

На правах рукописи

Король Андрей Николаевич

**СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
1-ГИДРОКСИАЛКИЛ-4-АЦИЛ-5-АРИЛ(2-ГЕТЕРИЛ)-
3-ГИДРОКСИ-3-ПИРРОЛИН-2-ОНОВ**

Специальность 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Пермь 2015

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

Научный руководитель:

Гейн Владимир Леонидович доктор химических наук, профессор ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России

Научный консультант:

Сыропятов Борис Яковлевич доктор медицинских наук, профессор 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 химико-фармацевтического факультета

Абашев Георгий Георгиевич доктор химических наук, профессор, ФГБУН «Институт технической химии УрО РАН», ведущий научный сотрудник

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет».

Защита состоится 09 июня 2015 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2. Тел./факс (342) 233-55-01.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» 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> 05 марта 2015 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 Д 208.068.01

Н.В. Слепова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Важнейшими задачами фармацевтической химии являются моделирование, синтез и изучение свойств новых химических соединений с высокой биологической активностью и малой токсичностью. С этой точки зрения 3-гидрокси-3-пирролин-2-оны, их производные и полученные на их основе конденсированные системы гетероциклов, представляют собой один из перспективных для изучения классов органических веществ. Структура данных соединений представлена во фрагментах многих известных лекарственных соединений (пиррацетам, атропин, цианокобаламин, глимепирид, имипенем, линкомицин, клиндамицин, каптоприл, эналаприл), в сложных молекулах оксиредуктаз, ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции (пирролин-5-карбоксилат-редуктаза, 1-пирролин-5-карбоксилат-дегидрогеназа). Среди 3-гидрокси-3-пирролин-2-онов и их производных обнаружены вещества с различными видами биологической активности, в частности, ноотропной, противовоспалительной, анальгетической, антимикробной, антиагрегантной и противовирусной. Установлена зависимость между химическими свойствами, характером заместителя в положении 1 гетероцикла и биологической активностью. В продолжение синтеза новых биологически активных веществ, среди 1-замещенных 3-гидрокси-3-пирролин-2-онов представляло интерес введение в положение 1 гетероцикла гидроксиметильного, 2-гидроксиэтильного, 3-гидроксипропильного и 2-гидроксипропильного заместителей и изучение их влияния на химические свойства и биологическую активность 1-(гидроксиметил-, 2-гидроксиэтил-, 3-гидроксипропил-, 2-гидроксипропил)-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов.

Цель работы. Целью данной работы является исследование и разработка методик синтеза соединений ряда 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов, получение на их основе новых гетероциклических соединений, изучение их свойств и биологической активности, а также оценка биологической активности в зависимости от строения синтезированных веществ.

Задачи исследования. Для достижения поставленной цели предстояло решить следующие задачи:

1. Разработать простые препаративные методики синтеза 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов.
2. Исследовать взаимодействие синтезированных 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с моно- и бинуклеофильными реагентами.
3. Провести первичный фармакологический скрининг полученных соединений, проанализировать его результаты, установить взаимосвязь структуры и биологического действия веществ.
4. На основе полученных данных выявить наиболее перспективные вещества для дальнейшего изучения в качестве потенциальных лекарственных средств.

Научная новизна. Изучена трехкомпонентная реакция метиловых эфиров ацилпировиноградных кислот со смесью ароматического или гетероциклического альдегида и этаноламина, 3-аминопропанола и 1-амино-2-пропанола.

Разработан препаративная методика синтеза ранее неизвестных 1-гидроксиметил-4-ацетил-5-арил(2-пиридил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов на основе реакции формальдегида и 4-ацетил-5-арил(2-пиридил)-1Н-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов. Последние были получены трехкомпонентной реакцией метилового эфира ацилпировиноградной кислоты, ароматического или гетероциклического альдегида и ацетата аммония.

С целью сравнения характера влияния заместителя в 1 положении 3-гидрокси-3-пирролин-2-она реакцией метилового эфира ацетилпировиноградной кислоты со смесью ароматического альдегида и 2-этилгексиламина были получены 1-(2-этилгексил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны.

Исследованы химические свойства синтезированных 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с различными моно- и бинуклеофилами. Установлено, что при взаимодействии с 4-ароил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онами нуклеофильные реагенты атакуют енолизированную карбонильную группу в 3 положении гетероцикла с образованием ранее неизвестных 3-алкил и 3-ариламинопроизводных 3-пирролин-2-онов. В реакциях с 4-ацетил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онами нуклеофильная атака переносится на карбонильную группу ацетильного фрагмента с образованием 4-(1-ариламиноэтилиден)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов.

Установлено, что при взаимодействии 1-(3-гидроксипропил)-4-ацетил-5-фенил-3-гидрокси-3-пирролин-2-он с анилином в ледяной уксусной кислоте, помимо аминирования карбонильной группы ацетильного фрагмента, идет ацилирование гидроксипропильной цепи с образованием 1-(3-ацетоксипропил)-4-(1-фениламиноэтилиден)-5-фенил-3-гидрокси-3-пирролин-2-она. Без добавления ароматического амина происходит только ацилирование с образованием 1-(3-ацетоксипропил) производных. В среде диоксана ацилирование исходных 3-гидрокси-3-пирролин-2-онов не происходит.

Обнаружено что реакция 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-она с гидразингидратом на первой стадии проходит по третьему положению гетероцикла с образованием 3-гидразона, который при нагревании циклизуется с образованием конденсированной гетероциклической системы пирроло[3,4-с]пиразола. По третьему положению гетероцикла идет и реакция 1-(2-гидроксиэтил)-4-фторбензоил-5-(4-фторфенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-она с мочевиной, с образованием 3-аминопроизводного.

Взаимодействием 1-(3-гидроксипропил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с гидразидами арил(гетерил)карбоновых кислот получены 1-(3-гидроксипропил)-4-(1-арил(гетерил)карбоксихидрозидэтилиден)-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны.

С помощью спектральных методов анализа, таких как ЯМР ^1H , ИК- спектроскопии, масс-спектрометрии установлена структура полученных соединений. Осуществлен синтез 122-х новых соединений, 79 из которых подвергнуты испытаниям на различные виды фармакологической активности. Получены и проанализированы результаты антимикробной, противогрибковой, противовоспалительной, анальгетической, антигипоксической, ноотропной активностей, острой токсичности синтезированных веществ. Выявлен ряд закономерностей между структурой и биологическим действием полученных веществ, 2 соединения рекомендованы для дальнейшего фармакологического изучения.

Практическая значимость. Разработаны препаративные методики синтеза ранее неизвестных 1-(гидроксиметил-, 2-гидроксиэтил-, 3-гидроксипропил-, 2-гидроксипропил, 2-этилгексил)-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов, 1-гидроксиалкил-4-(1-ариламиноэтилиден)-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов, 1-(2-гидроксиэтил)-4-ароил-5-арил(фенил)-3-арил(этил)амино-3-пирролин-2-онов, 1-(3-ацетоксипропил)-4-ацетил(1-фениламиноэтилиден)-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов, 1-(2-гидроксиэтил)-4-(4-фторбензоил)-5-(4-фторфенил)-3-амино-3-пирролин-2-онов, 3-арил(метил,2-тиенил)-4-арил(2-гетерил)-5-гидроксиалкил-4,6-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-6-онов, 1-(3-гидроксипропил)-4-(1-арил(гетерил)карбоксихидрозидэтилиден)-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы обсуждались на школе-конференции молодых ученых, посвященной 80-летию химического факультета Пермского государственного национального исследовательского университета «Современные проблемы фундаментальной и прикладной химии» (Пермь, 2011); на III Международной конференции Института технической химии УрО РАН «Техническая химия, от теории к практике» (Пермь, 2012); Российской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Современные проблемы фармацевтической науки», посвященной 75-летию ПГФА (Пермь, 2012); Российской научно-практической конференции студентов и молодых ученых ПГФА «Тенденции и инновации современной фармацевтической науки» (Пермь, 2014); научно-практической конференции с международным участием «Создание конкурентоспособных лекарственных средств - приоритетное направление инновационного развития фармацевтической науки» (Пермь, 2014).

Публикации. Основные результаты научных исследований отражены в 9-ти публикациях: 4 статьи, 3 из которых опубликованы в изданиях перечня ВАК и 5 тезисов докладов на конференциях различного уровня.

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). Тема утверждена на заседании Ученого совета Пермской государственной фармацевтической академии, протокол № 3 от 25 ноября 2010 года.

Личное участие автора в получении научных результатов.

Изучены и обобщены данные отечественной и зарубежной литературы по методам синтеза пиррол-2,3-дионов, их свойствам и биологической активности. Синтезировано 122 неописанных ранее соединения, структура которых подтверждена данными ЯМР ^1H , ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии. Непосредственно изучена антигипоксическая и ноотропная активность у 7-ми синтезированных соединений, у 3-х определена острая токсичность. Проведена статистическая обработка полученных результатов. Проведен анализ результатов изучения химической и биологической активности, на основании которого подготовлены и опубликованы научные статьи и тезисы.

Объем и структура диссертации. Содержание работы изложено на 182 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, рекомендаций, библиографического списка, включающего 169 работ отечественных и зарубежных авторов. Диссертация содержит 37 таблиц, 20 схем.

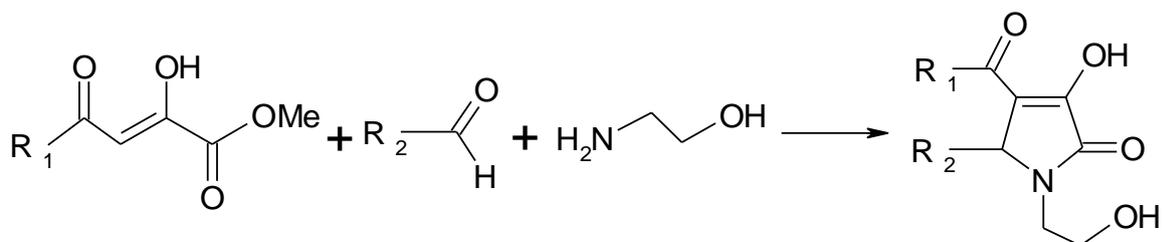
Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют области специальности, конкретно пунктам 2 и 3 паспорта фармацевтическая химия,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

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Синтез 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов.
2. Взаимодействие синтезированных соединений с моно- и бинуклеофильными реагентами.
3. Установление структуры полученных соединений на основании ЯМР ^1H , ИК спектроскопии, масс-спектрометрии.
4. Результаты фармакологических испытаний синтезированных соединений. Установление взаимосвязи их строения с активностью.

С целью синтеза 1-(2-гидроксиэтил)-4-ацил-5-арил(2-пиридил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов нами была изучена трехкомпонентная реакция метилового эфира ацилпировиноградной кислоты со смесью ароматического и гетероциклического альдегида и этаноламина. При смешивании и нагревании эквимольных количеств исходных реагентов в диоксане были выделены 1-(2-гидроксиэтил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (III а-к), с выходом 44 - 75 %, 1-(2-гидроксиэтил)-4-ароил-5-арил(2-пиридил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (IV а-я), с выходом 43 - 95 %, и 1-(2-гидроксиэтил)-4-циннамоил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (V а-д), с выходом 74 - 86 % (Схема 3).

Схема 3



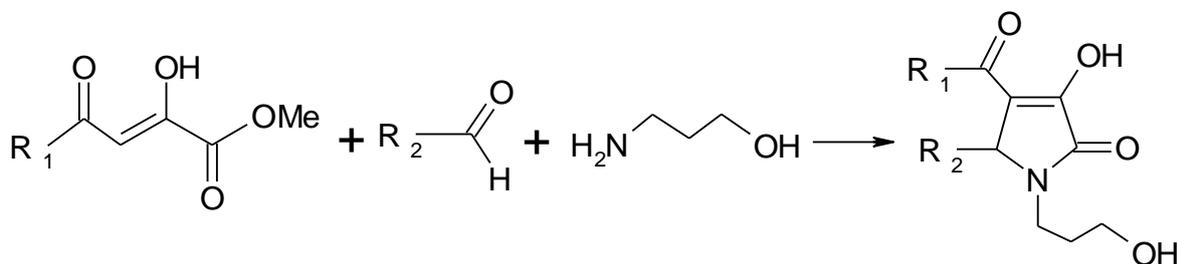
III а-к, IV а-я, V а-д

$R_1 = \text{Me}$ (III а-к), Ph (IV а-е), p-Tol (IV ж-к), 4-MeOC₆H₄ (IV л), 3,4-(MeO)₂C₆H₃ (IV м, н), 4-EtOC₆H₄ (IV о-с), 4-BrC₆H₄ (IV т-х), 4-ClC₆H₄ (IV ц), 3,4-Cl₂C₆H₃ (IV ч-ш), 4-FC₆H₄ (IV ы, э), 4-NO₂C₆H₄ (IV ю, я), PhCH=CH (V а-д).

$R_2 = \text{Ph}$ (III а, IV а, ж, о, т, ч), p-Tol (IV у, V а), 4-НОС₆H₄ (IV з, м, п), 3-МеО-4-НОС₆H₃ (IV л), 4-МеОС₆H₄ (III б, IV б, и, н, р, ш), 3,4-(МеО)₂C₆H₃ (III в, IV в, ф, ю), 2,4-(МеО)₂C₆H₃ (IV ц), 3,4-(ОСН₂О)₂C₆H₃ (IV х), 4-BrC₆H₄ (III г, IV г), 4-ClC₆H₄ (III д, IV д, к, щ, V б), 4-FC₆H₄ (III е, IV с, ы), 3-FC₆H₄ (V в), 2-FC₆H₄ (III ж, IV я), 4-NO₂C₆H₄ (III з, V г), 3-NO₂C₆H₄ (III и, IV е, V д), 2-NO₂C₆H₄ (III к). 2-Пу (IV э).

С целью введения в 1 положение гетероцикла гидроксипропильного фрагмента нами была изучена трехкомпонентная реакция метилового эфира ацилпировиноградной кислоты со смесью ароматического или гетероциклического альдегида и 3-аминопропанола. Реакцией эквимольных количеств реагентов в диоксане были получены 1-(3-гидроксипропил)-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (VI а-т), с выходом 44 - 98 % (Схема 4).

Схема 4



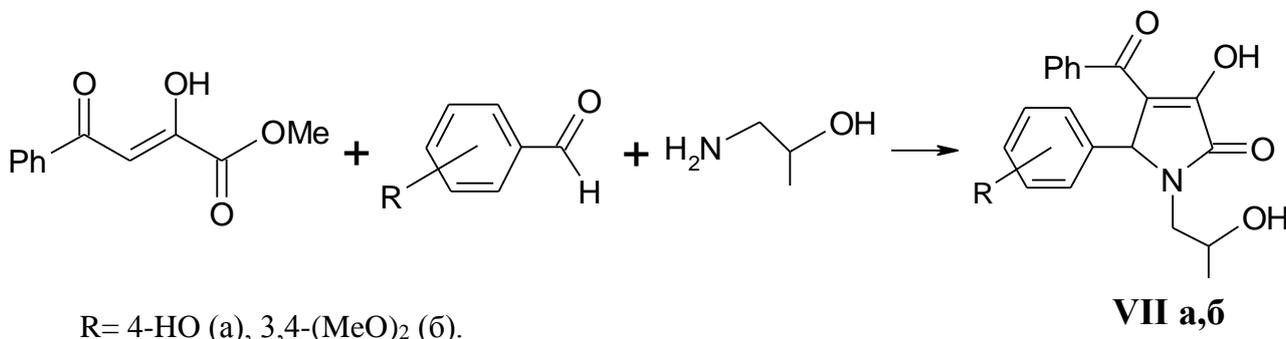
VI а-т

$R_1 = \text{Me}$ (р-т), Ph (а, б), p-Tol (в), 4-MeOC₆H₄ (г-ж), 3-МеОС₆H₄ (з), 2,4-Cl₂C₆H₃ (и), 4-FC₆H₄ (к, л), 4-NO₂C₆H₄ (м, н), 2-тиенил (о, п);

$R_2 = \text{Ph}$ (р), 3-МеО-4-НОС₆H₃ (о), 4-МеОС₆H₄ (а, г, з), 4-МеООСС₆H₄ (д, м), 4-ClC₆H₄ (с), 2-ClC₆H₄ (п), 3-NO₂C₆H₄ (б, е, т), 2-Пу (ж, и, к, л, н), 2-Fu (л), 2-тиенил (в)

Замена 3-аминопропанола на 1-амино-2-пропанол в трехкомпонентной реакции с метиловым эфиром бензоилпировиноградной кислоты и ароматическим альдегидом в среде диоксана при нагревании привело к образованию 1-(2-гидроксипропил)-4-бензоил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов (VII а, б), с выходом 11, 45 % (Схема 5).

Схема 5



Полученные соединения (I-VII) представляют собой белые, кремовые (V в), желтые (IV п, х, ш; V а, б, г), коричневые (III к; IV щ; V д), розовые (III а, б, г-е, з, и) кристаллические вещества растворимые в ДМФА и ДМСО, при нагревании в этаноле и диоксане, и нерастворимые в воде.

Структура полученных соединений (I-VII) подтверждена с помощью ИК, ЯМР ¹H-спектроскопии, а также с помощью масс-спектрометрии.

В ИК спектрах соединений (I-VII) наблюдаются полосы поглощения, обусловленные валентными колебаниями кетонной карбонильной группы при 1596 - 1660 см⁻¹, лактамной карбонильной группы при 1668 - 1710 см⁻¹, енольной гидроксильной группы при 3020 - 3200 см⁻¹ и алифатической гидроксильной группы при 3310 - 3590 см⁻¹ (у соединений I - третичной аминогруппы при 3310-3390 см⁻¹).

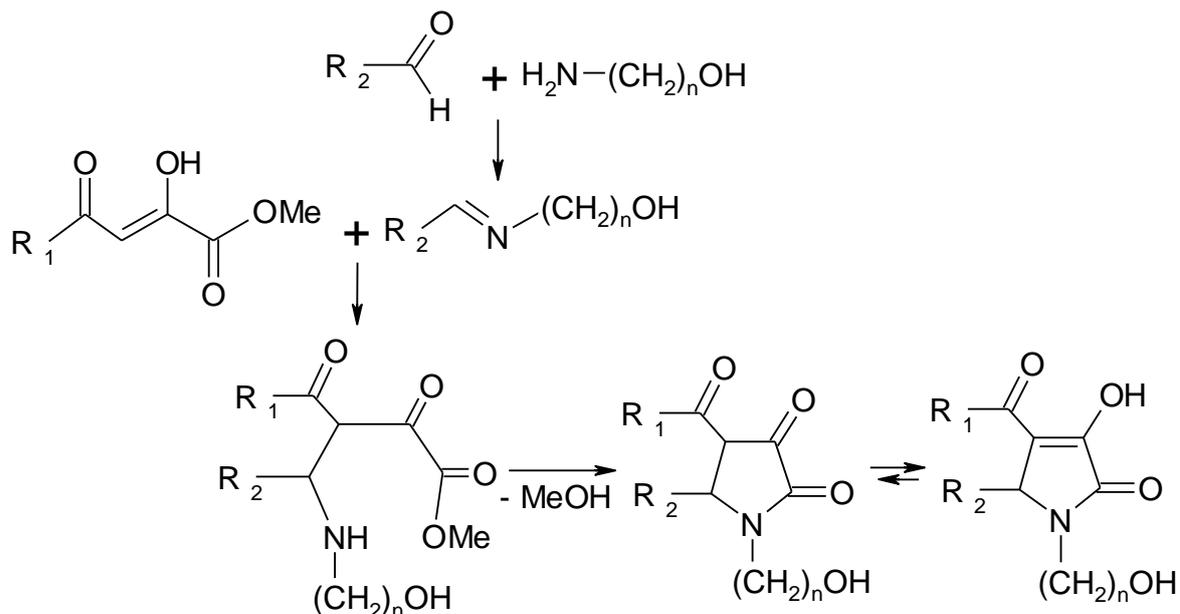
В ЯМР ¹H-спектрах соединений (I-VII) присутствуют сигналы ароматических протонов в области 6,32 - 8,68 м.д., характерный синглет метинового протона в положении 5 гетероцикла в области 5,08 - 5,97 м.д., два мультиплета протонов метиленовой группы в положении α алифатической цепи у атома азота в области 2,57 - 2,72 м.д. (С^αН_АН_ВО) и 3,59 - 3,71 м.д. (С^αН_АН_ВО), (у соединений VI в области 2,63 - 2,97 м.д. и 3,42 - 3,62 м.д.; у соединений II - два дублета в области 3,78 - 4,05 м.д. и 4,85 - 4,95 м.д.), два мультиплета протонов метиленовой группы в положении β алифатической цепи в области 3,36 - 3,44 и 3,42 - 3,49 м.д. (у соединений VI в области 1,45 - 1,56 м.д. и 1,58 - 1,66 м.д.). Широкие синглеты протонов алифатической и енольной гидроксильных групп в положении 3 гетероцикла находятся в области 4,51 - 4,87 м.д. и 10,50 - 12,30 м.д., соответственно. Также в спектрах соединений I, II, III, VI р-г наблюдается сигнал трех протонов ацетильного остатка в области 2,19 - 2,28 м.д., в спектрах соединений VI - мультиплет протонов метиленовой группы в положении γ алифатической цепи в области 3,26 - 3,35 м.д., в спектрах соединений VII - синглет метинового протона С^βН алифатической цепи при 5,49 - 5,51 м.д., в спектрах соединений I - синглет протона NH-группы при 9,10 - 9,28 м.д.

В масс-спектре соединения (IV ж) присутствует пик молекулярного иона с m/z (%) 337 (31,03) [M⁺], а также пики фрагментных ионов с m/z (%) 119 (100) [CH₃C₆H₄CO], 91 (32,93) [CH₃C₆H₄], 77 (6,11) [C₆H₅], 44 (5,81) [CH₂CH₂OH]. Масс-спектры соединений III е; IV з-к, м-с, ч, ш, ы имеют аналогичный характер.

Полученные соединения (I-VII) существуют преимущественно в енольной форме, что подтверждается спектральными данными полученных соединений (I-VII) и реакцией со спиртовым раствором хлорида железа (III), дающей вишневое окрашивание.

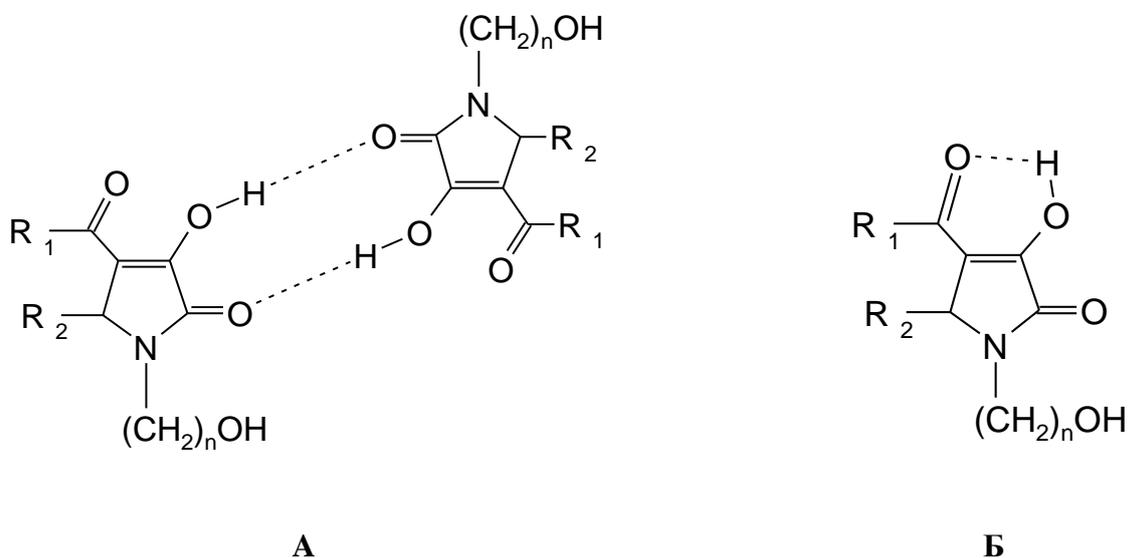
На основании данных предыдущих исследований можно предположить, что механизм реакции синтеза соединений II-VII включает стадию образования основания Шиффа, по двойной азометиновой связи которого присоединяется эфир ацилпировиноградной кислоты, с образованием промежуточного эфира 3-ацил-4-арил(2-гетерил)-4-гидроксиалкиламино-2-оксобутановой кислоты и дальнейшей циклизацией последнего в 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-он (Схема 6).

Схема 6



По литературным данным у синтезированных соединений можно предположить существование межмолекулярных водородных связей (структура А) в кристаллах и концентрированных растворах. В разбавленных растворах полученных веществ возможна внутримолекулярная водородная связь (структура Б), которая реализуется за счет взаимодействия между протоном енольной гидроксильной группы и кислородом ацильного фрагмента (Схема 7).

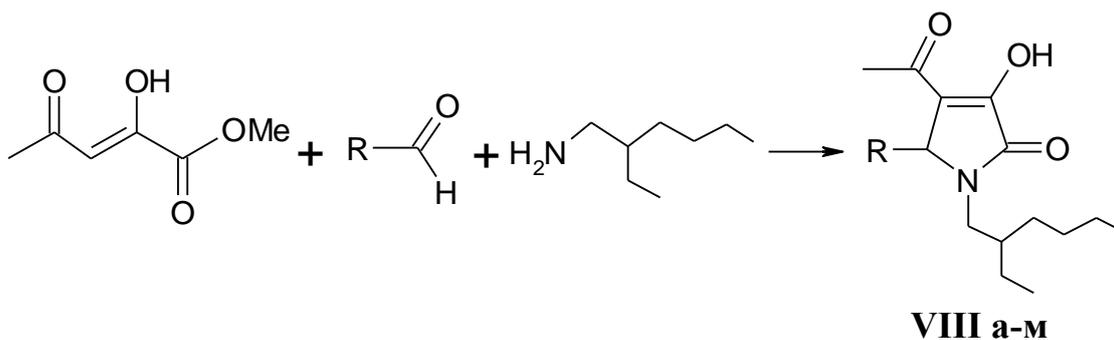
Схема 7



2.2. Синтез 1-(2-этилгексил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов.

С целью сравнения характера влияния заместителя в 1 положении пиррольного гетероцикла на физические и химические свойства, в трехкомпонентной реакции метилового эфира ацетилпировиноградной кислоты и ароматического альдегида, мы заменили аминокислоту на 2-этилгексиламин. При взаимодействии указанных реагентов в диоксане при нагревании образуются 1-(2-этилгексил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (VIII а-м), с выходом 43 - 76 % (Схема 8).

Схема 8



R = Ph (а), p-Tol (б), 4-НОС₆Н₄ (в), 3-НОС₆Н₄ (г), 4-МеОС₆Н₄ (д), 3,4-(МеО)₂С₆Н₃ (е), 4-BrС₆Н₄ (ж), 4-ClС₆Н₄ (з), 4-FC₆Н₄ (и), 2-FC₆Н₄ (к), 2-NO₂С₆Н₄ (л), 3-Пу (м).

Данная реакция, по-видимому, протекает аналогично синтезу 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов. Полученные соединения (VIII а-м) представляют собой белые или слабоокрашенные кристаллические вещества, растворимые в обычных органических растворителях (ДМФА, ДМСО, этанол, диоксан) и нерастворимые в воде.

В ИК-спектрах соединений (VIII а-г) присутствуют полосы поглощения, обусловленные валентными колебаниями кетонной и лактамной карбонильных групп, при 1640 - 1656 см⁻¹ и 1676 - 1710 см⁻¹, соответственно, а также енольного гидроксила при 3152 - 3160 см⁻¹.

В ЯМР¹H-спектрах соединений (VIII а-м) присутствуют сигналы ароматических протонов в области 6,54 - 7,90 м.д., синглет метинового протона в положении 5 гетероцикла при 4,95 - 5,90 м.д., два мультиплета этантиотопных протонов в положении α боковой цепи при 3,30 - 3,52 м.д. (С^αН_АН_В) и 2,40 - 2,90 м.д. (С^αН_АН_В), мультиплет метинового протона в положении β боковой цепи при 1,40 - 1,55 м.д., мультиплет четырёх метиленовых групп боковой цепи с центром при 1,2 м.д. Кроме того, присутствуют 2 мультиплета двух метальных групп при 0,70 и 0,80 м.д.; сигнал метильной группы ацетильного остатка при 2,25 - 2,32 м.д.

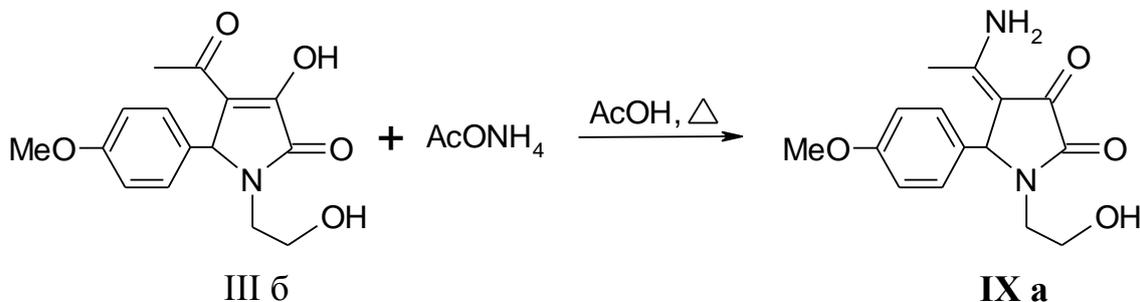
Вишневое окрашивание со спиртовым раствором FeCl₃, наряду с данными спектров свидетельствует о существовании полученных веществ (VIII) в енольной форме.

2.3 Взаимодействие 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с мононуклеофильными реагентами.

В продолжение поиска новых биологически активных веществ, нами было изучено взаимодействие синтезированных 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с такими мононуклеофильными реагентами, как ацетат аммония, 1-пропиламин, анилин и его производные.

2.3.1 Взаимодействие 1-(2-гидроксиэтил)-4-ацетил-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-она с ацетатом аммония.

Установлено, что при кипячении 1-(2-гидроксиэтил)-4-ацетил-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-она (III б) с ацетатом аммония в ледяной уксусной кислоте в течение 3 часов образуется 1-(2-гидроксиэтил)-4-(1-аминоэтилиден)-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-он (IX а), с выходом 37 % (Схема 9).



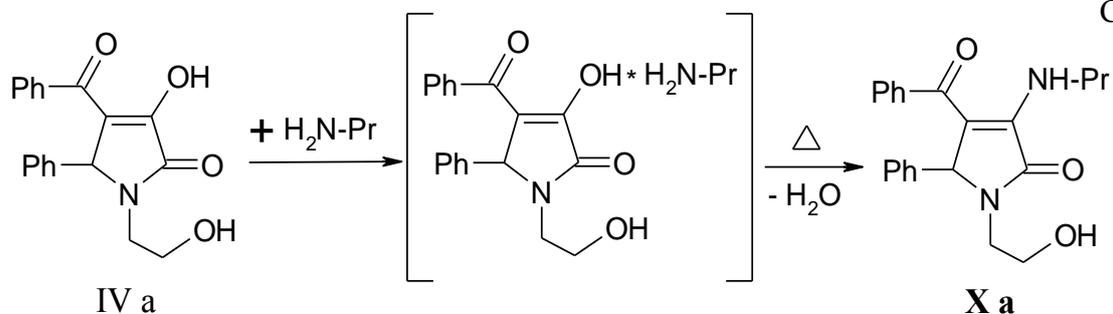
Данное аминопроизводное (IX а) представляет собой кристаллическое вещество коричневого цвета, растворимое в ДМФА, ДМСО, этаноле, уксусной кислоте, ацетонитриле и нерастворимое в воде.

Структура синтезированного соединения (IX а) доказана при помощи данных ЯМР¹H-спектра, в котором, помимо основных сигналов, наблюдается синглет двух протонов первичной аминогруппы в области 9,71 м.д., и отсутствием характерного вишневого окрашивания со спиртовым раствором хлорида железа (III).

Направление нуклеофильной атаки на карбонильную группу боковой цепи пиррольного гетероцикла обусловлено отсутствием сопряжения между метильной группой и карбонильной группой в ацетильном фрагменте, и существование последней в кетонной форме.

2.3.2 Взаимодействие 1-(2-гидроксиэтил)-4-бензоил-5-фенил-3-гидрокси-3-пирролин-2-она с 1-пропиламином.

Обнаружено, что при кипячении и последующем термолизе 1-(2-гидроксиэтил)-4-бензоил-5-фенил-3-гидрокси-3-пирролин-2-она (IV а) с 1-пропиламином в среде диоксана в течение 2 часов образуется 1-(2-гидроксиэтил)-4-бензоил-5-фенил-3-этиламино-3-пирролин-2-он (X а), с выходом 43 % (Схема 10).



По-видимому, на первой стадии реакции образуется промежуточная соль, которая при последующем термолизе дает конечный продукт (X а).

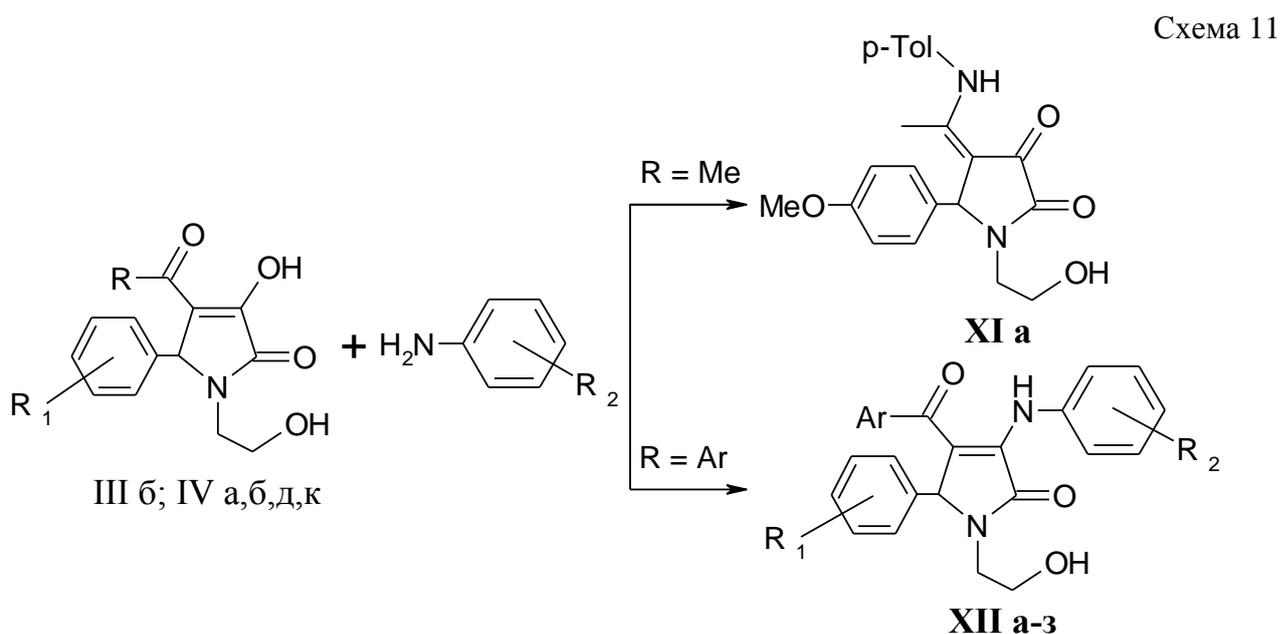
Полученное вещество (X а) имеет кристаллическую структуру, окрашено в коричневый цвет и хорошо растворимо в этаноле, диоксане, ДМФА, ДМСО и нерастворимо в воде.

В ИК-спектре полученного соединения (X а) присутствуют полосы поглощения лактамной и кетонной карбонильных групп при 1612 см^{-1} и 1680 см^{-1} соответственно, полосы поглощения ОН-группы алифатической цепи при 3560 см^{-1} и NH-группы при 3296 см^{-1} .

В ЯМР ^1H -спектре соединения (X а) помимо основных сигналов, присутствует синглет протона NH-группы в области 11,03 м.д. Отсутствие характерного окрашивания в реакции со спиртовым раствором FeCl_3 подтверждает строение соединения (X а) наряду со спектральными данными.

2.3.3 Взаимодействие 1-(2-гидроксиэтил)-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-она с ароматическими аминами.

Было установлено, что при кипячении 1-(2-гидроксиэтил)-4-ацетил-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-она с *n*-толуидином в ледяной уксусной кислоте нуклеофильной атаке подвергается карбонильная группа ацетильного фрагмента с образованием 1-(2-гидроксиэтил)-4-(1-*n*-толиламиноэтилиден)-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-она (XI а), с выходом 54%. При использовании в реакции с ариламинами в качестве исходных соединений 4-ароил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны атака нуклеофильного реагента переносится на енольный гидроксил в 3 положении гетероцикла с образованием 1-(2-гидроксиэтил)-4-ароил-5-арил-3-ариламино-3-пирролин-2-онов (XII а-з), с выходом 22 - 60 % (Схема 11).



R = Ar = Me (XI а), Ph (XII а-ж), *p*-Tol (XII з);

R₁ = H (XII а, з), 4-MeO (XI а; XII б-г), 4-Cl (XII д-ж);

R₂ = H (XII а), 4-Me (XI а) 3-Br (XII б), 4-Cl (XII д), 3-Cl (XII е), 2,6-Cl₂ (XII ж), 4-F (XII в), 3-NO₂ (XII з), 2-NO₂ (XII г).

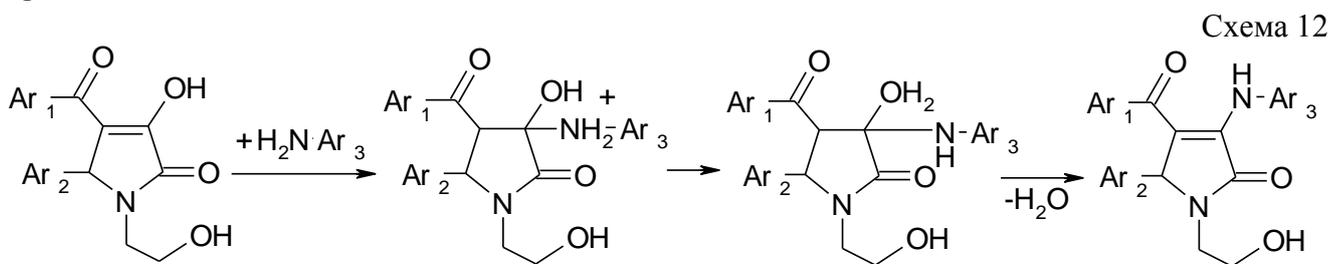
Продукты реакции (XI, XII) представляют собой кристаллические вещества, окрашенные в белый (XII ж), желтый (XII а-е, з) и коричневый цвета (XI а), растворимые в этиловом спирте, уксусной кислоте, ДМФА, ДМСО, хлороформе, ацетонитриле и нерастворимые в воде.

В ЯМР ^1H -спектрах соединений (XI, XII) помимо основных сигналов, присутствует синглет протона вторичной аминогруппы в области 8,91 - 9,14 м.д.

В ИК спектрах соединений (XII а-ж) присутствуют полосы поглощения, обусловленные валентными колебаниями кетонной и лактамной карбонильных групп при 1624 - 1632 и 1688 - 1692 см^{-1} соответственно, полосы поглощения вторичной аминогруппы при 3120 - 3256 см^{-1} и гидроксильной группы боковой цепи при 3530 - 3592 см^{-1} .

Отсутствие характерного окрашивания в реакции со спиртовым раствором FeCl_3 подтверждает енаминное строение соединений (XI, XII) наряду со спектральными данными.

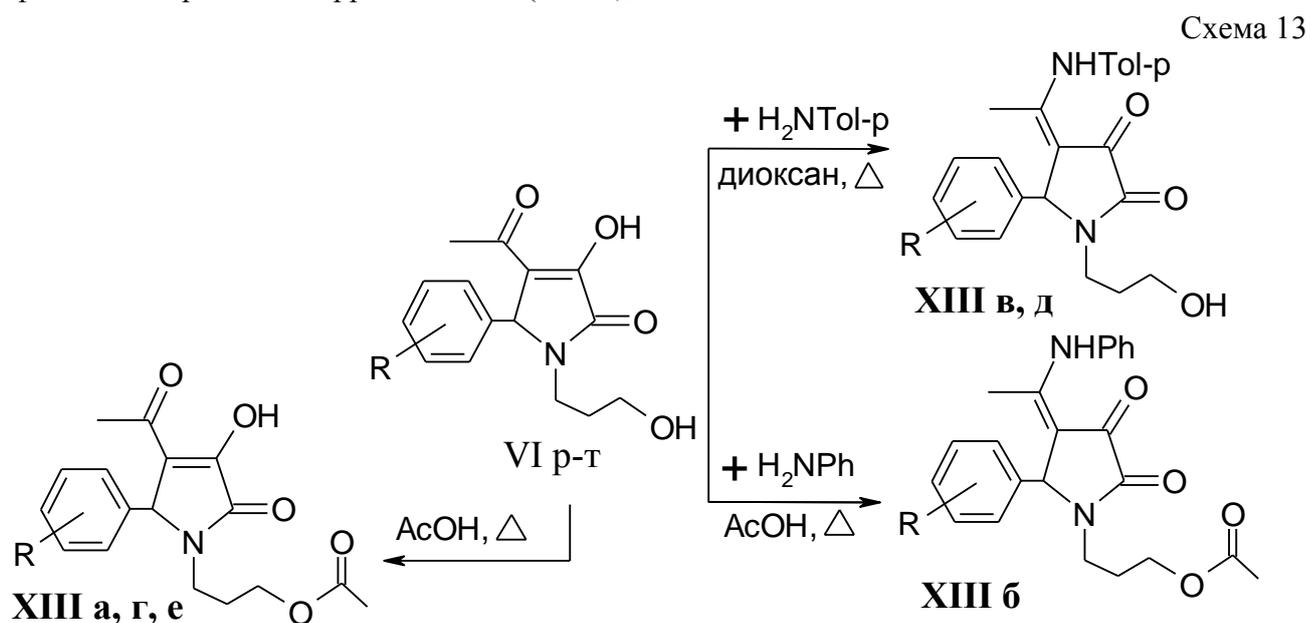
На основании анализа литературных данных можно предположить следующий механизм реакции образования 1-(2-гидроксиэтил)-4-ароил-5-арил-3-ариламино-3-пирролин-2-онов (XII), представленный на схеме 12.



2.3.4 Взаимодействие 1-(3-гидроксипропил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-она с ариламинами.

При кипячении 1-(3-гидроксипропил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов (VI р, с) с *n*-толиламином в диоксане в течение 3 часов нуклеофильной атаке подвергается карбонильная группа ацетильного фрагмента с образованием 1-(3-гидроксипропил)-4-(1-*n*-толиламиноэтилиден)-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов (XIII в, д), с выходом 65, 70 %.

При использовании в качестве растворителя ледяной уксусной кислоты при тех же условиях, в реакции 1-(3-гидроксипропил)-4-ацетил-5-фенил-3-гидрокси-3-пирролин-2-она (VI р) с анилином помимо вышеуказанной нуклеофильной атаки, идет ацилирование гидроксипропильной группы с образованием 1-(3-ацетоксипропил)-4-(1-фениламиноэтилиден)-5-фенил-3-гидрокси-3-пирролин-2-она (XIII б), с выходом 69 %.



$\text{R} = \text{H}$ (а-в), 4-Cl (г,д), 3- NO_2 (е).

В подтверждении направления данной реакции мы обработали исходные 3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (VI р-т) ледяной уксусной кислотой без добавления ароматического амина и получили ацилированные по гидроксипропильному остатку 1-(3-ацетоксипропил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны (XIII а, г, е), с выходом 60 - 62 % (Схема 13).

Возможность реакции ацилирования гидроксипропильного фрагмента связана, по-видимому, с увеличением нуклеофильности и основности атома кислорода спиртовой гидроксильной группы, что объясняется удлинением алифатической цепи.

Полученные соединения (XIII а-е) представляют собой белые или слабоокрашенные кристаллические вещества, нерастворимые в воде и растворимые в обычных органических растворителях.

В ЯМР ^1H -спектрах соединений (XIII а-е), помимо основных сигналов, присутствует синглет трех протонов метильной группы ацетокси остатка при 1,83 - 1,92 м.д. (XIII а, б, г, е), а *n*-толильного заместителя при 1,78 - 1,79 м.д. (XIII в, д), синглет протона гидроксильной группы алифатической цепи при 4,28 - 4,36 м.д. (XIII в, д), синглет протона вторичной аминогруппы в области 12,37 - 12,42 м.д. (XIII б, в, д).

Вишневое окрашивание со спиртовым раствором хлорида железа (III) дают соединения XIII а, г, е. Остальные производные (XIII б, в, д) характерного окрашивания с вышеуказанным реагентом не дают, что наряду со спектральными данными подтверждает установленное строение соединений. Отсутствие сигнала протона спиртовой гидроксильной группы в соединениях XIII а, б, в, д подтверждает наличие сложноэфирной группы.

2.4 Взаимодействие 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с бинуклеофильными реагентами.

Было изучено взаимодействие синтезированных 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с такими бинуклеофильными реагентами, как мочевины, гидразингидрат и гидразиды карбоновых кислот.

2.4.1 Взаимодействие 1-(2-гидроксиэтил)-4-фторбензоил-5-(4-фторфенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-она с мочевиной.

Было установлено, что при сплавлении эквивалентных количеств 1-(2-гидроксиэтил)-4-фторбензоил-5-(4-фторфенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-она с мочевиной при температуре 180-190 $^{\circ}\text{C}$ образуется 1-(2-гидроксиэтил)-4-фторбензоил-5-(4-фторфенил)-3-амино-3-пирролин-2-он (XIV а), с выходом 52 % (Схема 14).

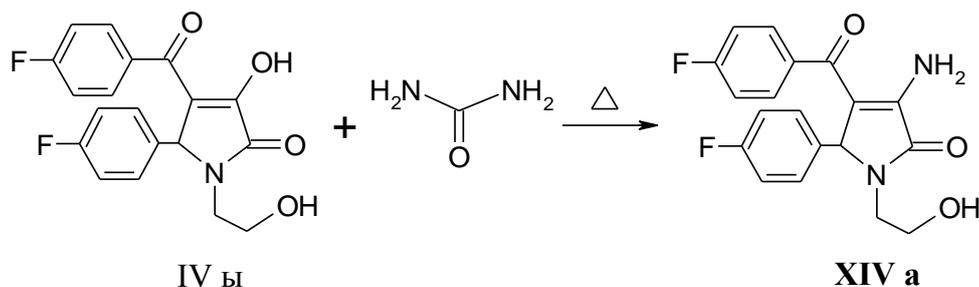


Схема 14

По-видимому, мочевины разлагаются до аммиака, который атакует енолизованную карбонильную группу в положении 3 с образованием соответствующего 3-гидрокси-3-пирролин-2-она.

Полученное соединение (XIV а) представляет собой белое кристаллическое вещество, растворимое в этаноле, диоксане, уксусной кислоте, ДМФА, ДМСО и нерастворимое в воде.

ИК спектр соединения (XIV а) содержит полосы поглощения, обусловленные валентными колебаниями кетонной и лактамной карбонильных групп при 1616 и 1668 см⁻¹ соответственно, полосу поглощения аминогруппы при 3136 см⁻¹ и гидроксильной группы боковой цепи при 3424 см⁻¹.

В ЯМР ¹H-спектре соединения (XIV а), помимо основных сигналов, присутствует синглет двух протонов NH₂-группы при 11,12 м.д.

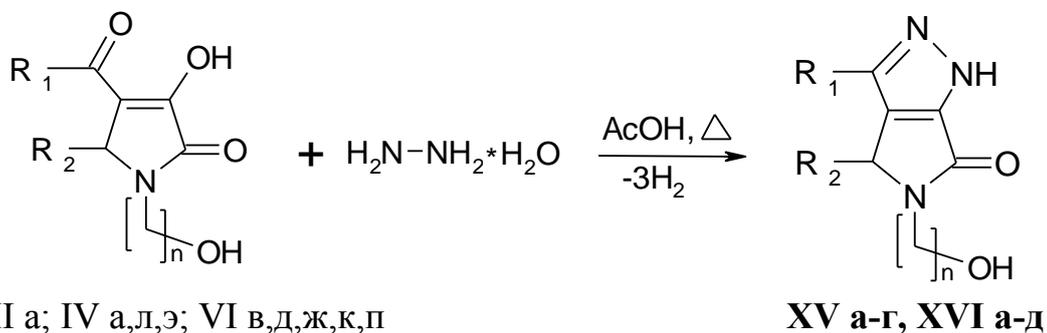
Отрицательная качественная реакция со спиртовым раствором хлорида железа (III) также подтверждает енаминное строение соединения (XIV а).

2.4.2 Взаимодействие 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с гидразингидратом.

1-Гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны имеют в своей структуре два реакционных центра в положениях 3 и 4 пиррольного гетероцикла, что позволяет, при взаимодействии данных соединений с таким бинуклеофильным реагентом как гидразингидрат получать конденсированную гетероциклическую систему.

Так при кипячении 2-гидроксиэтил- и 3-гидроксипропил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов и гидразингидрата в ледяной уксусной кислоте образуются 3-арил(метил, 2-тиенил)-4-арил(2-гетерил)-5-(2-гидроксиэтил,3-гидроксипропил)-4,6-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-6-оны (XV, XVI), с выходом 16 - 55 % (Схема 15).

Схема 15



$n = 2$ (XV а-г), 3 (XVI а-д).

$R_1 = \text{Me}$ (XIV а), Ph (XIV б), *p*-Tol (XV а), 4-MeOC₆H₄ (XIV в; XV б, в), 4-FC₆H₄ (XIV г; XV г), 2-тиенил (XV д);

$R_2 = \text{Ph}$ (XIV а, б), 3-MeO-4-НОС₆H₃ (XIV в), 4-MeОСОС₆H₄ (XV б), 2-ClC₆H₄ (XV д), 2-Ry (XIV г; XV в, г), 2-тиенил (XV а).

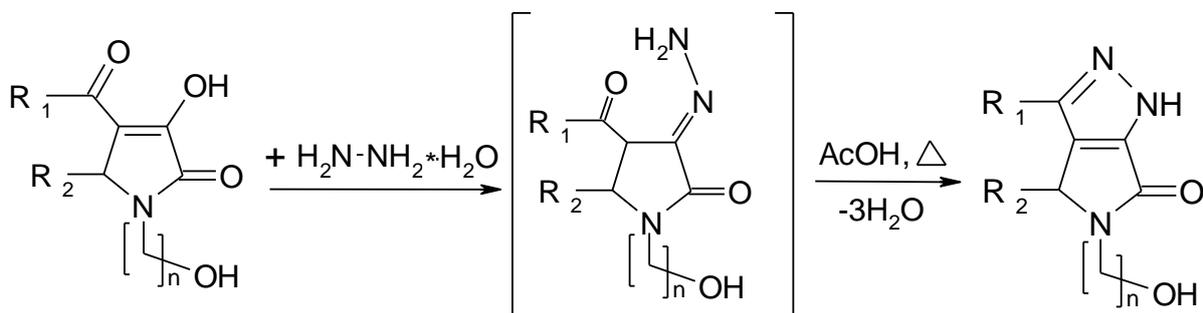
Продукты реакции (XV, XVI) представляют собой белые кристаллические вещества, растворимые в этиловом спирте, уксусной кислоте, ДМФА, ДМСО и нерастворимые в воде.

В ИК спектрах соединений (XV, XVI) присутствуют полосы поглощения лактамной карбонильной группы при 1656-1704 см⁻¹, вторичной аминогруппы при 3140 - 3260 см⁻¹ и гидроксильной группы алифатической цепи при 3310 - 3490 см⁻¹.

В ЯМР ¹H-спектрах соединений (XV, XVI), помимо основных сигналов, присутствует синглет NH-протона в области 12,90 - 13,99 м.д.

Схема синтеза 4,6-дигидропирроло[3,4-с]пирозол-6-онов (XV, XVI), по-видимому, включает предварительное образование соответствующего гидразона, который затем циклизуется в конденсированную гетероциклическую систему (Схема 16).

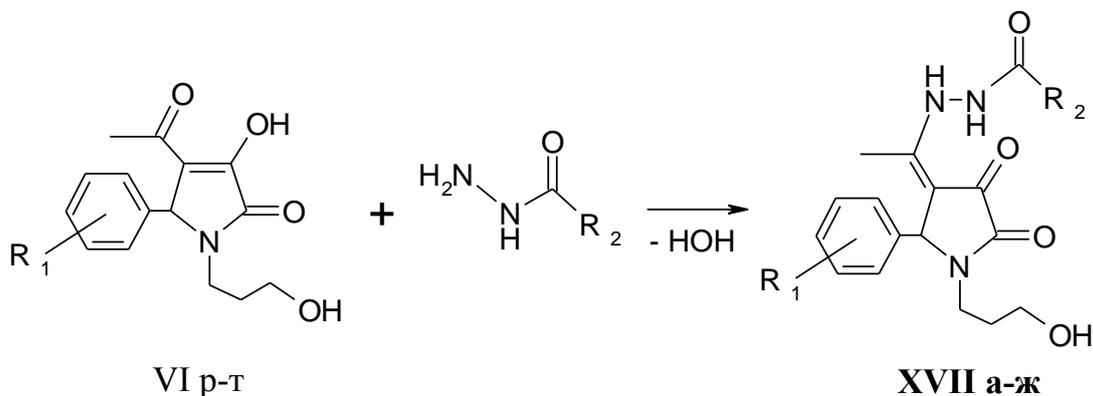
Схема 16



2.4.3 Взаимодействие 1-(3-гидроксипропил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с гидразидами арил(гетерил)карбоновых кислот.

При взаимодействии 1-(3-гидроксипропил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с гидразидами никотиновой, изоникотиновой и анисовой кислот реакция идет по карбонильной группе ацетильного фрагмента с образованием 1-(3-гидроксипропил)-4-(1-арил(гетерил)карбоксихидрозидаэтилиден)-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов (XVII а-ж), с выходом 60 - 75 % (Схема 17).

Схема 17



$R_1 = \text{H}$ (а-в), 4-Cl (г-е), 3-NO₂ (ж);

$R_2 = 3\text{-Py}$ (а, г, ж), 4-Py (б, д), 4-MeOC₆H₄ (в, е).

Полученные соединения (XVII) представляют собой белые кристаллические вещества, растворимые в обычных органических растворителях и нерастворимые в воде.

В ЯМР ¹H-спектрах соединений (XVII), помимо основных сигналов, присутствуют два уширенных синглета протонов гидразидной группы при 10,61-10,99 м.д.

Спектральные данные вместе с отсутствием характерного окрашивания со спиртовым раствором хлорида железа (III) свидетельствуют об энгидразинном строении веществ (XVII).

Глава 3. Экспериментальная химическая часть.

В третьей главе приведены методики синтеза полученных соединений, указаны приборы, с помощью которых устанавливалась структура, а также некоторые физические константы и данные спектральных методов анализа.

Глава 4. Экспериментальная биологическая часть.

Полученные соединения (I - XVI), были подвергнуты испытаниям на антимикробную, противогрибковую, противовоспалительную, анальгетическую, антигипоксическую и ноотропную активности.

Испытания на антимикробную и противогрибковую активность осуществлялись на кафедре микробиологии ПГФА старшим преподавателем, к.ф.н. Бобылевой А. А. под руководством профессора, д.ф.н. Одеговой Т. Ф. и доцентом, к.ф.н. Новиковой В. В.

Изучение противовоспалительной и анальгетической активности проводилось на кафедре фармакологии ПГФА старшим преподавателем, к.ф.н. Гольдштейном А. Г. под руководством профессора, д.ф.н. Яковлева И. Б.

Исследование антигипоксической, ноотропной активности, а также острой токсичности проводилось самостоятельно на кафедре фармакологии ПГФА под руководством ассистента, к.б.н. Аликиной Н. А. и профессора, д.м.н. Сыропятова Б. Я.

4.1 Антимикробная активность.

Антимикробная активность (АМА) полученных соединений определяли в отношении фармакопейных штаммов: Гр.+ *E. Coli* и Гр.- *S. aureus* методом последовательных разведений раствора исследуемых веществ в мясопептонном бульоне (МПБ). В качестве препаратов сравнения использовали диоксидин. Антимикробная активность исследована у 67-ми соединений. Величина минимальной подавляющей концентрации (МПК) составляет 250-1000 мкг/мл.

По результатам испытаний можно заключить, что некоторые соединения из ряда 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов проявляют антибактериальную активность на уровне препарата сравнения, а из ряда 1-(2-этилгексил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов превосходят по активности диоксидин. Таким образом замена гидроксиалкильного фрагмента в 1 положении гетероцикла на этилгексильный увеличивают силу антимикробной активности. Также установлено, что по отношению к золотистому стафилококку подавляющая активность соединений выше, чем по отношению к кишечной палочке. Наименьшую активность показали 3-гидроксипропил производные. Образование на их основе пирроло[3,4-с]пирозол-6-онового цикла также не изменила эти показатели. Относительно высокую активность по сравнению с другими соединениями проявляют вещества, содержащие в 5 положении радикалы фенила, 4-гидроксифенила, 4-метоксифенила, 4-хлорфенила, 4-нитрофенила и 2-пиридила. Также увеличенную активность, по сравнению с исходными 3-гидрокси-3-пирролин-2-онами, показали их аминопроизводные (Таблица 1).

4.2 Противогрибковая активность.

Противогрибковая активность (ПГА) выбранных соединений определяли в отношении фармакопейных штаммов: *C. albicans* методом двукратных серийных разведений раствора исследуемых веществ в жидкой среде Сабуро. В качестве препаратов сравнения использовали флуконазол. Антигрибковая активность исследована у 10-и представителей различных рядов синтезированных соединений, обладающих при этом наибольшей антимикробной активностью. Величина МПК составляет 250-500 мкг/мл. Проведенные испытания показали, что 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны обладают низкой противогрибковой активностью (Таблица 1).

Таблица 1. Антимикробная и противогрибковая активность 4-ацил-5-арил(2-пиридил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов и их производных.

Соединение	АМА		ПГА
	МПК, мкг/мл		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. Coli</i>	<i>C. albicans</i>
I д	500	500	500
II а	1000	1000	500
III з	500	1000	250
IV ш	500	1000	250
V б	1000	1000	500
VI н			500
VIII в	250	250	
XII д	500	1000	250
XIV а			250
XVI г	1000	1000	500
Диоксидин	63-1000	4-63	
Диоксидин (опыт)	500	31	
Флуконазол			8-32

4.3 Противовоспалительная активность.

Противовоспалительную активность изучали по модели каррагенинового отека на белых нелинейных крысах массой 200 - 250 гр. Изучаемые соединения в дозе 50 мг/кг вводили внутрибрюшинно в виде водной суспензии, стабилизированной твином-80 за 1 час до моделирования отека. В качестве препарата сравнения использовали диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг. Объем конечности у крыс измеряли онкометрически до и через 1, 3 и 5 часов после инъекции флоггена. Противовоспалительный эффект оценивали по увеличению торможения отека конечности, выражаемого в процентном отношении к контролю.

Были исследованы 6 соединений из ряда 1-(2-гидроксиэтил)-4-ароил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов (IV м-с). Все соединения проявили влияние на уменьшение объема воспалённой конечности через 3 и 5 часов. Через 1 час противовоспалительное действие оказывали 3 соединения. Наибольший антифлоггистический эффект на протяжении всего эксперимента проявило соединение IV р, при этом противовоспалительное действие вещества через 1 час после инъекции каррагенина превзошло действие диклофенака (Таблица 2).

4.4 Анальгетическая активность.

Анальгетическая активность полученных веществ исследовалась при помощи теста корчей, вызванных уксусной кислотой (метод «уксусных корчей»). Эксперимент проводился на нелинейных белых мышах массой 20-30 грамм. Изучаемое соединение вводилось внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг в виде 2% крахмальной слизи. Через 30 минут тем же мышам внутрибрюшинно вводили 0,75% уксусную кислоту из расчета 0,1 мл. на 10 гр. массы животного. Число корчей регистрировалось в течении 10 минут с момента введения уксусной кислоты. Анальгетический эффект оценивался по уменьшению количества корчей в процентах к контролю. Результаты сравнивали с действием диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг.

Были исследованы 6 соединений из ряда 1-(2-гидроксиэтил)-4-ароил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов (IV м-с). Все соединения превзошли анальгетическое действие диклофенака. В исследованиях на анальгетическую активность соединения IV п, IV н, IV сп показали торможение корчей на уровне 38,5 - 44,2 %. Наибольшую активность проявило соединение IV с.

Анализ результатов исследования соединений (IV м-с) в зависимости от их структуры показал, что на проявление противовоспалительной и анальгетической активности оказывают влияние заместители в арильном и ароильном фрагментах. Выраженное действие проявили соединения, содержащие в своей структуре метокси- и этоксигруппы преимущественно в пара-положении в 5-арильном и 4-ароильном заместителе 3-гидрокси-3-пирролин-2-она (IV н, п-с). На основании полученных результатов можно сделать вывод о перспективности поиска новых противовоспалительных средств с анальгезирующим действием среди соединений данного ряда (Таблица 2).

Таблица 2. Противовоспалительная и анальгетическая активность 1-(2-гидроксиэтил)-4-ароил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов.

Соединение	Доза мг/кг, в/б	Торможения каррагенинового отека %			Доза мг/кг, в/б	Торможение корчей %
		1 ч.	3 ч.	5 ч.		
IV м	50	-13,9	7,7	19,6	25	30,8*
IV н	50	10,7	17,3	26,0*	25	40,4*
IV о	50	14,2	11,7	18,6	25	30,8*
IV п	50	-6,2	2,9	13,1	25	38,5*
IV р	50	32,2*	22,4*	26,7*	25	26,9*
IV с	50	3,8	16,4	26,1	25	44,2*
Диклофенак натрия	10	22,3	29,0	38,7	10	20,8

4.5 Антигипоксическая активность.

Предварительный скрининг синтезированных соединений (I-XVII) по онлайн системе PASS, прогнозирующей спектр фармакологической активности у исследуемого вещества, предсказал наличие антигипоксической активности у 23 соединений (оценка вероятности наличия $P_a > 0,7$). Из этой группы нами были выбраны 6 соединений, представляющие исходные классы 1-гидроксиалкил-5-арил-4-ацил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов, и подвергнуты испытаниям на наличие антигипоксической активности.

Исследование проводилось с использованием двух моделей гипоксии разного генеза: нормобарической гипоксии с гиперкапнией («баночная» гипоксия) и гемической гипоксии (доза нитрита натрия 300 мг/кг). Вещества вводились внутривенно, однократно в дозе 200 мг/кг за 40 минут до начала опыта. В обоих случаях фиксировалось резервное время выживания животных. В качестве эталона использовали пираретам в дозе 200 и 500 мг/кг.

По методике нормобарической гипоксии выраженную антигипоксическую активность показали 5 соединений, причем у соединений VI о, VII б она сопоставима по своей силе с действием пираретама в дозе 200 мг/кг, а у 3-х соединений VI а, VI г, VI д - с действием пираретама в дозе 500 мг/кг.

По методике гемической гипоксии у последних 3-х соединений антигипоксические свойства подтвердились. У соединения VI а антигипоксическая активность проявилась на уровне действия пираретама в дозе 500 мг/кг, а у веществ VI г и VI д превзошла действие пираретама в дозе 500 мг/кг. Соединение VI д единственное, при котором выжили животные (смертность 80 %, в остальных случаях 100 %).

Наиболее сильный антигипоксикант - соединение VI г сохраняет высокий уровень антигипоксического эффекта и в дозе 100 мг/кг, что является его оптимальным значением дозы-эффекта. При дозировке 50 мг на 1 кг антигипоксическое действие соединения снижается. По методу «скользящей средней» Прозоровского В. Б. определено значение ED_{50} , составившее 83 мг/кг (Таблица 3).

4.6 Ноотропная активность.

Влияние на высшие интегральные функции мозга изучалось у 4-х соединений (III б; VI а, д, г) на модели УРПИ (условного рефлекса пассивного избегания). Выработка УРПИ основана на врожденном стремлении мышей и крыс к ограниченному замкнутому пространству («норковый» рефлекс) и осуществляется в двухкамерной экспериментальной установке, состоящей из большого светлого отсека и меньшего темного отсека с электродным полом. Фиксировался % крыс, повторно зашедших в темный отсек, латентное время пребывания в светлой камере и разница во времени пребывания в светлом отсеке между первым и вторым днем. В качестве эталона сравнения использовали пирацетам в дозе 500 мг/кг.

Выраженную антиамнестическую активность, значительно превосходящую действие эталона, показали все 4 определяемых соединения. Наиболее сильную активность проявили соединения VI г и VI а, содержащие 3-гидроксипропильный остаток в 1 положении гетероцикла (0 % крыс, повторно зашедших в темный отсек).

Сила антигипоксической и ноотропной активности увеличивается при наличии метоксигруппы в 5-арильном или 4-ацильном заместителе 3-гидрокси-3-пирролин-2-она. Так 3 наиболее активных соединения (VI г, VI а, III б) содержат метоксигруппу в пара-положении 5-арильного заместителя (Таблица 3).

4.7 Острая токсичность.

Острую токсичность определяли на нелинейных белых мышах массой 20-25 гр. по экспресс-методу Прозоровского В. Б. Проведенные исследования показали, что изучаемые соединения по классификации Сидорова К. К. относятся к 5-му классу токсичности и являются практически нетоксичными соединениями (Таблица 3).

Таблица 3. Антигипоксическая и ноотропная активность, острая токсичность 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов.

Соединение	Доза мг/кг, в/б	Нормо-барическая гипоксия	Гемическая гипоксия (с NaNO ₃)		УРПИ		ЛД ₅₀ , мг/кг, в/б
		Время выживания, мин	Время выживания, мин	% Смертности	% Крыс повторно зашедших в темный отсек	Разница во времени пребывания в светлом отсеке, Δt, сек	
Контроль (2 % крахм. смесь)		21,2±0,7	20,8±2,3	100	75	41,7±15,9	
III а	200	22,2±2,2					
III б	200				25	131,3±23,9**	
VI а	200	34,2±0,4***	30,8±7,6	100	0	135,3±16,7***	1500
VI г	200	37,2±4,4**	37,8±9,6	100	0	171,0±5,1***	>2000
	100	36,0±2,2***					
	50	26,4±2,7*					
VI д	200	35,4±3,6**	34,5±11,1*	80	25	108,5±33,6*	>2000
VI о	200	29,0±1,5***					
VII б	200	27,8±4,4					
Пирацетам	200	24,2±1,9					
	500	38,3±1,8***	31,8±2,8*	100	50	97,8±34,1	>8000

*достоверность отличий по сравнению с контролем *p<0,05, **p<0,002, ***p<0,001

Выводы

1. Разработаны общие методики синтеза 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов на основе трехкомпонентной реакции метиловых эфиров ацилпировиноградной кислоты со смесью ароматического или гетероциклического альдегида и аминок спирта.

2. Разработана препаративная методика синтеза ранее неизвестных 1-гидроксиметил-4-ацетил-5-арил(2-пиридил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов на основе реакции формальдегида и 4-ацетил-5-арил(2-пиридил)-3-гидрокси-1*H*-3-пирролин-2-онов.

3. Установлено, что при взаимодействии 1-(2-гидроксиэтил)-4-ацил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с моноклеофильными реагентами направление нуклеофильной атаки зависит от характера заместителя в 4-м положении гетероцикла. Так при взаимодействии 1-(2-гидроксиэтил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с анилилином или его производным образуются соответствующие 3-ариламинозамещенные 1-(2-гидроксиэтил)-4-ацетил-5-арил-3-пирролин-2-оны. При использовании в качестве исходного соединения 1-(2-гидроксиэтил)-4-ацетил-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-она в реакции с *n*-толуидином атака ароматического амина переносится на карбонильную группу боковой цепи с образованием 1-(2-гидроксиэтил)-4-(1-*n*-толиламиноэтилиден)-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-она.

4. При взаимодействии 1-(3-гидроксипропил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с ароматическими аминами в ледяной уксусной кислоте обнаружена возможность ацилирования гидроксипропильного фрагмента.

5. Реакция 1-(2-гидроксиэтил)-4-фторбензоил-5-(4-фторфенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-она с мочевиной протекает как аминирование по 3-му положению с образованием соответствующего 3-амино-3-пирролин-2-она.

6. При кипячении 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с гидразингидратом в ледяной уксусной кислоте были выделены конденсированные системы 3-ацил-4-арил(2-гетерил)-5-(3-гидроксиалкил)-4,6-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-6-оны.

7. При взаимодействии 1-(3-гидроксипропил)-4-ацетил-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов с гидразидами арил(гетерил)карбоновых кислот получены 1-(3-гидроксипропил)-4-(1-арил(гетерил)карбоксихидрозидэтилиден)-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны.

8. Исследована биологическая активность 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов, их аминопроизводных и дигидропирроло[3,4-с]пиразол-6-онов. У 67-ти соединений определена антимикробная активность, у 10-ти соединений - противогрибковая активность, 6 соединений исследованы на противовоспалительную и анальгетическую активность, 6 соединений на антигипоксическую активность, 4 соединения на ноотропную активность. У трех веществ определена острая токсичность.

9. Выявлены соединения с выраженной фармакологической активностью: 1-(2-гидроксиэтил)-4-(4-этоксibenзоил)-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-он (IV р) обладает противовоспалительным и анальгетическим действием превосходящим препарат сравнения - диклофенак натрия; 1-(3-гидроксипропил)-4-бензоил(4-метоксибензоил)-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-он (VI г), 1-(3-гидроксипропил)-4-(4-метоксибензоил)-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-он (VI д) и 1-(3-гидроксипропил)-4-бензоил-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-он (VI а) проявили выраженную антигипоксическую и ноотропную активность значительно превосходящую действие парацетама.

Определение у этих трех соединений острой токсичности показало, что они относятся к классу практически нетоксичных веществ.

10. Выявлены закономерности фармакологической активности синтезированных соединений от их структуры. Наличие алкоксигрупп, особенно метоксигруппы в пара-положении, в бензоильном и фенильном фрагменте ведут к увеличению биологической активности.

Рекомендации

1. 1-(2-Гидроксиэтил)-4-(4-этоксibenзоил)-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-он (IV р), обладающий противовоспалительным и анальгетическим действием, превосходящим препарат сравнения - диклофенак натрия, рекомендован для дальнейшего углубленного исследования в данном направлении.

2. 1-(3-Гидроксипропил)-4-(4-метоксibenзоил)-5-(4-метоксифенил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-он (VI г), проявляющий выраженную антигипоксическую и ноотропную активность, значительно превышающую эталон сравнения - парацетам, и обладающий низкой токсичностью, рекомендован для дальнейшего углубленного изучения в данном аспекте.

Основное содержание диссертации опубликовано в работах:

1. Король А. Н., Синтез и противомикробная активность 5-арил-4-гетероил-3-гидрокси-1-(2-гидроксиэтил)-3-пирролин-2-онов / А. Н. Король, Л. И. Варкентин, И. В. Крылова [и др.] // Современные проблемы фундаментальной и прикладной химии: материалы школы - конф. / науч. ред. А. Н. Масливец; Перм. гос. ун-т. - Пермь, 2011. - С. 48.

2. Король А. Н., Взаимодействие 5-арил-4-бензоил-3-гидрокси-1-(2-гидроксиэтил)-3-пирролин-2-онов с моно- и бинуклеофилами / Современные проблемы фармацевтической науки: материалы научно-практ. конференции // Вестник ПГФА. - 2012. - № 9. - С. 93 - 94.

3. Король А. Н., Гейн В. Л. Синтез и свойства 5-арил-4-ацил-3-гидрокси-1-(2-гидроксиэтил)-3-пирролин-2-онов / Современные аспекты химии: материалы студ. школы-конференции / под. ред. А. А. Меркушева; Перм. гос. нац. иссл. ун-т. - Пермь, 2012. - С. 33 - 35.

4. Синтез 5-арил-4-ацил-3-гидрокси-1-(2-гидроксиэтил)-3-пирролин-2-онов / В. Л. Гейн, А. Н. Король, Л. И. Варкентин, М. И. Вахрин // Техническая химия. От теории к практике: материалы III международной конференции. - 2012. - Т. 1. - С. 148 - 151.

5. Синтез и противомикробная активность 5-арил-4-ацил-3-гидрокси-1-(2-гидроксиэтил)-3-пирролин-2-онов / В. Л. Гейн, Т. Ф. Одегова, А. Н. Король [и др.] // Хим.-фармац. журн. - 2013. - Т. 47, № 10. - С. 30 - 32.

6. Король А. Н., Синтез 5-арил-4-ацетил-1-гидроксиметил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов // Вестник ПГФА. - 2014. - № 12. - С. 117 - 118.

7. Синтез и антимикробная активность 5-арил-4-ацетил-1-(2-этилгексил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов / В. Л. Гейн, Т. Ф. Одегова, А. Н. Король [и др.] // Бутлеровские сообщения. 2014. - Т. 38. - № 6. - С. 59 - 63.

8. Синтез и антимикробная активность 5-арил-4-ацил-1-(3-гидроксипропил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов / В. Л. Гейн, Л. Ф. Гейн, А. Н. Король [и др.] // Бутлеровские сообщения. 2014. - Т. 39. - № 7. - С. 75 - 77.

9. Король А. Н., Аликина Н. А., Гейн В. Л. Синтез и антигипоксическая активность 1-гидроксиалкил-5-арил-4-ацил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов / Создание конкурентоспособных лекарственных средств: материалы научно-практ. конференции // Вестник ПГФА. - 2014. - № 14. - С. 65 - 67.

Король Андрей Николаевич (Россия)

Трёхкомпонентной реакцией метилового эфира ацилпировиноградной кислоты со смесью ароматического или гетероциклического альдегида и этаноламина, 3-аминопропанола и 1-амино-2-пропанола синтезированы 1-гидроксиалкил-4-ацил-5-арил(2-гетерил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны. 1-гидроксиметил-4-ацетил-5-арил(2-пиридил)-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны получены на основе реакции формальдегида и 4-ацетил-5-арил(2-пиридил)-3-гидрокси-1*H*-3-пирролин-2-онов. Изучено взаимодействие полученных веществ с ацетатом аммония, 1-пропиламином, анилином, *p*-толуидином, хлор-, бром-, фтор- нитропроизводными анилина, мочевиной, гидразингидратом, гидразидами карбоновых кислот. У синтезированных соединений изучены антимикробная, противогрибковая, анальгетическая, противовоспалительная, антигипоксическая, ноотропная активности и острая токсичность.

Korol Andrey (Russia)

The 1-hydroxyalkyl-4-acyl-5-aryl(2-hetaryl)-3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones was synthesized by the three-compound reaction of methylic ester of acylpivic acid with mixture of aromatic or heterocyclic aldehydes and ethanolamine, 3-aminopropanol, 1-amino-2-propanol. The 1-hydroxymethyl-4-acyl-5-aryl(2-pyridyl)-3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones was synthesized by the reaction of formaldehyde and 4-acetyl-5-aryl(2-pyridyl)-3-hydroxy-1*H*-3-pyrroline-2-ones. The interaction of new compounds with ammonium acetate, 1-propylamine, aniline, *p*-toluidine, chloro-, bromo-, fluoro-nitroderivatives aniline, urea, hydrazine hydrate, hydrazide of carboxylic acid was studied. We synthesized compounds are studied antimicrobial, antifungal, antiinflammatory, analgesic, antihypoxic, nootropic activity and toxicity of compounds was investigated.