

На правах рукописи

Рогачёв Сергей Николаевич

**СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 4-АЦИЛ-5-АРИЛ-3-ГИДРОКСИ-
1-[2-(2-ГИДРОКСИЭТОКСИ)ЭТИЛ]-3-ПИРРОЛИН-2-ОНОВ И ИХ АЗОТИСТЫХ
АНАЛОГОВ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Пермь – 2017

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

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор **Гейн Владимир Леонидович**

Официальные оппоненты:

Клен Елена Эдмундовна - доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии, профессор кафедры;

Абашев Георгий Георгиевич - доктор химических наук, старший научный сотрудник, «Институт технической химии Уральского отделения Российской академии наук» - филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, ведущий научный сотрудник

Ведущая организация:

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пятигорск.

Защита диссертации состоится «26» декабря 2017 г. в 12.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2, тел. (342) 233-55-01).

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

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук

Замараева Татьяна Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Одной из важнейших проблем фармацевтической науки, для решения которой осуществляется целенаправленный синтез и поиск биологически активных соединений, является создание малотоксичных и высокоэффективных лекарственных средств.

Интересными объектами для исследования и решения данной проблемы являются функционализированные пиррол-2,3-дионы, а также основной метод их получения – взаимодействие эфиров ацилпировиноградных кислот со смесью ароматического альдегида и различного по своей природе амина. Благодаря большому синтетическому потенциалу данной реакции, путем варьирования исходных реагентов и условий её проведения, ранее были получены 1,4,5-тризамещенные пиррол-2,3-дионы, среди которых обнаружены вещества, обладающие высокой ноотропной, аналгетической, противовоспалительной, противомикробной, противовирусной и гипогликемической активностью.

Принимая во внимание фармакологическую значимость указанного класса соединений, следует отметить, что получение пиррол-2,3-дионов, содержащих в 1 положении гетероцикла гидрофильный 2-(2-гидроксиэтокси)этильный заместитель, а также его азотистые аналоги: 2-(2-гидроксиэтиламино)этильный и 3-(2-гидроксиэтиламино)пропильный заместители не рассматривалось в литературе. Поэтому, представляло интерес изучить взаимодействие метиловых эфиров ацилпировиноградных кислот со смесью ароматического альдегида и 2-(2-аминоэтокси)этанола, 2-(2-гидроксиэтиламино)этиламина и 3-(2-гидроксиэтиламино)пропиламина и определить биологическую активность полученных соединений.

Цель работы. Цель научной работы заключается в разработке общей методологии синтеза новых соединений 5-арил-4-ацил-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-, 1-[2-(2-гидроксиэтиламино)этил]- и 1-[3-(2-гидроксиэтиламино)пропил]-3-пирролин-2-онов. Изучение биологической активности полученных веществ. Выявление зависимости биологической активности полученных соединений от характера заместителей.

Задачи исследования.

1. Изучить трехкомпонентную реакцию метиловых эфиров ацилпировиноградных кислот со смесью ароматического альдегида и 2-(2-аминоэтокси)этанола, 2-(2-гидроксиэтиламино)этиламина и 3-(2-гидроксиэтиламино)пропиламина.
2. Исследовать биологическую активность 5-арил-4-ацил-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов и их азотистых аналогов и установить, каким образом структурные изменения оказывают влияние на биологическую активность полученных соединений.

Научная новизна. Разработана методология трехкомпонентной реакции метиловых эфиров ацилпировиноградных кислот со смесью ароматического альдегида и 2-(2-аминоэтокси)этанола. Осуществлен синтез ранее неизвестных 4,5-дизамещенных-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов и их азотистых аналогов. С помощью ИК -, ЯМР ¹H спектроскопии и масс-спектрометрии установлена структура

полученных соединений. Проведена проверка веществ на антибактериальную, противогрибковую, антигипоксическую, анальгетическую и гипогликемическую активности.

Степень разработанности темы исследования. Тема разработана в пределах, определенных целью и задачами исследования. Сформирована библиотека соединений, имеющих в 1 положении гетероцикла 2-(2-гидроксиэтокси)этильный заместитель, а также его азотистые аналоги. Всего получено 128 соединений, из которых 114 новых, из них 109 веществ подвергнуты фармакологическому скринингу.

Теоретическая и практическая ценность. В ходе исследования разработаны препаративные методики синтеза ранее неизвестных 4,5-дизамещенных-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-, 1-[2-(2-гидроксиэтиламино)этил]- и 1-[3-(2-гидроксиэтиламино)пропил]-3-пирролин-2-онов. Предлагаемый метод прост по выполнению и позволяет планировать и получать соединения с заданной комбинацией заместителей. Из 128 синтезированных соединений 109 подвергнуты фармакологическому скринингу на различные виды биологической активности. Выявлено два вещества с высокой антигипоксической активностью, перспективной для дальнейшего изучения. Результаты диссертационного исследования используются в научно-исследовательской работе кафедры органической химии ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», а также в научно-исследовательской работе кафедры общей и биоорганической химии ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России.

Методология и методы исследования. В работе использовались основные методы синтеза органической и фармацевтической химии, а также методы изучения биологической активности веществ, согласно руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (Хабриев, Р.У.).

Положения, выносимые на защиту:

1. Синтез ранее неизвестных 4,5-дизамещенных-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов.
2. Синтез азотистых аналогов вышеуказанных веществ.
3. Установление структуры полученных соединений на основании ЯМР¹H- и ИК – спектроскопии, масс –спектрометрии.
4. Результаты фармакологических испытаний синтезированных соединений. Установление взаимосвязи их строения с биологической активностью.

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 007419).

Достоверность полученных данных. Результаты исследований получены на современных приборах: ИК-микроскоп IN10 TERMO SCIENTIFIC, спектрофотометр Bruker 500 с рабочей частотой 500,13 МГц, Фурье-спектрометр ЯМР BS-567A с рабочей частотой 100 МГц, спектрометр Finnigan MAT INCOS-50 7890A/5975C с энергией ионизирующих электронов 70 эВ, температуру плавления определяли на приборе Melting

Point M-565. Элементный анализ проведен на приборе Perkin Elmer 2400. Достоверность научных положений и выводов базируется на достаточных по своему объему данных и количеству материала, современных методах исследования и статистической обработке данных. Достоверность и подлинность первичных материалов диссертации не вызывает сомнений, полнота и качество представленных материалов соответствуют теме и содержанию диссертационной работы, текст диссертации также написан лично Рогачёвым Сергеем Николаевичем.

Конкретное участие автора в получении научных результатов. Лично автором выполнялся поиск и анализ данных зарубежной и отечественной научной литературы по методам получения, химическим свойствам и биологической активности замещенных пиррол-2,3-дионов и их производных. Автором выполнен весь химический эксперимент, осуществлена интерпретация результатов физико-химических методов анализа, проведено изучение биологической активности ряда соединений, написаны все статьи и оформлена диссертация.

Публикации. Основные результаты научных исследований отражены в публикациях: 4 статьи в изданиях Перечня ВАК и 5 тезисов докладов на конференциях различного уровня.

Апробация результатов. Материалы диссертационной работы обсуждались на IV Международной конференции «Техническая химия. От теории к практике», посвященной 80-летию со дня рождения чл.-корр. РАН Ю.С. Клячкина (1934 – 2000) (Пермь, 2014); Научной сессии Пермского государственного медицинского университета им. Е.А. Вагнера «Навстречу 100-летию высшего медицинского образования на Урале» (Пермь, 2015); IV Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы химической науки и фармации, посвященная 80-летию В.В. Базыльчика» (Чебоксары, 2015); В Вестнике Пермской государственной фармацевтической академии (Пермь, 2015).

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 160 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, списка литературы, приложения. Диссертация содержит 118 схем, 34 таблицы, 2 рисунка и 1 приложение. Список литературы включает ссылки на 128 работ.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

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

Благодарность.

Автор выражает благодарность к.х.н. Гартману Г.А. (ПГФА, г. Пермь) за проведение исследований соединений методом ЯМР-спектроскопии, к.ф.н. Новиковой В.В. (ПГФА, г. Пермь) за исследования антибактериальной и противогрибковой активностей.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. СИНТЕЗ, ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТЕТРАГИДРОПИРРОЛ-2,3-ДИОНОВ (обзор литературы)

В главе приводятся обобщенные данные литературы по способам синтеза, химическим превращениям и биологической активности тетрагидропиррол-2,3-дионов и их производных.

ГЛАВА 2. СИНТЕЗ 1-[2-(2-ГИДРОКСИЭТОКСИ)ЭТИЛ]-4-АЦИЛ-5-АРИЛ-3-ГИДРОКСИ-3-ПИРРОЛИН-2-ОНОВ

В главе представлены результаты собственных исследований по изучению синтеза 1-[2-(2-гидроксиэтокс)этил]-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов и их азотистых аналогов.

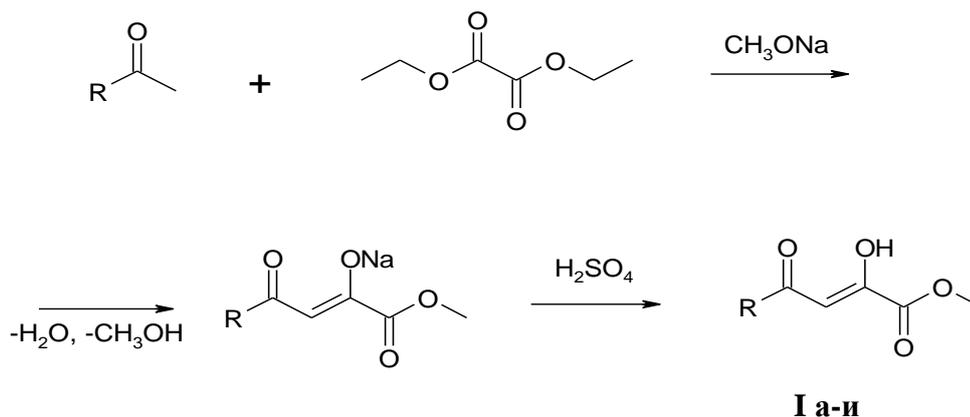
2.1. Постановка задачи

Заместитель в 1 положении влияет на биологические свойства производных пирролин-2,3-дионов. В связи с этим нами была поставлена задача получить новые производные тетрагидропиррол-2,3-дионов с 2-(2-гидроксиэтокс)этильным заместителем в 1 положении и их азотистые аналоги - 2-(2-гидроксиэтиламино)этильным и 3-(2-гидроксиэтиламино)пропильным заместителями в 1 положении гетероцикла, и оценить их влияние на биологическую активность полученных соединений.

2.2. Синтез метиловых эфиров ацилпировиноградных кислот

Синтез метиловых эфиров ацилпировиноградных кислот основан на известной реакции диэтилоксалата, ацетона или ацетофенона в метаноле в присутствии метилата натрия. На первой стадии протекает конденсация Кляйзена и образуется натриевая соль метиловых эфиров ацилпировиноградных кислот, которая под действием серной кислоты превращается в соответствующие эфиры (**I а-и**).

Схема 1



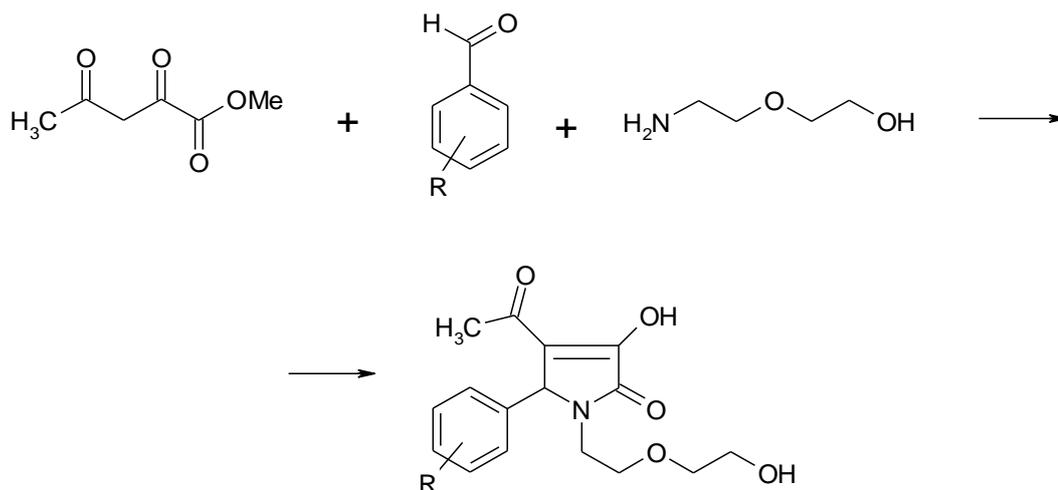
R = CH₃ (а), C₆H₅ (б), 3-NO₂C₆H₄ (в), 4-CH₃OC₆H₄ (г), 4-CH₃C₆H₄ (д), 3,4-(CH₃O)₂C₆H₃ (е), 4-NO₂C₆H₄ (ж), 4-BrC₆H₄ (з), 4-FC₆H₄ (и)

В дальнейшем метиловые эфиры ацилпировиноградных кислот (**I а-и**) использовались нами в трехкомпонентных реакциях.

2.3. Синтез 1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов

С целью синтеза 1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов нами была изучена трехкомпонентная реакция метилового эфира ацетилпировиноградной кислоты со смесью 2-(2-гидроксиэтокси)этиламина и ароматического альдегида. Исследования показали, что при взаимодействии эквимольных количеств исходных веществ в 1,4-диоксане при комнатной температуре образуются 1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (**II а-ж**).

Схема 2



II а-ж

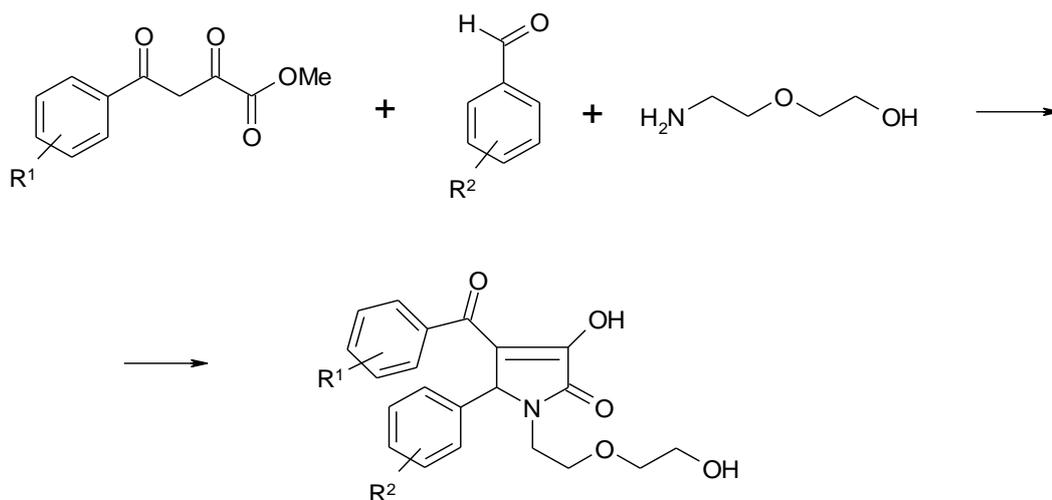
R = H (а), 2-Cl (б), 4-F (в), 3-NO₂ (г), 3-HO (д), 4-C₂H₅ (е), 2-NO₂ (ж)

Полученные соединения (**II а-ж**) представляют собой желтые кристаллические вещества, растворимые в ДМФА, ДМСО, трудно растворимые в этиловом спирте и малорастворимые в воде.

В ИК спектрах соединений (**II а-ж**) присутствуют полосы поглощения, обусловленные валентными колебаниями кетонной карбонильной группы (1635-1640 см⁻¹), лактамной карбонильной группы (1680-1692 см⁻¹), енольного гидроксила (3139-3154 см⁻¹) и спиртовой гидроксильной группы (3420-3432 см⁻¹).

В ЯМР ¹H спектрах соединений (**II а-ж**) присутствуют сигналы ароматических протонов (6,70 - 8,00 м.д.), синглеты протонов енольной гидроксильной группы (11,10 - 11,22 м.д.), метинового протона в положении 5 гетероцикла (5,15 - 5,27 м.д.), метильной группы (2,20 - 2,35 м.д.), спиртового гидроксила (3,58 - 3,63 м.д.), два мультиплета протонов метиленовой группы в положении 1 у атома азота (2,64 - 2,84 и 3,68 - 3,83 м.д.), а также мультиплет трех метиленовых групп (3,25 - 3,70 м.д.).

С целью расширения ряда, используя данную методику, нами была произведена замена метилового эфира ацетилпировиноградной кислоты на метиловые эфиры ароилпировиноградных кислот и получены соответствующие 3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (**III а-л**, **IV а-м**, **V а-э**, **VI а-к**, **VII а-д**, **VIII а-е**).



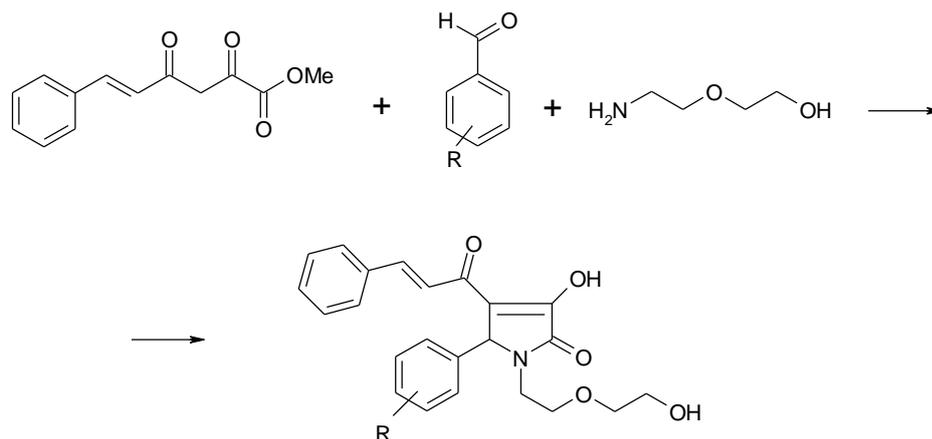
III а-л, IV а-м, V а-э, VI а-к, VII а-д, VIII а-е

$R^1 = \text{H}$ (III а-л), 4- CH_3 (IV а-м), 4- NO_2 (V а-э), 4- $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ (VI а-к), 4- Br (VII а-д), 4- CH_3O (VIII а-е); $R^2 = \text{H}$ (III а, IV а, V а, VI а, VII а, VIII а); 3- HO (III б, VI в); 4- C_2H_5 (III в, V х, VI е); 4- F (III г, VI д); 3- NO_2 (III д, IV д, V г, VIII г); 4- CH_3O (III е, V л, VII д); 3- CH_3O -4- HO (III ж, V п, VI к); 3- Br (III з, IV к, V е, VI б, VIII е); 4- HO (III и, IV л); 2,5- $(\text{CH}_3\text{O})_2$ (III к, V о, VI з); 2,4- $(\text{Cl})_2$ (III л, IV е, V и); 3- CH_3O (IV б); 2- Cl (IV в, V б, VII б, VIII б); 4- Cl (IV г, V в, VIII в); 2- F (IV ж, V д, VI г, VIII д); $\text{RC}_6\text{H}_4 = \text{thiophen-2-yl}$ (IV з); $\text{RC}_6\text{H}_4 = 3\text{-pyridyl}$ (IV и, V щ); 3- HO (IV м); 3- F (V ж, VII в); 4- NO_2 (V з); 4- Br (V к); 3,4- $(\text{CH}_3\text{O})_2$ (V м, VI и); 2,4- $(\text{CH}_3\text{O})_2$ (V н); 2- CH_3O (V п); 4- CH_3O (V с); 4- $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ (V т); 3- $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ -4- HO (V у); 4- CH_3 (V ф, VII г); 3- C_2H_5 (V ц); 4-*i*- C_3H_7 (V ч, VI ж); 4-*tert*- C_4H_9 (V ш); $\text{RC}_6\text{H}_4 = 2\text{-pyridyl}$ (V э)

С целью синтеза 1-[2-(2-гидроксиэтокс)этил]-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов, содержащих в положении 4 циннамоильный или фураноильный заместители нами была изучена трехкомпонентная реакция метилового эфира циннамоилпировиноградной или фураноилпировиноградной кислоты со смесью 2-(2-гидроксиэтокс)этиламина и ароматического альдегида.

Исследования показали, что в случае метилового эфира циннамоилпировиноградной кислоты при взаимодействии эквимольных количеств исходных веществ в 1,4-диоксане при комнатной температуре образуются 1-[2-(2-гидроксиэтокс)этил]-4-циннамоил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (IX а-ж).

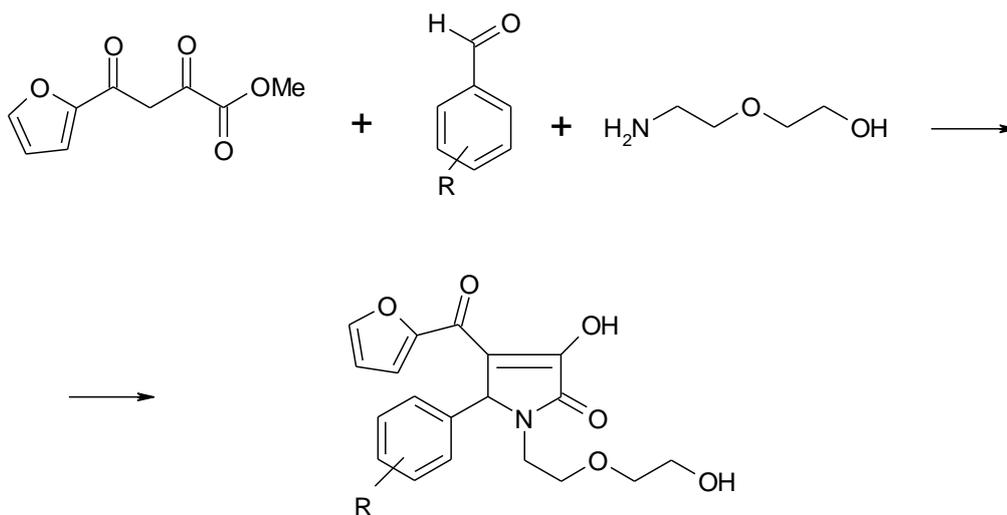
В отличие от соединений рядов (III-VIII) в ЯМР ^1H спектрах соединений (IX а-ж) наблюдается квадруплет протонов $\text{CH}=\text{CH}$ с центром при 7,50-7,56 м.д. с КССВ 6 Гц.



IX а-ж

R = H (а), 3-Br (б), 2-F (в), 4-F (г), 4-*i*-C₃H₇ (д), 4-CH₃O (е), 3,4-(CH₃O)₂ (ж)

В реакции с метиловым эфиром 2-фураноилпировиноградной кислоты образуются 1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-4-(фуран-2-карбонил)-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (X а-з).



X а-з

R = H (а), 4-CH₃ (б), 3-НО (в), 4-НО (г), 4-F (д), 4-*i*-C₃H₇ (е), 4-CH₃O (ж), 4-C₂H₅O (з)

Полученные соединения (III-X) представляют собой желтые или бледно-желтые кристаллические вещества, растворимые в ДМФА, ДМСО, трудно растворимые в этиловом спирте и нерастворимые в воде.

Существование соединений (III-X) в енольной форме доказано с помощью ИК, ЯМР¹H-спектров, а также положительной качественной реакцией со спиртовым раствором хлорида железа (III).

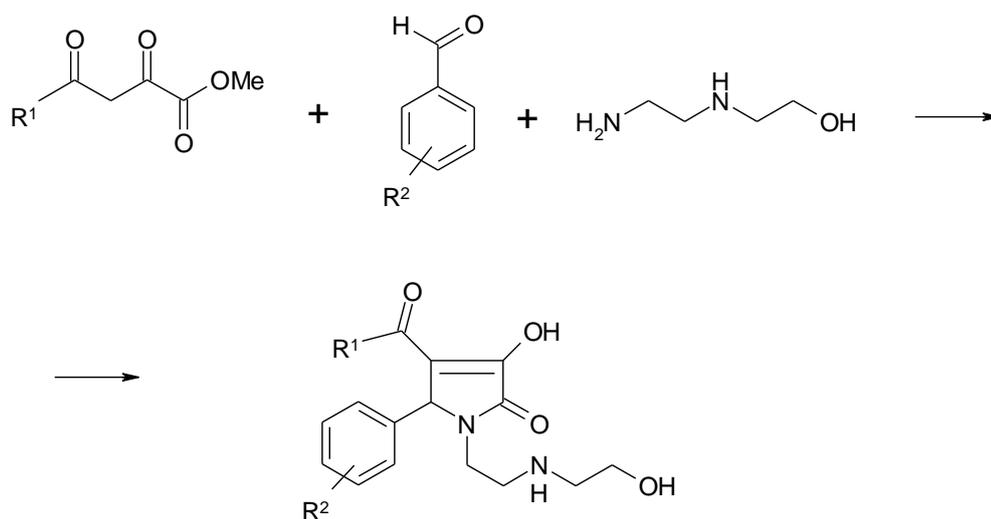
2.4. Синтез 1-[2-(2-гидроксиэтиламино)этил]-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов

С целью синтеза 1-[2-(2-гидроксиэтиламино)этил]-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов нами была изучена трехкомпонентная реакция метиловых эфиров ацилпировиноградных кислот со смесью 2-(2-гидроксиэтиламино)этиламина и ароматического альдегида. Исследования показали, что при взаимодействии эквимольных количеств исходных веществ в 1,4-диоксане при комнатной температуре образуются 1-[2-(2-гидроксиэтиламино)этил]-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (**XI а-ж**, **XII а-е**).

Полученные соединения (**XI а-ж**, **XII а-е**) представляют собой желтые, оранжевые или бесцветные кристаллические вещества, растворимые в ДМФА, ДМСО, трудно растворимые в этиловом спирте и нерастворимые в воде.

В отличие от ЯМР¹H спектров соединений (**II а-ж**, **III а-л**, **IV а-м**, **V а-э**, **VI а-к**, **VII а-д**, **VIII а-е**, **IX а-ж**, **X а-з**) в данном случае дополнительно наблюдается синглет протона вторичной аминогруппы при 9,05-9,15 м.д.

Схема 6

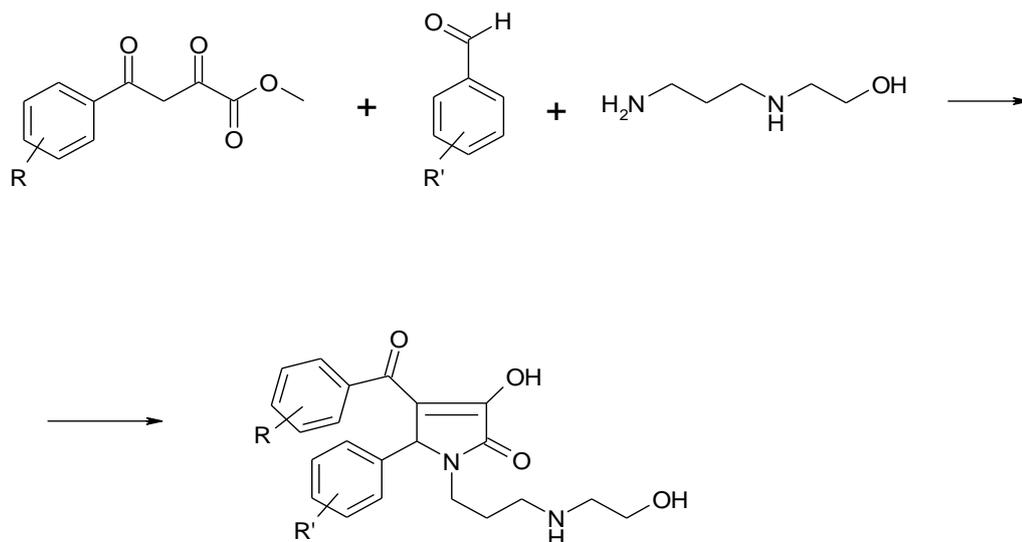


XI а-ж, **XII а-е**

$R^1 = \text{CH}_3$ (**XI а-ж**), $4\text{-ClC}_6\text{H}_4$ (**XII а-е**); $R^2 = 4\text{-CH}_3$ (**XI а**, **XII а**), $3\text{-CH}_3\text{O}$ (**XI б**), $2\text{-CH}_3\text{O}$ (**XI в**), $4\text{-(CH}_3)_3\text{C}$ (**XI г**, **XII в**), $4\text{-C}_2\text{H}_5$ (**XI д**), $4\text{-(CH}_3)_2\text{N}$ (**XI е**), 3-НО (**XI ж**), 4-НО (**XII б**), $4\text{-CH}_3\text{OOC}$ (**XII г**), $4\text{-(CH}_3)_2\text{N}$ (**XII д**), $\text{RC}_6\text{H}_4 = 3\text{-pyridyl}$ (**XII е**)

2.5. Синтез 1-[3-(2-гидроксиэтиламино)пропил]-4-арил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов

С целью синтеза 1-[3-(2-гидроксиэтиламино)пропил]-4-арил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов нами была изучена трехкомпонентная реакция метилового эфира 4-метил(4-метокси)бензоилпировиноградной кислоты со смесью 3-(2-гидроксиэтиламино)пропиламина и ароматического альдегида. Исследования показали, что при взаимодействии эквимольных количеств исходных веществ в 1,4-диоксане при комнатной температуре образуются 1-[3-(2-гидроксиэтиламино)пропил]-4-арил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (**XIII а-о**).



XIII a-o

R = 4-CH₃ (а-ж), 4-CH₃O (з-о); R' = 4-Cl (а, и), 2-Cl (б, к), 3-NO₂ (в, л), 4-F (г, м), 2-CH₃O (д, н), 4-CH₃O (е, о), 4-НО (ж, з)

Полученные соединения (**XIII a-o**) - желтые, оранжевые или бесцветные кристаллические вещества, растворимые в ДМФА, ДМСО, трудно растворимые в этиловом спирте и нерастворимые в воде.

В ЯМР¹H спектрах соединений (**XIII a-o**) в отличие от соединений (**XI a-ж**, **XII a-e**) дополнительно прописывается C²H₂ группа в области 1,75 – 1,95 м.д.

ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В третьей главе приведены методики синтеза полученных соединений, приборы, с помощью которых устанавливалась их структура, а также результаты спектральных методов анализа.

ГЛАВА 4. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Глава включает результаты фармакологических исследований синтезированных соединений. Большинство рядов синтезированных нами соединений были подвергнуты испытаниям на антибактериальную, противогрибковую, анальгетическую, антигипоксическую и гипогликемическую активности.

Испытания на антибактериальную и противогрибковую активности проводилось на кафедре микробиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России под руководством доцента, к.ф.н. Новиковой Валентины Васильевны.

Анальгетическую, антигипоксическую и гипогликемическую активности исследовали на кафедре токсикологической химии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России под руководством профессора, д.ф.н. Малковой Тамары Леонидовны.

Автор принимал непосредственное участие в исследовании веществ на антигипоксическую, анальгетическую, гипогликемическую активности и острую токсичность полученных соединений.

Фармакологическому скринингу на наличие антибактериальной активности подвергнуто 53 соединения, противогрибковой активности – 20, антигипоксической активности – 28, анальгетической активности – 10, гипогликемической активности – 6.

Антибактериальную активность определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде. Для всех испытуемых соединений были определены минимальные подавляющие концентрации (МПК) в отношении фармакопейных штаммов: Gp^+ *S. aureus* ATCC 6538P, Gp^- *E. coli* ATCC 25922. В результате исследований установили, что синтезированные соединения подавляют рост золотистого стафилококка в большей степени, чем рост кишечной палочки. Хотя четкой зависимости увеличения антибактериальной активности от структуры соединений установить не удалось, некоторые выводы сделать можно. Минимальная подавляющая концентрация наиболее активных соединений (**II д, II е, III ж, III к, IV в, IV ж**) составила 250-500 мкг/мл. Относительно высокую активность по сравнению с другими соединениями показали вещества, содержащие в 4 положении гетероцикла ацетильный, бензоильный и 4-метилбензоильный заместители. В качестве препарата сравнения использовали Диоксидин.

Противогрибковую активность определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде Сабуро. Для всех испытуемых соединений были определены МПК в отношении фармакопейного штамма: *C. albicans* ATCC 885-653. Величина МПК 20 испытанных соединений по отношению к тест-микробам составила 500-1000 мкг/мл, что говорит о низкой противогрибковой активности данных соединений. В качестве препарата сравнения использовали Флуконазол.

Антигипоксическую активность исследовали на мышах массой 20-30 г с использованием двух моделей гипоксии разного генеза: модель экзогенной нормобарической гипоксии с последующей гиперкапнией и модель острой гемической гипоксии.

Модель экзогенной нормобарической гипоксии с последующей гиперкапнией: исследуемые химические вещества и препараты сравнения вводили мышам внутривентриально в 0,9% растворе натрия хлорида за 20 минут до опыта. Препараты сравнения – Пирацетам и Мексидол. Животным контрольной группы таким же образом вводили 0,9% раствор натрия хлорида. После 20 минут ожидания животных по одному помещали в герметически закрываемые банки объемом 200 см³. Отсчет времени проводили с момента герметизации банок. Регистрировали время смерти животных.

Острую гемическую гипоксию вызывали внутривентриальным введением метгемоглобинообразователя нитрита натрия в дозе 100 мг/кг. Исследуемые соединения и эталон сравнения в дозе 100 мг/кг вводили внутривентриально в виде суспензии с изотоническим раствором хлорида натрия за 30 мин до начала эксперимента. Регистрировали количество выживших и погибших животных (%).

В результате исследования методом нормобарической гипоксии было установлено, что соединения (**III а, б, г, д, з, и**) показали выраженную антигипоксическую активность. Соединения (**III а, з**) значительно превосходят препараты сравнения – Пирацетам и Мексидол. Результаты исследования методом гемической гипоксии показали высокую

активность веществ (**III а, д, з**). Результаты веществ (**III д, з**) значительно превосходили результаты препарата сравнения. Вероятно, это связано с наличием соответствующих заместителей (NO_2 , Br) в мета-положении фенильного кольца в 5 положении гетероцикла. Перспективно дальнейшее исследование рядов с данными заместителями. Также следует отметить снижение антигипоксической активности у ряда веществ с 4-нитробензоильным заместителем в 4 положении гетероцикла.

Вещества (**III а, з**) являются перспективными для дальнейшего, более глубокого изучения.

Анальгетическую активность изучали методом «горячая пластинка». Исследуемые соединения вводили в дозе 100 мг/кг внутривентриально в виде взвеси в 2% крахмальной слизи. Испытаниям подвергались 10 соединений ряда 4,5-дизамещенных 1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов. В результате исследования, вещества показали низкую анальгетическую активность. В дальнейшем нецелесообразно исследовать пиррол-2,3-дионы с данным заместителем в 1 положении гетероцикла на анальгетическую активность.

Гипогликемическую активность изучали на интактных белых нелинейных крысах массой 150-225 г, сгруппированных в серии по 6 голов. Изучаемые соединения вводили внутривентриально на 1% крахмальной слизи в скрининговой дозе 25 мг/кг. В контроле животным вводили эквивалентные количества крахмальной слизи.

Содержание глюкозы в крови животных определяли глюкозооксидазным методом на биохимическом анализаторе Stat Fax 4500 до, а также спустя 3 и 5 часов после введения веществ. Препаратами сравнения служили пероральные противодиабетические средства гликлазид (группа сульфонилмочевины) и метформин (группа бигуанида).

Испытаниям подверглись 6 соединений, среди которых присутствовали соединения ряда 1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-4-(4-нитробензоил)-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов (**V в, г**) и их азотистые аналоги по заместителю в 1 положении: 1-[2-(2-гидроксиэтиламино)этил]-4-арил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (**XI в, ж**) и 1-[3-(2-гидроксиэтиламино)пропил]-4-арил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (**XIII д, ж**).

В ряду производных 1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-4-(4-нитробензоил)-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов достоверное гликемическое действие отмечено у соединения (**V г**). Уменьшение глюкозы в крови животных составило на 24,4% за 3 часа и 15,6% за 5 часов. В ряду производных 1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-4-(4-метилбензоил)-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов достоверное гипогликемическое действие отмечено у соединения (**XIII ж**). Он обладал наиболее выраженным гипогликемическим действием, снижая уровень сахара на 10,6% за 3 часа и на 23,4% за 5 часов. Вероятно, это связано с наличием в 5 положении гетероцикла фенильного заместителя с гидроксильной группой в 4 положении.

Таким образом, дальнейший поиск соединений с гипогликемической активностью перспективен в рядах 3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с 2-(2-гидроксиэтиламино)этильным и 3-(2-гидроксиэтиламино)пропильным заместителями в 1 положении гетероцикла.

Острую токсичность определяли на нелинейных мышах массой 18-22 г. по экспресс-методу Прозоровского В.Б.. Исследуемые соединения вводили перорально в виде взвеси в 2% крахмальной слизи. Регистрировали количество погибших животных. Проведенные исследования показали, что испытываемые соединения относятся к 4 классу токсичности, то есть являются малотоксичными по классификации К.К. Сидорова.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработана общая методология формирования 4,5-дизамещенных-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов на основе трехкомпонентной реакции метиловых эфиров ацилпировиноградных кислот со смесью ароматического альдегида и 2-(2-гидроксиэтокси)этиламина.
2. Обнаружено, что замена 2-(2-гидроксиэтокси)этиламина на 2-(2-гидроксиэтиламино)этиламин или 3-(2-гидроксиэтиламино)пропиламин приводит к образованию 1-[2-(2-гидроксиэтиламино)этил]-4-ацил- и 1-[3-(2-гидроксиэтиламино)пропил]-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов соответственно.
3. Изучена биологическая активность 1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил] замещенных пиррол-2,3-диононов и их азотистых аналогов. Соединения исследованы на антибактериальную, противогрибковую, антигипоксическую, анальгетическую, гипогликемическую активности.
4. Для дальнейших углубленных исследований предложены малотоксичные соединения: III а, з, обладающие высокой антигипоксической активностью.

Основное содержание диссертационной работы опубликовано в работах:

1. Синтез и противомикробная активность 5-арил-4-ацил-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов / В.Л. Гейн, С.Н. Рогачёв, Т.Ф. Одегова [и др.] // Хим. - фармац. журн. – 2015. – Т. 49, № 3. – С. 32 - 34.
2. Синтез и антигипоксическая активность 5-арил-4-ароил-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов / В.Л. Гейн, С.Н. Рогачёв, А.А. Бобылева [и др.] // Журн. общей химии. – 2015. – Т. 85, № 11. – С. 1826 - 1829.
3. Синтез и противомикробная активность 5-арил-4-ароил-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов / В.Л. Гейн, С.Н. Рогачёв, А.А. Бобылева [и др.] // Бутлеровские сообщения. – 2015. – Т. 43, № 7. – С. 40 - 42.
4. Синтез и связь между структурой и антигипоксической активностью 5-арил-4-бензоил-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов / В.Л. Гейн, С.Н. Рогачёв, А.А. Бобылева [и др.] // Бутлеровские сообщения. – 2015. – Т. 44, № 10. – С. 136 - 138.
5. Рогачёв, С.Н. Синтез 5-арил-4-бензоил-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов / С.Н. Рогачёв, В.Л. Гейн // Техническая химия. От теории к практике: IV Международная конференция, посвященная 80-летию со дня рождения чл.-корр. РАН Ю.С. Клячкина (1934 – 2000): [тез.докл.]. – Пермь, 2014. – С. 146.
6. Синтез и противомикробная активность 5-арил-4-ацил-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов / В.Л. Гейн, С.Н. Рогачёв, Т.Ф. Одегова [и др.] // Научная сессия Пермского государственного медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера: [тез.докл.]. – Пермь, 2015. – С. 105 - 107.
7. Рогачёв, С.Н. Синтез и антигипоксическая активность 5-арил-4-ароил-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов / С.Н. Рогачёв, Д.Ю. Апушкин, В.Л. Гейн // Современные проблемы химической науки и фармации: IV Всероссийская конференция с международным участием: [тез.докл.]. – Чебоксары, 2015. – С. 124 - 126.
8. Рогачёв, С.Н. Синтез и антигипоксическая активность 5-арил-4-ароил-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов / С.Н. Рогачёв, Д.Ю. Апушкин // Вестн. Перм. гос. фармац. акад: – Пермь, 2015. – № 15. – С. 154 - 155.
9. Рогачёв, С.Н. Синтез и противомикробная активность 5-арил-4-ароил-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-онов / С.Н. Рогачёв, В.В. Новикова, А.А. Бобылева // Вестн. Перм. гос. фармац. акад: – Пермь, 2015. – № 15. – С. 156 - 157.

Резюме

Трехкомпонентной реакцией метиловых эфиров ацилпировиноградных кислот со смесью ароматического альдегида и 2-(2-аминоэтокси)этанола, (2-(2-гидроксиэтиламино)этиламина и 3-(2-гидроксиэтиламино) пропиламина) синтезированы ранее неизвестные 4,5-дизамещенные-3-гидрокси-1-[2-(2-гидроксиэтокси)этил]-3-пирролин-2-оны и их азотистые аналоги. Проведена проверка веществ на антибактериальную, противогрибковую, антигипоксическую, анальгетическую, гипогликемическую активности.

Resume

Three-component reaction of methyl esters of acylpyruvic acids with a mixture of aromatic aldehyde and 2-(2-aminoethoxy)ethanol (2-(2-hydroxyethylamino)ethylamine and 3-(2-hydroxyethylamino) propylamine) synthesized previously unknown 4,5-disubstituted 3-hydroxy-1-[2-(2-hydroxyetoxy)ethyl]-3-pirrolin-2-ones and their nitrogen analogues. The substances were tested for antibacterial, antifungal, antihypoxic, analgesic, hypoglycemic activity.