, ацетонитриле и нерастворимые в воде и гексане.



R= t-Bu(1а,2а), Ph(1б,2б), 4-МеС₆Н₄(1в,2в), 4-МеОС₆Н₄(1г,2г), 4-ЕтОС₆Н₄(1д,2д),
3,4-(МеО)₂С₆Н₃(1е,2е), 1-нафтил(1ж,2ж), 2-нафтил(1з,2з), 4-FC₆Н₄(1и,2и), 4-ClC₆Н₄(1к,2к),
4-BrC₆Н₄(1л,2л)

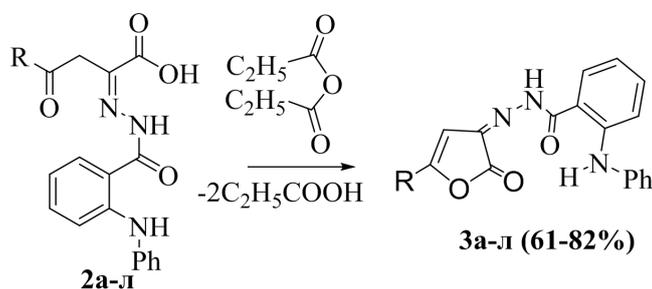
Структура полученных соединений **2а-л** доказана данными ИК, ЯМР¹H, ЯМР¹³C, масс-спектров. В ИК спектрах соединений **2а-л**, снятых в пасте вазелинового масла, присутствуют полосы валентных колебаний NH-группы при 3144-3375 см⁻¹, карбонила карбоксильной группы при 1685-1703 см⁻¹, C(O)NH группы при 1638-1668 см⁻¹, и карбонильной группы C⁴=O при 1582-1594 см⁻¹.

В масс-спектре соединения **2в** обнаружены пики со следующими значениями m/z: 415 (14.6) [M]⁺, 397 (41.6) [M-H₂O]⁺, 371 (15.2) [M-CO₂]⁺, 196 (75.9) [M-2-PhNHRPhCO]⁺, 195 (100/0) [M-2-PhNHRPhCO-H]⁺, 168 (8.9) [M-2-PhNHRPh]⁺, 119 (13.4) [4-МеPhCO]⁺, 91 (10.5) [4-МеPh]⁺, 77 (5.4) [Ph]⁺, что также подтверждает предложенную структуру.

3.1.2. Синтез 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов

До наших исследований в литературе отсутствовали сведения о синтезе и реакционной способности гидразонов 5-арил-2,3-дигидро-2,3-фурандионов, имеющих в положении 3 цикла 2-фениламинобензоилгидразонный фрагмент. С этой целью нами осуществлён синтез 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов **3а-л** при нагревании 4-R-замещенных-2-(2-аминобензоилгидразинилиден)-4-оксобутановых кислот **2а-л** в пропионовом ангидриде при температуре 70°C в течение 20 минут (Схема 2).

Схема 2



R= t-Bu(3а), Ph(3б), 4-МеС₆Н₄(3в), 4-МеОС₆Н₄(3г), 4-ЕтОС₆Н₄(3д), 3,4-(МеО)₂С₆Н₃(3е),
1-нафтил(3ж), 2-нафтил(3з), 4-FC₆Н₄(3и), 4-ClC₆Н₄(3к), 4-BrC₆Н₄(3л)

Соединения **3а-л** представляют собой кристаллические соединения от оранжевого до красного цвета, растворимые в диметилсульфоксиде, диметилформамиде, ацетоне, нерастворимые в этаноле, изопропиловом спирте, ацетонитриле и гексане.

Структура полученных соединений доказана данными ИК, ЯМР¹H, ЯМР¹³C, масс-спектров и РСА. В ИК-спектрах соединений **3а-л**, снятых в пасте вазелинового масла,

присутствуют полоса поглощения валентных колебаний группы NH в области 3274-3315 см^{-1} , полоса валентных колебаний лактонного карбонила в области 1748-1804 см^{-1} и полоса поглощения карбонильной группы гидразидного фрагмента в области 1659-1671 см^{-1} .

В масс-спектре соединения **3e** обнаружены пики со следующими значениями m/z : 443 (66.87) $[\text{M}]^+$, 196 (100.00) $[\text{2-PhNHPhCO}]^+$, 195 (12.01) $[\text{2-PhNHPhCO-H}]^+$, 168 (5.61) $[\text{2-PhNHPh}]^+$, 167 (22.82) $[\text{2-PhNHPh-CO}]^+$, 248 (19.22) $[\text{M-2PhNHPhCO+H}]^+$, что также подтверждает предложенную структуру.

Структура соединения **3в** подтверждена РСА (Рисунок 1).

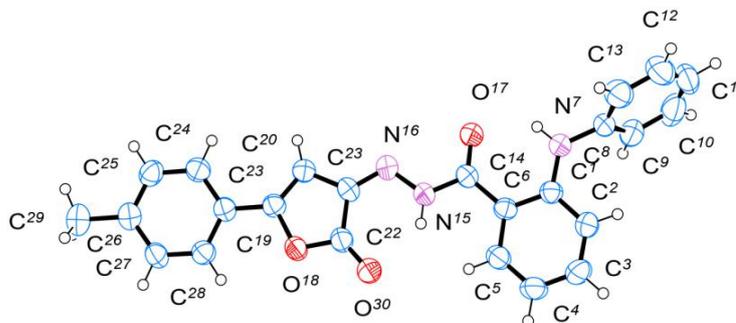


Рисунок 1

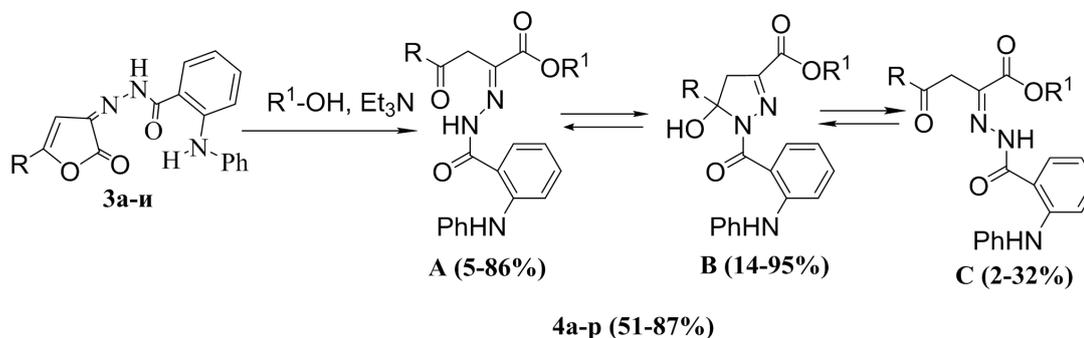
3.2. Химические свойства 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов

3.2.1. Дециклизация 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов под действием первичных и вторичных спиртов

С целью исследования реакционной способности 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов **3** и поиска новых биологически активных соединений нами изучено их взаимодействие с первичными и вторичными спиртами.

Дециклизация 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов **3a-и** протекает при кипячении в среде соответствующего спирта в присутствии каталитических количеств триэтиламина с образованием алкил-4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразонобутаноатов **4a-p** (Схема 3).

Схема 3



R = t-Bu(4a,4к,4п), Ph(4б,4л), 4-MeC₆H₄(4в,4м,4р), 4-MeOC₆H₄(4г,4н), 4-EtOC₆H₄(4д),
3,4-(MeO)₂C₆H₃(4е), 4-FC₆H₄(4ж), 4-ClC₆H₄(4з,4о), 4-BrC₆H₄(4и)
R₁ = Me(4a-и), Et(4к-о), (CH₃)₂CH(4п-р)

Полученные соединения **4a-p** представляют собой бесцветные или окрашенные в желтый или светло-желтый цвет кристаллические вещества, растворимые в

диметилсульфоксиде, диметилформамиде, трудно растворимые в изопропиловом спирте и нерастворимые в воде и гексане.

Структура полученных соединений доказана данными ИК, ЯМР¹H, ЯМР¹³C, масс-спектров. В ИК-спектрах соединений **4а-ж**, **4и-о** наблюдаются полосы поглощения валентных колебаний NH-групп в области 3145-3380 см⁻¹, сложноэфирного карбонила в области 1666-1745 см⁻¹ и валентные колебания связи C=N в области 1574-1642 см⁻¹.

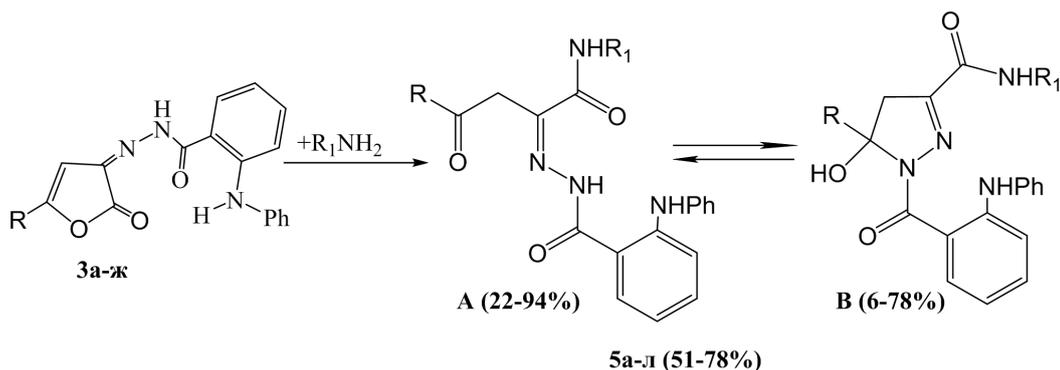
В масс-спектре соединения **4а** имеются пики молекулярного и фрагментных ионов со следующими значениями массовых чисел *m* (*I*_{отн.}, %): 395 (9,0) [M]⁺, 336 (4,0) [M - COOCH₃]⁺, 196 (100,0) [2-PhNHPhCO]⁺, 168 (7,0) [M-COOCH₃-PhNHPh]⁺. Такой характер фрагментации хорошо согласуется со структурой гидразоноэфиров АПК **4**.

3.2.2. Дециклизация 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов под действием первичных аминов

3.2.2.1. Взаимодействие с алифатическими аминами

Нами установлено, что гидразоны 2,3-фурандионов взаимодействуют с алифатическими аминами в среде абсолютного толуола или диоксана при комнатной температуре при перемешивании на магнитной мешалке в течение 20-30 минут с образованием продуктов дециклизации – N-алкил-4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил-гидразоно)бутанамидов **5а-л** (Схема 4).

Схема 4



R= t-Bu(**5а**), Ph(**5б**), 4-MeC₆H₄(**5в,ж**), 4-MeOC₆H₄(**5г,з**), 4-EtOC₆H₄(**5д,5и**), 3,4-(MeO)₂C₆H₃(**5е,к**),
4-BrC₆H₄(**5л**)
R₁= CH₂Ph(**5а-е**), CH₂CH₂Ph(**5ж-л**)

Соединения **5а-л** представляют собой кристаллические вещества, которые имеют желтую или светло-желтую окраску. Вещества нерастворимы в воде и гексане, растворимы в этаноле, диметилсульфоксиде, диметилформамиде и ацетоне, мало растворимы в изопропиловом спирте, ацетонитриле.

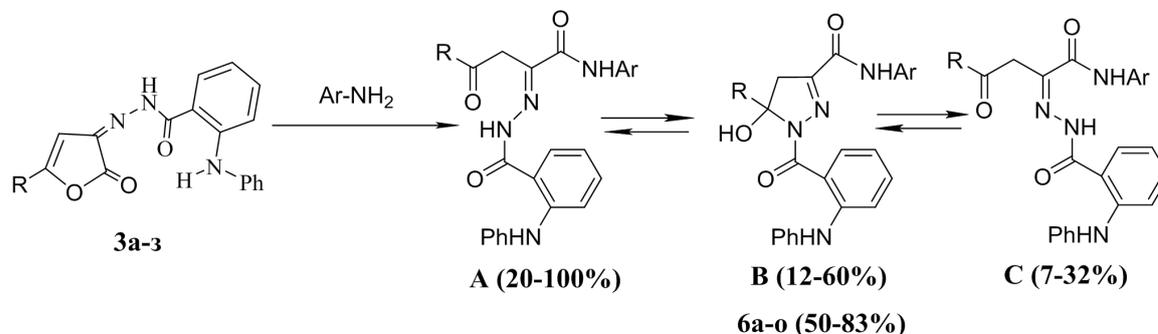
Структура полученных соединений доказана данными ИК, ЯМР¹H, ЯМР¹³C, масс-спектров. В ИК-спектрах соединений **5а-ж**, **5и-л**, записанных в вазелиновом масле, кроме полос валентных колебаний NH групп в области 3233-3399 см⁻¹ и карбонила в области 1653 - 1668 см⁻¹ амидного фрагмента, присутствует полоса валентных колебаний кетонного карбонила, вовлеченного в ВМВС, при 1593-1599 см⁻¹.

Наличие в масс-спектре соединения **5в** пиков молекулярного и фрагментных ионов со следующими значениями массовых чисел *m* (*I*_{отн.}, %): 504 (55,7) [M]⁺, 486 (1,5) [M - H₂O]⁺, 370 (49,8) [M - PhCH₂NHCO]⁺, 196 (100,0) [2-PhNHPhCO]⁺, 168 (10,3) [2-PhNHPh]⁺, 119 (9,6) [4-MePhCO]⁺, 91 (10,8) [4-MePh]⁺ также подтверждает предложенную структуру.

3.2.2.2. Взаимодействие с ароматическими аминами

В целях расширения ряда гидразоноамидов нами синтезированы N-арил-4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоилгидразоно)бутанамиды **6а-о** дециклизацией 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов **3а-з** под действием ароматических аминов в среде абсолютного толуола или диоксана (Схема 5).

Схема 5



R= t-Bu (6а,6д), Ph(6б,6м), 4-MeC₆H₄(6в,6е,6н), 4-MeOC₆H₄(6ж), 4-EtOC₆H₄(6з), 4-FC₆H₄(6и),
 4-ClC₆H₄(6г,6к, 6о), 4-BrC₆H₄(6л)
 Ar= Ph(6а-г), 4-MePh(6д-л), 4-BrPh(6н-о)

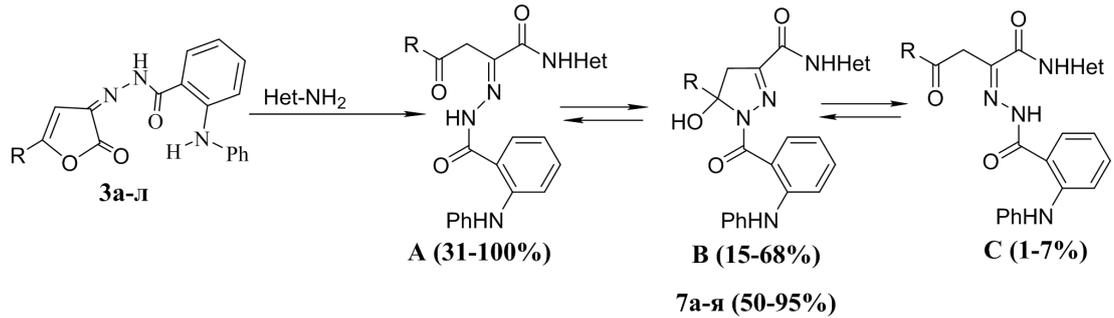
Соединения **6а-о** представляют собой светло-желтые или желтые кристаллические вещества, растворимые в этаноле, диметилсульфоксиде, диметилформамиде и ацетоне, трудно растворимые в изопропиловом спирте, ацетонитриле, нерастворимые в воде и гексане.

Структура полученных соединений доказана данными ИК, ЯМР¹H, ЯМР¹³C, масс-спектров. В ИК спектрах соединений **6б-о** наблюдаются полосы, обусловленные валентными колебаниями аминогрупп в области 3186–3443 см⁻¹, карбонила амидного фрагмента в области 1654–1685 см⁻¹, а также полоса, характерная для валентных колебаний связей C=C и C=O при 1589–1636 см⁻¹.

В масс-спектре соединения **6е** обнаружены пики со следующими значениями m/z: 504 (28.9) [M]⁺, 370 (50.0) [M-4-MePhNHCO]⁺, 196 (100.0) [2-PhNHPhCO]⁺, 168 (11.3) [2-PhNHPh]⁺, 119 (82.9) [M-4-MePhCO]⁺, 91 (34.0) [4-MePh]⁺, 77 (16.3) [Ph]⁺. Такой характер фрагментации хорошо согласуется со структурой гидразоноамидов АПК **6**.

3.2.2.3 Взаимодействие с гетероциклическими аминами

С целью биологического тестирования нами был расширен ряд гидразоноамидов АПК. Для этого были введены в реакцию 5-замещенные 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразоны 2,3-дигидро-2,3-фурандионов **3а-л** с гетероциклическими аминами в среде абсолютного толуола. В результате реакции выделены 4-R-4-оксо-2-[2-(2-фениламино)бензоил]-гидразинилиден-N-гетарилбутанамиды **7а-я** (Схема 6).



R=t-Bu (7а,7з,7и,7м,7у), Ph (7б,7ж,7й,7н,7ф), 4-MeC₆H₄ (7в,7к,7о,7х), 4-MeOC₆H₄ (7г,7п,7ч), 3,4-(MeO)₂C₆H₃ (7щ), 4-EtC₆H₄ (7ц), 4-EtOC₆H₄ (7д,7р,7ш), 1-нафтил (7е,7с,7ы), 2-нафтил (7э), 4-ClC₆H₄ (7ё,7л,7т,7ю), 4-BrC₆H₄ (7я);

Het =тиазол-2-ил (2а-ё), 4-фенилтиазол-2-ил (2ж), 4-(4-метилфенил)тиазол-2-ил (2з), 1,3,4-тиадиазол-2-ил (7и-л), 5-этил-1,3,4-тиадиазол-2-ил (7м-т), бензотиазол-2-ил (7у-я)

Синтезированные соединения **7а-я** – желтые или светло-желтые кристаллические вещества, растворимые в этаноле, диметилсульфоксиде, диметилформамиде и ацетоне, труднорастворимые в изопропиловом спирте, ацетонитриле, нерастворимые в воде и гексане.

Структура полученных соединений доказана данными ИК, ЯМР¹H, ЯМР¹³C, масс-спектров и РСА. В ИК спектрах гидразоноамидов **7а-д**, **7ё-ф**, **7ч,ш,ю** имеются характеристические полосы валентных колебаний NH групп в области 3168–3545 см⁻¹ и карбонильных групп в области 1662–1715 см⁻¹, а также полоса, характерная для валентных колебаний связей C=C и C=N при 1573–1640 см⁻¹.

В масс-спектре соединения **7к** обнаружены пики со следующими значениями m/z (I_{отн.}, %): 498 (4.0) [M]⁺, 398 (27.0) [M - HN⁺]⁺, 397 (100.0) [M - HN⁺ - H]⁺, 370 (23.0) [M - OC-N⁺]⁺, 196 (100.0) [2-PhNH-PhCO]⁺, 168 (5.0) [2-PhNHPh]⁺, 119 (5.0) [2-MePhCO]⁺. Такой характер фрагментации не противоречит предложенной структуре.

Структура соединения **7т** подтверждена РСА (Рисунок 2).

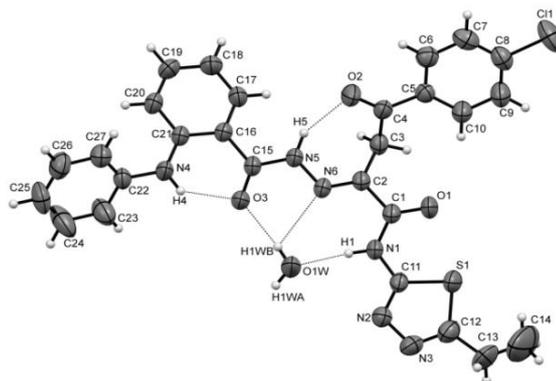


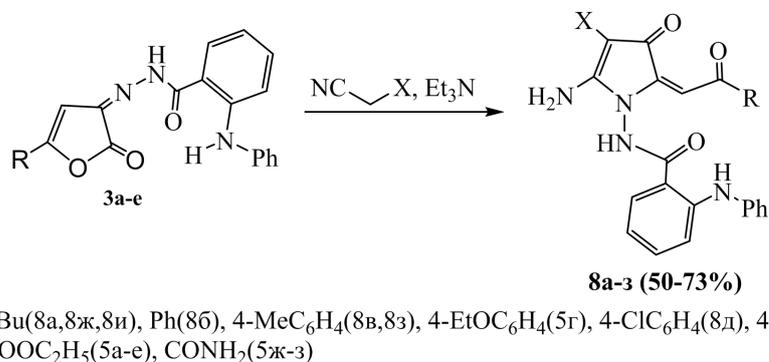
Рисунок 2

3.2.3. Рециклизация 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов под действием производных циануксусной кислоты

С целью исследования химического поведения 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов **3а-е** в реакции с СН-нуклеофилами, а также для поиска новых биологически активных соединений нами изучено их взаимодействие с этилцианоацетатом, амидами циануксусной кислоты, динитрилом

малоновой кислоты. При нагревании эквимольных количеств реагентов в абсолютном толуоле в присутствии каталитических количеств триэтиламина образуются этиловые эфиры, амиды 2-амино-1-(2-фениламинобензамидо)-4-оксо-5-(2-оксо-2-арил/*трет*-бутилэтилиден)-4,5-дигидро-1*H*-пиррол-3-карбоновых кислот **8а-з** (Схема 7).

Схема 7



Полученные соединения **8а-з** представляют собой бесцветные или окрашенные в желтый и оранжевый цвет кристаллические вещества, растворимые в диметилсульфоксиде, диметилформамиде, трудно растворимые в этаноле и нерастворимые в бензоле, воде и гексане.

Структура полученных соединений доказана данными ИК, ЯМР¹H, ЯМР¹³C, масс-спектров и РСА. ИК-спектры синтезированных соединений **8а,в,д,е,ж** характеризуются наличием полос поглощения валентных колебаний NH-групп в области 3204-3479 см⁻¹, карбонильных групп в области 1699-1711 см⁻¹ и 1658-1679 см⁻¹, а также валентных колебаний двойной связи C=C в области 1590-1628 см⁻¹.

При изучении масс-спектра продукта **8ж** наблюдаются пик молекулярного иона m/z 447 (100.0) [M]⁺, а также пики фрагментных ионов с m/z 196 (74.0) [2PhNHPhCO]⁺, 168 (5.5) [2PhNHPh]⁺, доказывающих предложенную структуру.

Структура соединения **8ж** подтверждена РСА (Рисунок 3).

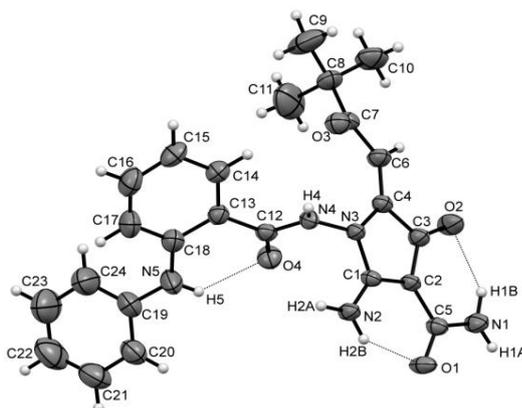


Рисунок 3

Глава 4. Биологическая активность

Синтезированные соединения были исследованы на наличие антибактериальной, противогрибковой, антиноцицептивной, противовоспалительной, цитотоксической активностей и острой токсичности.

4.1. Противомикробная активность

Антибактериальная активность в отношении Гр + штамма *S. aureus* 6538 ATCC и Гр – штамма *E. coli* 25922 ATCC, противогрибковая в отношении *C. albicans* 885-653 ATCC изучена у 22 соединений методом двукратных серийных разведений на кафедре микробиологии ПГФА к.ф.н., доц. Новиковой В.В.

Все исследованные соединения являются либо малоактивными (МПК составляет 250-500 мкг/мл), либо неактивными (1000 мкг/мл). Ни одно из исследованных соединений не превзошло по активности препараты сравнения.

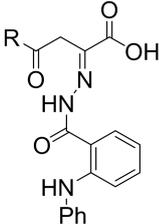
Исключение составляет соединение **8ж**, активность которого превысила противомикробный эффект препарата сравнения диоксидина по отношению к штамму *S. aureus* 6538 ATCC. Исходя из этих данных, поиск веществ с противомикробной и противогрибковой активностью среди производных 4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразонобутановых кислот можно считать нецелесообразным.

4.2. Противовоспалительная активность

Исследование противовоспалительной активности осуществлялось на модели каррагенинового отека на кафедре физиологии ПГФА под руководством доцента, к.м.н. Рудаковой И.П. (таблицы 1–2).

Таблица 1

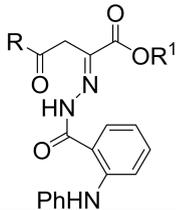
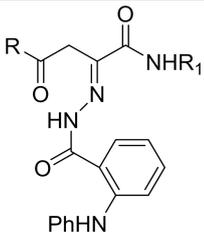
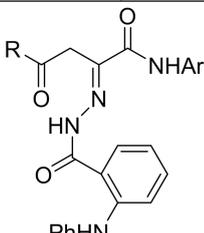
Противовоспалительная активность гидразонокислот

					
Шифр	R ¹	Объем стопы до введения флогогена, мл	Объем стопы через 3 ч, мл	Прирост объема стопы через 3 ч, %	Торможение отека через 3 ч, %
2а	t-Bu	0,94±0,06	1,06±0,08	13,72±3,96* **	79,35
2б	Ph	1,49±0,01	1,77±0,04	19,12±3,05* **	71,24
2в	4-MeC₆H₄	0,96±0,04	1,11±0,10	7,87±2,86***	88,11
2г	4-MeOC ₆ H ₄	1,04±0,07	1,27±0,05	24,72±8,67*	62,81
2д	4-EtOC ₆ H ₄	0,81±0,03	1,18±0,08	47,26±7,40**	28,90
2е	3,4-(MeO)₂C₆H₃	0,94±0,03	1,02±0,03	9,18±4,72***	86,19
2ж	1-нафтил	0,93±0,05	1,21±0,11	31,54±9,98*	52,55
2з	2-нафтил	1,09±0,06	1,29±0,09	14,66±5,94* **	77,94
2и	4-FC ₆ H ₄	0,89±0,03	1,23±0,03	37,52±4,30*	43,55
2к	4-ClC ₆ H ₄	0,85±0,04	1,09±0,06	29,33±6,30*	55,87
2л	4-BrC ₆ H ₄	0,92±0,03	1,31±0,17	41,10±13,10*	38,16
Нимесулид		1,14±0,05	1,53±0,07	33,90±6,78*	48,99
Контроль		0,77±0,05	1,26±0,08	66,47±10,19	–

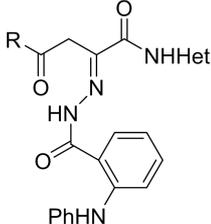
* – значимое отличие показателей от контроля при p<0,05

** – значимое отличие показателей от нимесулида при p<0,05

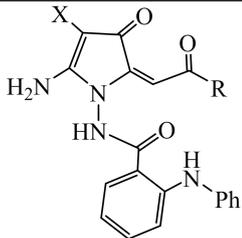
Противовоспалительная активность гидразонэфиров, гидразоноамидов и 2-аминопирролов

						
Шифр	R	R ¹	Объем стопы до введения флогогена, мл	Объем стопы через 3 ч, мл	% прироста объема стопы через 3 ч	Торможение отека через 3 ч, %
4б	Ph	MeO	1,08±0,04	1,47±0,02	36,48±5,06*	45,12
4е	3,4-(MeO) ₂ C ₆ H ₃	MeO	1,10±0,03	1,52±0,05	38,62±3,95*	41,89
4к	t-Bu	EtO	1,12±0,02	1,68±0,03	50,68±2,27**	23,75
4м	4-MeC ₆ H ₄	EtO	1,12±0,05	1,58±0,05	42,89±7,99**	35,47
4н	4-MeOC ₆ H ₄	EtO	1,03±0,03	1,53±0,01	40,03±4,19*	39,78
4о	4-ClC ₆ H ₄	EtO	1,12±0,05	1,63±0,08	47,11±8,80**	29,13
						
5а	t-Bu	CH ₂ Ph	1,21±0,06	1,67±0,08	38,32±0,81*	42,35
5б	Ph	CH ₂ Ph	1,19±0,08	1,62±0,11	36,30±2,52*	45,39
5в	4-MeC ₆ H ₄	CH ₂ Ph	1,08±0,02	1,85±0,06	71,24±5,35**	-7,17
5ж	4-MeC ₆ H ₄	CH ₂ CH ₂ Ph	1,29±0,06	1,93±0,07	49,90±5,70	24,93
5к	3,4-(MeO) ₂ C ₆ H ₃	CH ₂ CH ₂ Ph	1,21±0,08	1,64±0,06	37,00±4,42*	43,88
						
Шифр	R	Ar	Объем стопы до введения флогогена, мл	Объем стопы через 3 ч, мл	Прирост объема стопы через 3 ч, %	Торможение отека через 3 ч, %
6в	4-MeC ₆ H ₄	Ph	1,11±0,04	1,44±0,09	29,39±3,55*	55,78
6д	t-Bu	4-MePh	1,10±0,04	1,60±0,03	59,42±10,81**	10,60
6е	4-MeC ₆ H ₄	4-MePh	1,08±0,08	1,73±0,11	66,48±4,31**	0,00
6з	4-EtOC ₆ H ₄	4-MePh	1,17±0,03	1,40±0,03	19,33±3,75*.*	70,92

Продолжение таблицы 2. Противовоспалительная активность гидразоноэфиров, гидразоноамидов и 2-аминопирролов

Шифр	R	Ar/Het	Объем стопы до введения флогогена, мл	Объем стопы через 3 ч, мл	Прирост объема стопы через 3 ч, %	Торможение отека через 3 ч, %
6и	4-FC ₆ H ₄	4-MePh	1,05±0,04	1,58±0,08	49,85±3,93	25,00
6л	4-BrC ₆ H ₄	4-MePh	1,10±0,04	1,46±0,07	32,45±1,86*	51,18
6м	Ph	4-BrPh	1,12±0,03	1,63±0,07	46,48±9,31*	30,07
						
7в	4-MeC ₆ H ₄	Тиазол-2-ил	1,43±0,07	1,62±0,06	14,59±7,50***	78,05
7г	4-MeOC ₆ H ₄	Тиазол-2-ил	1,36±0,06	1,79±0,04	33,09±8,70*	50,22
7д	4-EtOC ₆ H ₄	Тиазол-2-ил	1,22±0,06	1,57±0,09	29,38±2,80*	55,79
7е	1-нафтил	Тиазол-2-ил	1,18±0,02	1,71±0,02	45,27±3,18*	31,89
7ё	4-ClC ₆ H ₄	Тиазол-2-ил	1,50±0,05	1,78±0,05	18,74±3,41***	71,81
7к	4-MeC ₆ H ₄	1,3,4-тиадиазол-2-ил	1,16±0,05	1,63±0,06	41,70±4,78*	37,26
7л	4-ClC ₆ H ₄	1,3,4-тиадиазол-2-ил	1,08±0,06	1,35±0,10	24,70±3,33*	62,34
7н	Ph	5-этил-1,3,4-тиадиазол-2-ил	1,44±0,11	1,65±0,11	15,45±5,43***	76,75
7о	4-MeC ₆ H ₄	5-этил-1,3,4-тиадиазол-2-ил	1,34±0,12	1,49±0,11	12,83±6,40***	80,69
7п	4-MeOC ₆ H ₄	5-этил-1,3,4-тиадиазол-2-ил	1,33±0,03	2,02±0,07	57,50±5,30**	13,49
7р	4-EtOC ₆ H ₄	5-этил-1,3,4-тиадиазол-2-ил	1,25±0,04	1,47±0,08	17,50±4,60***	73,67
7с	1-нафтил	5-этил-1,3,4-тиадиазол-2-ил	1,17±0,03	1,64±0,03	39,72±2,83*	40,24
7т	4-ClC ₆ H ₄	5-этил-1,3,4-тиадиазол-2-ил	1,07±0,02	1,58±0,05	48,36±6,06	27,24

Продолжение таблицы 2. Противовоспалительная активность гидразоноэфиров, гидразоноамидов и 2-аминопирролов

						
Шифр	R	X	Объем стопы до введения флоггена, мл	Объем стопы через 3 ч, мл	% прироста объема стопы через 3 ч	Торможение отека через 3 ч, %
8а	t-Bu	COOEt	1,23±0,06	1,49±0,09	22,50±3,01***	66,15
8б	Ph	COOEt	1,01±0,02	1,44±0,03	52,36±5,54	21,22
8в	4-MeC ₆ H ₄	COOEt	1,02±0,02	1,48±0,03	44,92±1,52	32,42
8д	4-ClC ₆ H ₄	COOEt	1,01±0,04	1,35±0,06	34,82±3,31*	47,62
8ж	t-Bu	CONH ₂	0,98±0,05	1,47±0,04	51,07±5,89	23,17
8з	4-MeC ₆ H ₄	CONH ₂	1,14±0,04	1,76±0,03	55,48±4,19	16,53
Нимесулид			1,14±0,05	1,53±0,07	33,90±6,78*	48,99
Контроль			0,77±0,05	1,26±0,08	66,47±10,19	–

* – значимое отличие показателей от контроля при $p < 0,05$

** – значимое отличие показателей от нимесулида при $p < 0,05$

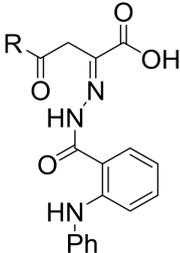
Всего испытаниям на противовоспалительную активность было подвергнуто 48 соединений, все они проявили антифлоггистический эффект разной степени выраженности. Активность 22 изученных соединений превосходит эффект нимесулида либо сопоставима с ним.

4.3. Анальгетическая активность

Определение антиноцицептивной активности проводилось по методике термического раздражения «горячая пластина» и методике «уксусные корчи» на кафедре физиологии ПГФА доцента Рудаковой И.П. и в научно-исследовательской лаборатории биологически активных веществ при ПГНИУ доц. Махмудовым Р.Р. (таблицы 3–4).

Таблица 3

Анальгетическая активность по методике «уксусные корчи»

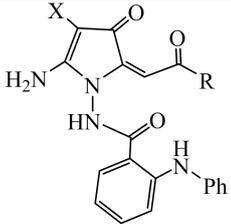
				
Шифр	R ¹	Количество корчей	% уменьшения количества корчей по сравнению с контролем	P по сравнению с контролем
2а	t-Bu	20,5±7,4	33,0	<0,05
2б	Ph	35,5±7,0	-16,0	>0,05
2в	4-MeC ₆ H ₄	7,8±4,8*	74,5	<0,01

Продолжение таблицы 3. Анальгетическая активность по методике «уксусные корчи»

Шифр	R ¹	Количество корчей	% уменьшения количества корчей по сравнению с контролем	P по сравнению с контролем
2г	4-МеОС ₆ Н ₄	30,8±4,8	-0,01	>0,05
2д	4-ЕтОС ₆ Н ₄	24,5±6,6	19,9	<0,05
2е	3,4-(МеО) ₂ С ₆ Н ₃	23,7±7,8	22,5	<0,05
2ж	1-нафтил	6,3±3,1*	79,4	<0,01
2з	2-нафтил	38,5±7,3	-25,8	<0,05
2и	4-FC₆Н₄	0,7±0,6*,**	97,7	<0,001
2к	4-ClC ₆ Н ₄	16,5±5,3	46,0	<0,05
2л	4-BrC ₆ Н ₄	14,2±5,8	53,6	<0,01

Шифр	R	Het	Количество корчей	% уменьшения количества корчей по сравнению с контролем	P по сравнению с контролем
7а	t-Bu	Тиазол-2-ил	18,2 ± 1,22	72,22	<0,05
7в	4-МеС ₆ Н ₄	Тиазол-2-ил	8,9±5,0*	70,9	<0,05
7г	4-МеОС₆Н₄	Тиазол-2-ил	5,3±2,6*	82,7	<0,01
7ё	4-ClC ₆ Н ₄	Тиазол-2-ил	20,2±5,0	33,9	<0,05
7з	t-Bu	4-(4-метил-фенил)- тиазол-2-ил	13,6 ± 1,32	53,97	<0,05
7и	t-Bu	1,3,4-тиадиазол-2- ил	16,6 ± 1,52	65,87	<0,05
7н	Ph	5-этил-1,3,4- тиадиазол-2-ил	36,8±5,9	-0,2	>0,05
7о	4-МеС ₆ Н ₄	5-этил-1,3,4- тиадиазол-2-ил	19,9±4,0	34,9	<0,05
7р	4-ЕтОС ₆ Н ₄	5-этил-1,3,4- тиадиазол-2-ил	10,7±3,4	65,0	<0,05
7т	4-ClC ₆ Н ₄	5-этил-1,3,4- тиадиазол-2-ил	18,8±4,2	38,6	<0,05

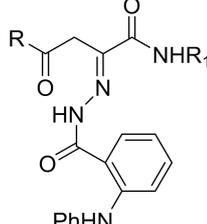
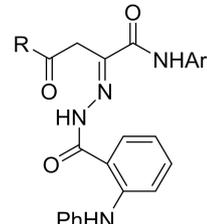
Продолжение таблицы 3. Анальгетическая активность по методике «уксусные корчи»

					
Шифр	R	X	Количество корчей	% уменьшения количества корчей по сравнению с контролем	P по сравнению с контролем
8a	t-Bu	-COOEt	2,6±1,3^{*,**}	91,5	<0,001
8в	4-MeC ₆ H ₄	-COOEt	19,7±6,0	35,6	<0,05
8ж	t-Bu	-CONH ₂	12,5±1,1	59,2	<0,05
Нимесулид			7,5±2,2*	75,4	<0,05
Метамизол натрия			14,0±0,5	54,2	<0,05
Контроль			30,6±5,5	–	–

* – значимое отличие показателей от метамизола натрия при p<0,05;

** – значимое отличие показателей от нимесулида при p<0,05

Таблица 4. Анальгетическая активность по методике «горячая пластина»

					
Шифр	R	R ¹	Доза, мг/кг	Время защитного рефлекса, с	P по сравнению с контролем
5a	t-Bu	PhCH ₂	50	24,68±0,22*	<0,05
5б	Ph	PhCH ₂	50	28,74±0,24* **	<0,05
5в	4-MeC ₆ H ₄	PhCH ₂	50	26,32±1,10*	<0,05
5ж	4-MeC ₆ H ₄	PhCH ₂ CH ₂	50	26,68±0,48*	<0,05
5л	4-BrC ₆ H ₄	PhCH ₂ CH ₂	50	24,44±0,72*	<0,05
					
Шифр	R	Ar	Доза, мг/кг	Время защитного рефлекса, с	P по сравнению с контролем
6в	4-MeC ₆ H ₄	Ph	50	26,52±0,70*	<0,05
6г	4-ClC ₆ H ₄	Ph	50	19,40±0,62**	<0,05
6д	t-Bu	4-MePh	50	26,80±1,36*	<0,05
6е	4-MeC ₆ H ₄	4-MePh	50	24,78±1,28*	<0,05

Продолжение таблицы 4. Анальгетическая активность по методике «горячая пластина»

Шифр	R	Ar/Het	Доза, мг/кг	Время защитного рефлекса, с	P по сравнению с контролем
6ж	4-MeOC ₆ H ₄	4-MePh	50	22,66±0,68	<0,05
6з	4-EtOC ₆ H ₄	4-MePh	50	21,54±0,42	<0,05
6и	4-FC ₆ H ₄	4-MePh	50	19,34±0,88**	<0,05
6к	4-ClC ₆ H ₄	4-MePh	50	20,30±0,54**	<0,05
6л	4-BrC ₆ H ₄	4-MePh	50	22,10±0,78**	<0,05
6о	4-ClC ₆ H ₄	4-BrPh	50	20,38±0,56**	<0,05
7б	Ph	Тиазол-2-ил	50	22,10±0,10*	<0,05
7ж	Ph	4-фенил- тиазол-2-ил	50	23,30±1,06*	<0,05
7й	Ph	1,3,4- тиадиазол-2-ил	50	19,60±0,62**	<0,05
Метамизол натрия			50	16,33±3,02	<0,05
Диклофенак натрия			10	26,20±0,96*	<0,05
Контроль			50	10,10±0,48	

На наличие анальгетической активности было проверено 42 соединения. Из данных, приведенных в таблицах 3 и 4 видно, что 6 соединений по эффективности выше препарата сравнения нимесулида, либо сопоставимы с ним, 2 превосходят по активности диклофенак натрия, фармакологическая активность 17 соединений выше, чем эффект метамизола натрия.

Таким образом, поиск веществ с анальгетической активностью целесообразен среди производных 4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразонобутановых кислот, N-алкил(арил)-4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоилгидразоно)бутанамидов, эфиров и амидов 2-амино-4-оксо-5-(2-оксо-2-R-этилиден-1-(2-фениламино)бензамидо)-4,5-дигидро-1H-пиррол-3-карбоновых кислот.

4.4. Цитотоксическая активность (Z)-этил-2-амино-5-(3,3-диметил-4-оксобутилиден)-4-оксо-1-(2-фениламинобензамидо)-4,5-дигидро-1H-пиррол-3-карбоксилата

Определение цитотоксических свойств синтезированного соединения проводили на кафедре общей патологии Казанского государственного медицинского университета под руководством заведующего кафедрой, д.м.н, профессора Бойчука С. В. и при участии д.б.н., профессора кафедры зоотехнии Пермского института Федеральной службы исполнения наказаний России Зыковой С.С.

Оценка цитотоксической активности проводилась по способности соединения ингибировать рост опухолевых клеточных линий ГИСТ Т-1 и ГИСТ Т-1Res.

Данные результатов колориметрического МТТ-теста показали, что соединение **8a** обладает выраженной цитотоксичностью в отношении опухолевой клеточной линии ГИСТ

T-1 и ГИСТ T-1Res, которая резистентна к таргетному препарату иматинибу (Рисунок 4). Цитотоксический эффект соединения **8a** в концентрации 6,3 мкМ превышал эффект всех исследованных химиопрепаратов.

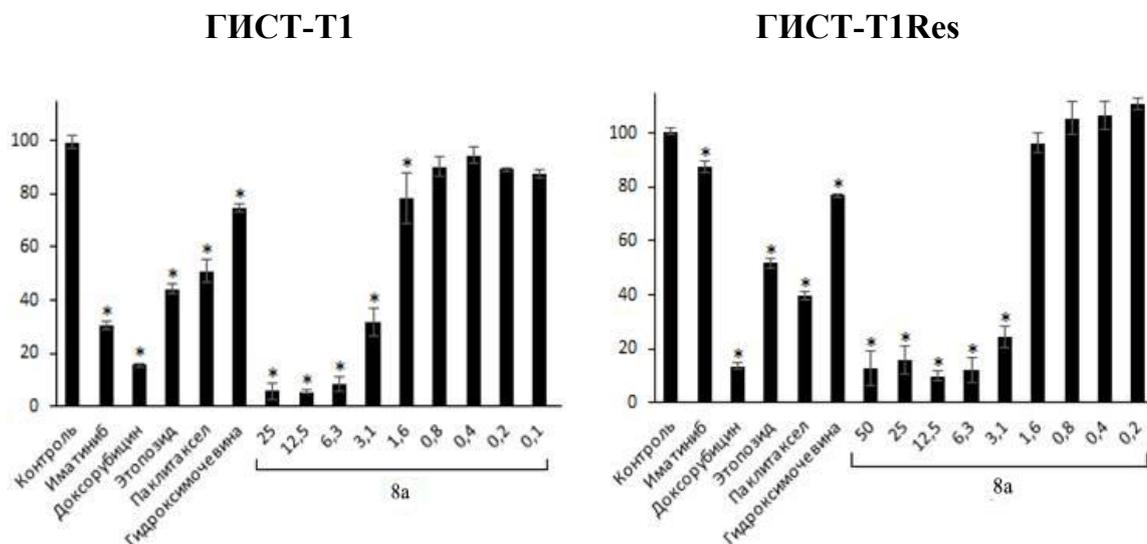


Рисунок 4. Ингибирование роста опухолевых клеток ГИСТ-T1 и ГИСТ-T1Res (в %) после их инкубации с иматинибом, химиопрепаратами и соединением **8a** (0,1-25 мкМ) в течение 48 часов.

Был проведен анализ фаз клеточного цикла с одновременным подсчетом гиподиплоидных (т.е. апоптозных) клеток, так как ранее были обнаружены морфологические изменения в опухолевых клетках ГИСТ, инкубированных с соединением **8a**. Доказано, что инкубация клеток ГИСТ с соединением **8a** приводит к значительному увеличению количества клеток, в фазе G2/M клеточного цикла.

4.5. Острая токсичность

Острая токсичность при внутрибрюшинном пути введения исследована у четырех соединений из групп 2-(2-фениламинобензоилгидразоно)-4-оксобутановых кислот **2в**, **2и**, гетариламидами 4-R-4-оксо-2-(2- фениламинобензоилгидразоно)-4-оксобутановых кислот **7о** и эфиров 2-амино-1-арил-4-оксо-5-(2-оксоэтилиден)-1H-4,5-дигидропиррол-3-карбоновых кислот **8a**, проявивших высокую антиноцицептивную, противовоспалительную и цитотоксическую активность. (Таблица 5).

Таблица 5

Острая токсичность синтезированных соединений **2в**, **2и**, **7о**, **8a** при внутрибрюшинном пути введения.

Шифр	Острая токсичность (LD ₅₀), мг/кг	Класс токсичности (по К.К.Сидорову, 1973)
2в	2580,0 (2100,0 ÷ 3200,0)	5
2и	2930,0 (2200,0 ÷ 3000,0)	5
7о	>3000	6
8a	2240,0 (1800,0 ÷ 2700,0)	5

Как видно из данных таблицы 5, соединения **2в**, **2и** и **8а** являются практически нетоксичными, соединение **7о** относится к относительно безвредным. Исследования показали, что при остром внутрибрюшинном введении всех соединений развивается практически идентичная клиническая картина острого отравления: через 5-15 минут после инъекции наблюдается некоторое угнетение двигательной активности животных, боковое положение, уменьшение частоты дыхательных движений. В течение последующих 2-3 часов развиваются судороги, паралич дыхательных мышц и остановка дыхания. Гибель животных регистрируется в течение первых двух суток. В последующие дни наблюдения у выживших животных поведенческие реакции, двигательная активность, потребление корма и воды нормализуются. В дальнейшем их состояние не отличается от состояния животных контрольных групп.

Глава 5. Экспериментальная химическая часть

Глава включает общие методики синтеза полученных соединений.

Заключение

1. Установлено, что при взаимодействии ацилпировиноградных кислот с гидразидом N-фенилантраниловой кислоты образуются 4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)-гидразинобутановые кислоты.
2. Циклизацией 4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразинобутановых кислот получены 5-замещенные 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразоны 2,3-дигидро-2,3-фурандионов.
3. Показано, что дециклизация 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов под действием первичных и вторичных спиртов, первичных алифатических, ароматических и гетероциклических аминов приводит к образованию алкил-4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразинобутаноатов и N-алкил/арил/гетарил-4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоилгидразино)бутанамидов.
4. В результате реакции 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов с производными циануксусной кислоты получены продукты рециклизации – эфиры и амиды 2-амино-4-оксо-5-(2-оксо-2-R-этилиден-1-(2-фениламино)бензамидо-4,5-дигидро-1*H*-пиррол)-3-карбоновых кислот.
5. При фармакологическом скрининге 59 синтезированных соединений были выявлены вещества, обладающие противовоспалительной, анальгетической и цитотоксической активностью.
6. Для углубленных фармакологических исследований были рекомендованы соединения:
 - а) (*Z*)-этил-2-амино-5-(3,3-диметил-4-оксобутилиден)-4-оксо-1-(2-фениламинобензамидо)-4,5-дигидро-1*H*-пиррол-3-карбоксилат – **8а**, обладающий цитотоксической, анальгетической и противовоспалительной активностью.
 - б) (*Z*)-4-оксо-2-(2-(2-(фениламино)бензоил)гидразинилиден)-4-(*p*-толил)бутановая кислота – **2в**, обладающая противовоспалительной и анальгетической активностью.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Research of anti-inflammatory activity 4-acyl-4-oxo-2-(2-phenylaminobenzoyl)-hydrazonobutanoic acids / I. A. Kizimova, M. A. Demidova, A. S. Degtyareva, A. A. Drobysch // Topical issues of new drugs development: Abstracts of XXV International Scientific and practical conference of young scientists and student. – Kharkiv, 2018. – P. 17–18.
2. Кизимова, И. А. Поиск новых соединений с биологической активностью среди производных 4-ацил-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразобутановых кислот / И. А. Кизимова, С. В. Чащина // Инновации в науке: научный журнал. – Новосибирск, Издательство АНС «СибАК», 2018. – № 8(84). – С. 18-21.
3. Кизимова, И. А. Синтез и исследование анальгетической активности 5,5-диметил-4-оксо-2-(2-фениламинобензоилгидразинил)-N-гетарилгекс-2-енамидов / И. А. Кизимова, Н. М. Игидов, Р. Р. Махмудов, И. Н. Чернов // Современные аспекты химии: материалы V молодежной школы-конференции. – Пермь, 2018 – С. 208-209.
4. **Химия иминофуранов: XVI. Синтез, строение, биологическая активность и циклизация 2-(2-фениламинобензоилгидразоно)-4-оксобутановых кислот / И. А. Кизимова, Н. М. Игидов, С. В. Чащина [и др.] // Журнал органической химии. – 2019. – Т. 55, №. 11. – С. 1737-1745.**
5. Синтез, особенности строения и биологическая активность 4-R-4-оксо-2-[2-(фениламино)бензоил]гидразинилиден-N-гетарилбутанамидов / И. А. Кизимова, Н. М. Игидов, М. В. Дмитриев [и др.] // Журнал общей химии. – 2019. – Т. 89, №. 12. – С. 1820-1828.
6. Синтез и цитостатическая активность (E)-этил-2-амино-5-(3,3-диметил-4-оксобутилиден)-4-оксо-1-(2-фениламинобензамидо)-4,5-дигидро-1H-пиррол-3-карбоксилата / С. С. Зыкова, И. А. Кизимова, А. И. Сюткина [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53, №. 10. – С. 15-18.
7. Синтез и биологическая активность N-алкил(арил)-4-R-оксо-2-(2-фениламинобензоилгидразоно)бутанамидов / И. А. Кизимова, Н. М. Игидов, Р. Р. Махмудов, С. В. Чащина // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2019. – №. 3.
8. Кизимова, И. А. Изучение биологической активности новых производных 4-ацил-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразобутановых кислот [Электронный ресурс] / И. А. Кизимова, С. В. Чащина // Электронный научный журнал «Дневник науки». – 2019. – № 7. – С. 1-12. – URL : http://www.dnevniknauki.ru/images/publications/2019/7/medicine/Chaschina_Kizimova.pdf
9. Исследование биологической активности алкил-4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)-гидразобутаноатов / И. А. Кизимова, Н. М. Игидов, С. В. Чащина, В. В. Новикова // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление развития фармацевтической науки. – 2019. – № 24. – С. 75-77.
10. Синтез биологически активных соединений на основе взаимодействия N-(5-R-2-оксофуран-3(2H)-илиден-2-фениламинобензогидразидов с бензиламином / И. А. Кизимова, Н. М. Игидов, С. В. Чащина, Р. Р. Махмудов // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии создание конкурентоспособных лекарственных средств – приоритетное направление развития фармацевтической науки. – 2019. – № 22. – С. 42-46.

11. Кизимова И. А. Синтез и противовоспалительная активность алкил-4-арил-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразонобутаноатов / И. А. Кизимова, Н. М. Игидов, С. В. Чашина // Поликарбонильные соединения: материалы всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 85-летию Ю. С. Андрейчикова. – Пермь, 2019. – С. 41.
12. Синтез 4-арил-N-(бензо[*d*]тиазол-2-ил)-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразинилиденбутанамидов / И. А. Кизимова, Н. М. Игидов, Е. И. Носкова // Поликарбонильные соединения: материалы всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 85-летию Ю. С. Андрейчикова. – Пермь, 2019. – С. 40.
13. Синтез новых производных 2-аминопирролов реакцией 3-ацилгидразонов 2,3-фурандионов с *SN*-нуклеофилами / И. А. Кизимова, Н. М. Игидов, М. А. Киселев [и др.] // Журнал общей химии. – 2020. – Т. 90, №. 2. – С. 192-198.
14. Взаимодействие N'-[2-оксо-5-R-фуран-3(2*H*)-илиден]ацилгидразидов с первичными и вторичными спиртами / И. А. Кизимова, Н. М. Игидов, М. А. Киселев [и др.] // Журнал общей химии. – 2020. – Т. 90, № 5. – С. 715-722.

Кизимова Ирина Анатольевна (Россия)

Разработаны методы синтеза новых производных 5-замещенных 3-(2-N-фениламинобензоил)гидразонов 2,3-дигидро-2,3-фурандионов: алкил-4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоил)гидразонобутаноатов, N-алкил/арил/гетарил-4-R-4-оксо-2-(2-фениламинобензоилгидразоно)бутанамидов, эфиров и амидов 2-амино-4-оксо-5-(2-оксо-2-R-этилиден-1-(2-фениламино)бензамидо-4,5-дигидро-1*H*-пиррол)-3-карбоновых кислот. Проведены исследования аналгетической, противовоспалительной, антибактериальной, противогрибковой и цитотоксической активности.

Kizimova Irina Anatolyevna (Russia)

Methods for the synthesis of new derivatives of 5-substituted 3-(2-N-phenylaminobenzoyl)hydrazones of 2,3-dihydro-2,3-furandiones have been developed: alkyl-4-R-4-oxo-2-(2-phenylaminobenzoyl)hydrazonobutanoates, N-alkyl/aryl/hetaryl-4-R-4-oxo-2-(2-phenylaminobenzoylhydrazono)butanamides, esters and amides of 2-amino-4-oxo-5-(2-oxo-2-R-ethylidene-1-(2-phenylamino)benzamido-4,5-dihydro-1*H*-pyrrole)-3-carboxylic acids. The research of analgesic, anti-inflammatory, antibacterial, antifungal and cytotoxic activity were carried out.