

ВОШКО ТАМАРА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 547.422.3:547.398.1:577.15/.17]001.8

**СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА
БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ
ПОХІДНИХ 2-КАРБОКСИФЕНІЛАМІДІВ
ЕТИЛЕНДИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ**

15.00.02 - фармацевтична хімія і фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття вченого ступеню
кандидата хімічних наук

Харків - 1993

7627.54a

Роботу виконано на кафедрі органічної хімії
Української фармацевтичної академії.

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук,
доктор хімічних наук,
професор **В.П.ЧЕРНИХ**

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук,
професор **В.В.БОЛОТОВ**
кандидат хімічних наук,
доцент **В.М.НІКІТЧЕНКО**

Ведуча організація: Запорізький медичний

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00803301 (F)

Захист дисертації відбудеться «16» червня 1993 р.
в «18» годин на засіданні спеціалізованої ради Д.088.09.01
при Українській фармацевтичній академії
за адресою: 310002, м. Харків-2, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці УкрФА

Автореферат розіслано «15» травня 1993 р.

Вчений секретар
спеціалізованої ради
доктор фармацевтичних наук,
професор **Д.І.ДМИТРІЄВСЬКИЙ**

ЛННБ ім. В. Стефаніка
АН України

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Перспективним науковим напрямком у плані пошуку біологічно активних сполук (БАС) є дослідження в галузі *N*-ацильних похідних антранілової та амідних похідних етилендикарбонових кислот.

Створені на основі цих сполук лікарські препарати (антифлогістик мєфєнамінова кислота, діуретик фуросемід, нейролептик мєтеразин, антибіотик фумєрамідміцин та ін.) широко застосовуються для лікування різних захворювань.

Для синтезу нових потенціальних БАС, які виявляють протизапальну, анальгетичну, гемостатичну, антигіпоксичну, діуретичну та антимікробну дію, нами була використана можливість сполучення в одній молекулі фрагменту антранілової та етилендикарбонових кислот.

Такий підхід до конструювання сполук зумовлено рядом фактів: антранілова кислота уявляє собою вітамін L_1 ; етилендикарбонові кислоти відносяться до практично нетоксичних сполук, а транс-ізомер - фумарова кислота, бере участь у вуглеводному обміні живих організмів.

Дані обставини визначили необхідність подальшого розширення теоретичного та практичного вивчення раніше не досліджених похідних 2-карбоксималеїнанілової та 2-карбоксіфумаранілової кислот.

Мета дослідження. Основна мета роботи - пошук біологічно активних сполук в ряду похідних 2-карбоксіфєніламідів етилендикарбонових кислот, дослідження їх реакційної здатності, встановлення впливу хімічної та просторової будови на проявлення фармакологічного ефекту.

Завдання дослідження:

1. Теоретично обґрунтувати доцільність синтезу і пошуку БАС в ряду похідних 2-карбоксималеїнанілової та 2-карбоксіфумаранілової кислот.

2. На основі 2-карбоксіфєніламідів етилендикарбонових кислот отримати функціональні похідні.

3. Вивчити реакцію циклізації 2-карбоксіфумаранілової кислоти та її похідних у відповідні похідні 4*n*-3,1-бензоксазин-4-он-2-транс-акрилової кислоти з послідуєчим перетворенням їх у 2,3-дизаміщені хіназолону-4.

4. Вивчити поведінку 2-карбоксималеїнанілової кислоти та її

похідних у реакції циклізації з участю різних дегідратуєчих реагентів.

5. Провести реакцію нуклеофільного приєднання азот- і сіркувмісних нуклеофілів до імідів 2-карбоксі(карбометокси)малеїнанілової кислоти з метою отримання о-карбоксі(карбометокси)феніламідів 2-гетерилоцтових кислот, які містять ядро тіазолідину, 1,2-дигід-хіноксаліну та піперазину, як гетероциклічний фрагмент.

6. Розглянути реакцію нуклеофільного приєднання вторинних циклічних амінів до імідів та метилових ефірів 2-карбоксі(карбометокси)малеїнанілової кислоти.

7. Дослідити за допомогою інструментальних (ІЧ-, УФ-спектроскопія, мас-спектрометрія), квантово-хімічних (MNDO) методів та методів молекулярної механіки (MMX) будову синтезованих речовин, вивчити константи кислотної іонізації 2-карбоксімалеїнанілової та 2-карбоксіфумаранілової кислот.

8. Провести фармакологічний скринінг отриманих сполук, встановити вплив хімічної та просторової будови на прояв біологічної активності.

Наукова новизна. Синтезована нова група речовин, зокрема, 2-карбоксімалеїнанілова та 2-карбоксіфумаранілова кислоти, їх солі, метилові ефіри, аміди, циклічні похідні та аддукти до подвійного зв'язку. Під час виконання експерименту отримана 71 не описана в літературі сполука.

Вивчені умови циклізації вищеприведених кислот у лактам 2-ацетокси-4н-3,1-бензоксазин-4-он-2-акрилової кислоти, іміди, похідні 4н-3,1-бензоксазин-4-он-2-акрилової кислоти.

Встановлено, що в молекулі 2-карбоксімалеїнанілової кислоти етеріфікацію зазнає тільки карбоксильна група maleїнової кислоти.

У реакції взаємодії імідів 2-карбоксі(карбометокси)малеїнанілової кислоти з азот- і сіркувмісними бінклеофілами відбувається приєднання до подвійного зв'язку з послідовним процесом циклізації у гетероциклічну структуру.

Встановлено, що замість очікуваної реакції гідразинолізу іміду 2-карбоксімалеїнанілової кислоти, відбувається приєднання до подвійного зв'язку з подальшою циклізацією в о-карбоксіфеніламід 5-оксопіразоліділ-3-карбонової кислоти.

Вивчена гостра токсичність і проведено фармакологічний скринінг отриманих сполук на виявлення протизапальної, анальгетичної, діуретичної, гемостатичної, антикоагулянтної, антигіпоксич-

ної та антимікробної активності. Встановлені деякі закономірності між хімічною будовою та біологічною дією.

Практичне значення. У роботі подано експериментально-теоретичний матеріал, який відображає нове і перспективне наукове дослідження в галузі синтезу і вивчення функціональних похідних 2-карбоксималеїнанілової і 2-карбоксифумаранілової кислот з метою отримання БАС широкого спектру дії, які здатні чинити комплексну регуляцію різних функцій організму.

Встановлені елементи залежності між хімічною і просторовою будовою та біологічною дією є базою для проведення цілеспрямованого синтезу БАС у ряду сполук, що вивчались.

Диметиламід 2-карбоксифумаранілової кислоти, який має виражену діуретичну і протизапальну дію на фоні низької токсичності, включено у план НДР кафедри патології Української фармацевтичної академії для проходження поглиблених фармакологічних іспитів.

Апробація роботи. Матеріали і фрагменти дисертації доповідались на Всесоюз. науковій конф. "Результати та перспективи наукових досліджень з біотехнології та фармації" (Ленінград, 1989), V з'їзді фармацевтів БРСР "Шляхи поліпшення організації та підвищення якості лікарського забезпечення населення" (Мінськ, 1989), III з'їзді фармацевтів ТРСР (Ашхабад, 1989), 10-й конф. молодих вчених "Синтез і дослідження біологічно активних сполук" (Рига, 1989), VI з'їзді фармакологів УРСР "Фармакологія: стан і перспективи досягнень" (Харків, 1990), республ. науковій конф. "Реалізація наукових досягнень у практичній фармації" (Харків, 1991), науково-практ. конф. "Актуальні питання фармацевтичної науки і практики" (Курськ, 1991), науково-практ. конф. "Лікарські засоби України, синтез, наукові дослідження, виробництво, реалізація" (Харків, 1992), XVI Українській конференції з органічної хімії (Тернопіль, 1992).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 2 статті та 12 тезів доповідей, 2 статті направлено до друку.

Обсяг і структура дисертації. Дисертацію викладено на 200 сторінках машинописного тексту, містить 35 таблиць, 28 малюнків та 6 схем. Складається із вступу, п'яти глав, загальних висновків, списку літератури (174 найменування).

У першій главі приведено огляд літератури по методам синтезу, реакційній здатності та аспектам практичного застосування *m*-ацильних похідних антранілової та амідних похідних етилендікар-

базових кислот.

Друга і третя глави містять результати проведених досліджень в галузі синтезу і вивчення фізико-хімічних властивостей 2-карбоксималеїнанілової та 2-карбоксифумаранілової кислот.

Четверта глава присвячена вивченню реакцій нуклеофільного приєднання до активованого подвійного зв'язку метилових ефірів та імідів 2-карбокси(карбометокси)малеїнанілової кислот.

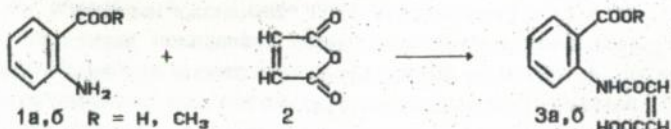
У п'ятій главі подані результати фармакологічного скринінгу синтезованих сполук, а також обмірковується зв'язок хімічної і просторової будови з фармакологічною дією.

Робота виконана відповідно плану НДР Української фармацевтичної академії за проблемою "Фармація" (шифр теми ВН 10.06.0029.91, № державної реєстрації 01.91.0002385).

ЗМІСТ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Синтез 2-карбокси(карбометокси)малеїнанілової кислот, її солей і метилових ефірів

В результаті ацилювання антранілової кислоти та її метилового ефіру (1а,б) малеїновим ангідридом (2) були отримані 2-карбокси- та 2-карбометоксималеїнанілові кислоти (3а,б).



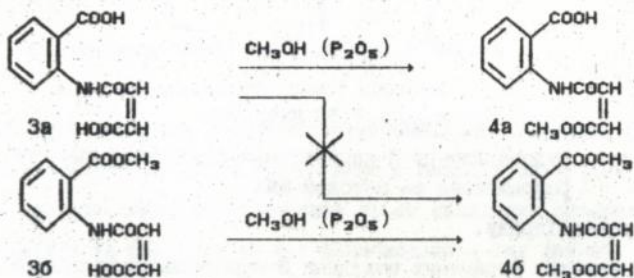
В молекулі 2-карбоксималеїнанілової кислоти (3а) містяться дві карбоксильні групи, кожна з яких може дисоціювати з відщепленням протону.

Шляхом потенціометричного титрування кислоти (3а) та модельних сполук у 60%-ному водному діоксані було визначено, що константа кислотної іонізації для карбоксильної групи малеїнової кислоти $pK_{a1} = 5,49$, а для карбоксильної групи кільця - $pK_{a2} = 6,49$.

З метою розширення спектру фізіологічної дії та поліпшення біодоступності кислоти, що вивчалась, нами були отримані солі,

які містять катіони лужних металів та амонію.

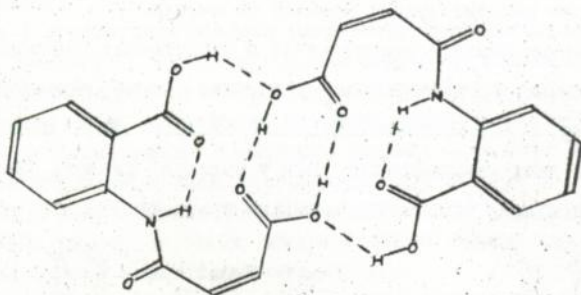
Вивчення реакції етерифікації в присутності пентаоксиду фосфора показало, що це найбільше придатний спосіб отримання метилового ефіру 2-карбоксималеїнанілової кислоти (4а). Незважаючи на наявність двох карбоксильних груп у молекулі кислоти (3а), етерифікації підлягає тільки карбоксильна група maleїнового залишку.



Таку селективну етерифікацію ми пов'язуємо з донорним впливом азоту карбамідної групи, яка знаходиться в о-положенні, а також з наявністю у молекулі 2-карбоксималеїнанілової кислоти внутрішньомолекулярного та міжмолекулярного водневого зв'язку.

Наші припущення були підтверджені за допомогою методу молекулярної механіки ММХ (мал.1). Визначено, що міжмолекулярні водневі зв'язки обумовлюють можливість існування димеру і чинять стеричні перешкоди. Міцний внутрішньомолекулярний водневий зв'язок, в результаті якого утворюється шестичленний квазицикл, істотно впливає на поведінку карбоксильної групи в хімічних реакціях.

Наявність водневого зв'язку підтверджено даними ГЧ-спектроскопії у різних розчинниках. Вбирання карбонільних груп, які приймають участь в утворенні водневого зв'язку в твердому стані, характеризуються значним зміщенням у низькочастотну область на 35-40 см⁻¹, на відміну від вбирання у розчинах чотирьохлористого вуг-



$$E_{\text{MMX}} = 7,90 \text{ ккал/моль}$$

Мал.1. Будова димеру 2-карбоксималеїнанілової кислоти, розрахована за методом ММХ

лецю і ацетонітрилу.

ІЧ-спектри отриманих похідних 2-карбоксималеїнанілової кислоти характеризуються рядом інтенсивних смуг поглинання. На ділянці $3400\text{--}3000 \text{ см}^{-1}$ спостерігається широка смуга валентних коливань асоційованих NH і OH груп, при $1590\text{--}1570 \text{ см}^{-1}$ – смуга поглинання деформаційних коливань δ_{NH} . Вибірвання карбоксильних груп $\nu_{\text{C=O}}$ (I амідна смуга) знаходяться при 1670 см^{-1} , $\nu_{\text{C=O}}$ (соон кільця) – при $1690\text{--}1680 \text{ см}^{-1}$, $\nu_{\text{C=O}}$ (малеїнової кислоти) – при 1700 см^{-1} .

В ІЧ-спектрах метилових ефірів 2-карбоксі- і 2-карбометоксималеїнанілових кислот (4а,б) спостерігається смуга в області 1730 см^{-1} , яка відповідає валентним коливанням карбонільної групи $\nu_{\text{C=O}}$ складноєфірного фрагменту. Скелетним коливанням зв'язків $\text{C}_{\text{ar}}\text{--C}$ ароматичного кільця відповідає смуга поглинання в області $1620\text{--}1600 \text{ см}^{-1}$. Деформаційні позаплощинні коливання δ_{CH} цис-етиленового зв'язку спостерігаються при $784\text{--}752 \text{ см}^{-1}$.

УФ-спектр 2-карбоксималеїнанілової кислоти (3а) характеризується двома максимумами: 312 нм (32051 см^{-1}) і 216 нм (46296 см^{-1}). При цьому спостерігається незначний сзув довгохвильової

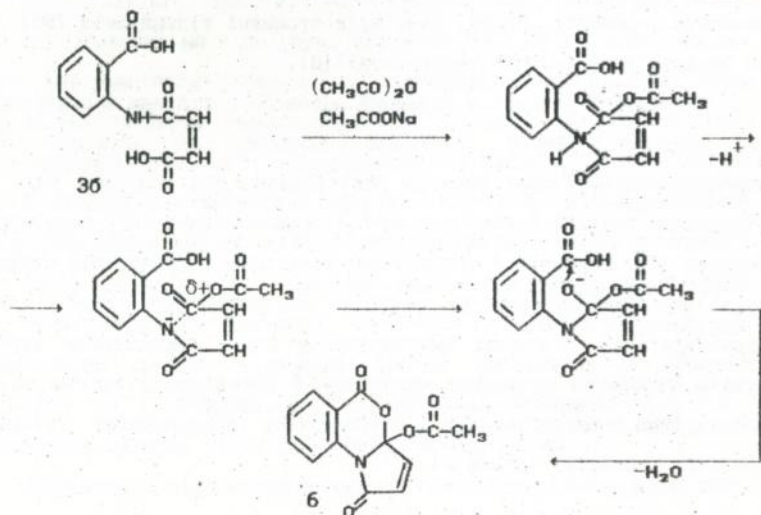
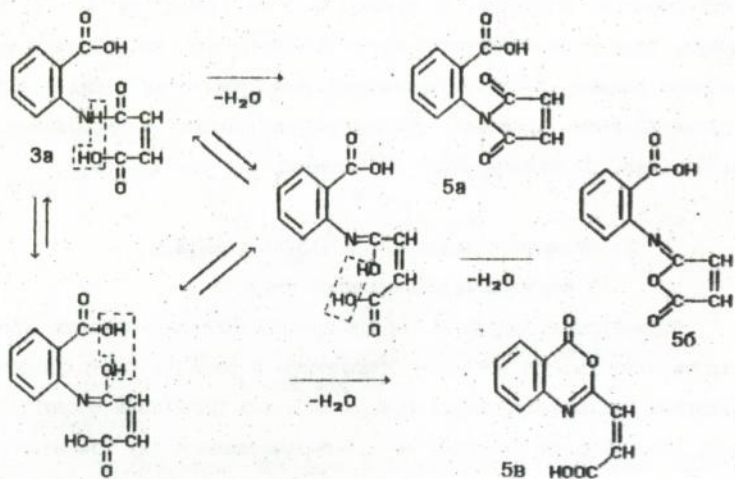
смуги, і в області 256 нм (39000 см^{-1}) спостерігається підвищення інтенсивності вбирання; в області 232 нм (43000 см^{-1}) - її зниження. Таке розміщення смуг можна пояснити тим, що введення малеїнового залишку в структуру антранілової кислоти, поряд з акцепторним впливом, приводить до подовження ланцюга π -супряження і, відповідно, до батохромного зміщення як α -, так і ρ -смуг.

2. Отримання циклічних похідних і амідів

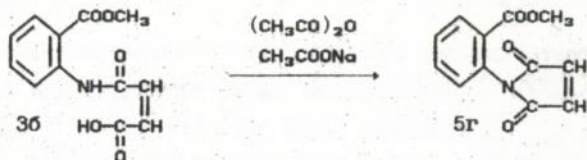
2-карбоксималеїнанілової кислоти

Структура молекули 2-карбоксималеїнанілової кислоти (3a) з рівною імовірністю дозволяє припустити в реакції внутрішньомолекулярної циклодегідратації утворення трьох циклічних сполук: імідів, ізоімідів та похідних 4n-3,1-бензоксазин-4-ону (5a-в). Необхідно відзначити, що у всіх трьох випадках для отримання кінцевого продукту можуть використовуватись одні й ті самі циклізуючі реагенти (схема 1). Проте, нами були отримані тільки імід (5б) та похідні 4n-3,1-бензоксазин-4-ону (8).

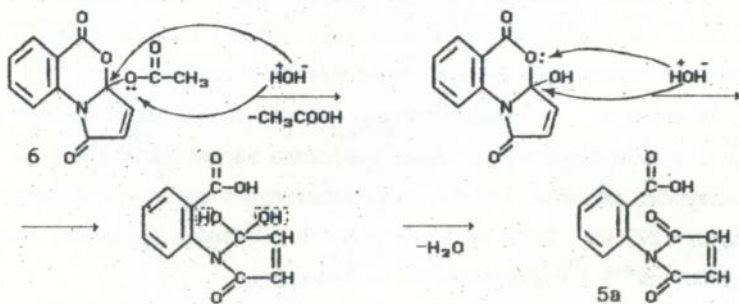
Проведення реакції в надлишку оцтового ангідриду в присутності ацетату натрію дозволило виявити, що молекула 2-карбоксималеїнанілової кислоти (3a) втрачає дві молекули води з утворенням лактаму 2-ацетокси-4n-3,1-бензоксазин-4-он-2-акрилової кислоти (6). Виходячи з теоретичних міркувань і враховуючи структурні особливості молекули, реакцію внутрішньомолекулярної циклодегідратації з участю ацетангідриду можна представити через стадію утворення змішаного ангідриду з переходом у карбаніон з послідовним перегрупуванням в ацетильовану конденсовану гетероциклічну структуру (схема 2).



У випадку циклодегідратації 2-карбометоксималеїнамілової кислоти (36) в аналогічних умовах утворюється *N*-(2-карбометоксифеніл)малеїнімід (5г).



Вивчення властивостей лактаму 2-ацетокси-4*H*-3,1-бензоксазин-4-он-2-акрилової кислоти (6) показало, що нагрівання з водою на протязі 10 хв. приводить до гідролізу вищеназваної сполуки. Було встановлено, що продуктом гідролізу є *N*-(2-карбоксифеніл)малеїнімід (5а).



Проте, тривале нагрівання з водою лактаму 2-ацетокси-4*H*-3,1-бензоксазин-4-он-2-акрилової кислоти може привести до більш глибоких процесів гідролізу з утворенням 2-карбоксималеїнамілової, антранілової і maleїнової кислот, що було підтверджено тонкошаровою хроматографією.

Для доказу структури *N*-(2-карбоксифеніл)малеїніміду (5а), були проведені альтернативні способи отримання. Так, синтез даної

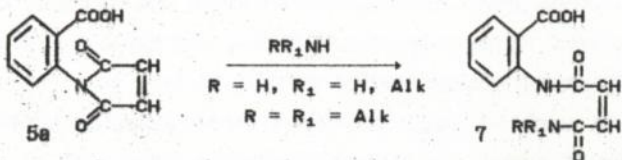
сполуки здійснювали при кип'ятінні 2-карбоксималеїнанілової кислоти (3а) у середовищі ацетону в присутності еквімолекулярної кількості оцтового ангідриду або при сплавленні з пентаоксидом фосфору.

В ІЧ-спектрі лактаму 2-ацетокси-4н-3,1-бензоксазин-4-он-2-акрилової кислоти (6) проявляються смуги, характерні для валентних коливань $\nu_{\text{C=O}}$ оксазинового циклу при 1760 см^{-1} , $\nu_{\text{C=O}}$ ацетильного залишку - при 1780 см^{-1} , $\nu_{\text{C=O}}$ малеїнімідного фрагменту характеризується смугою при 1745 см^{-1} . В ІЧ-спектрах імідів 2-карбоксі- і 2-карбометоксималеїнанілових кислот спостерігається смуга у вигляді дублету при $1760\text{-}1720 \text{ см}^{-1}$, яка відповідає валентним коливанням $\nu_{\text{C=O}}$ карбонільних груп.

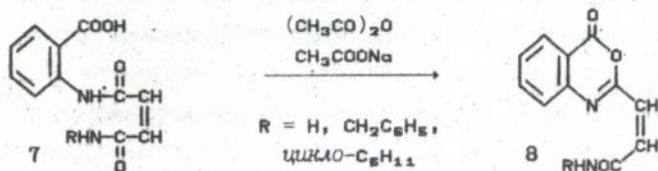
Мас-спектри лактаму (6) та імідів (5а,г) характеризуються наявністю інтенсивних піків молекулярних іонів, положення яких, а також маса осколкових іонів підтверджує їх структуру.

УФ-спектри *N*-[2-карбоксі(карбометокси)феніл]малеїнімідів (5а,г), у яких акцепторний вплив замісника виражений краще, ніж в початкових кислотах (3а,б), характеризуються наявністю α -смуги в області 277 нм (36000 см^{-1}), а ρ -смуга розміщена в області 222 нм (45000 см^{-1}) і перекривається з β -смугою.

Синтез амідів 2-карбоксималеїнанілової кислоти (7) здійснювали при дії на *N*-(2-карбоксіфеніл)малеїнімід (5а) аміаку, амінів жирного і жирно-ароматичного рядів. Амідування проводили на холоді в середовищі ацетону при витриманні реакційної суміші на протязі 12 год. при подальшому підкисленні соляною кислотою (1:1) з метою виділення аміду з розчинної солі. Анілід було отримано при нагріванні у водному розчині диметилформаміду.



Відомо, що *N*-ацильні похідні антранілової кислоти служать основою для синтезу похідних 4*H*-3,1-бензоксазин-4-ону. Однак, наявність залишку такої кислоти як малеїнова, передбачає також циклізацію в імідний цикл. В цьому зв'язку, синтез похідних 4*H*-3,1-бензоксазин-4-он-2-цис-акрилової кислоти (8) здійснювали на основі амідів 2-карбоксималеїнанілової кислоти (7), у яких внаслідок відсутності карбоксильної групи малеїнового залишку виключається можливість циклізації в імід. Реакцію циклізації проводили в оцтовому ангідриді в присутності ацетату натрію при нетривалому нагріванні.

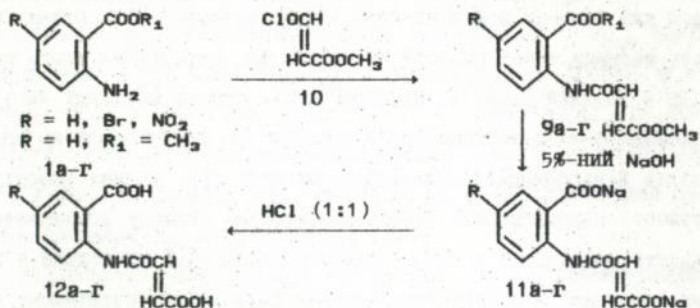


3. Синтез похідних 2-карбоксифумаранілової кислоти

Продовжуючи дослідження ізомерних 2-карбоксифеніламідів етилендікарбонових кислот, був отриманий метиловий ефір 2-карбоксифумаранілової кислоти (9а) ацилюванням антранілової кислоти (1а) хлорангідридом монометилфумарата (10) в середовищі ацетону. Реакцію проводили в присутності триетиламіну як акцептора хлорводню, що виділяється. З метою вивчення впливу замісників в кіль-

ці на прояв діуретичної активності та гострої токсичності, були отримані метилові ефіри 4-бром-2-карбокси-, 4-нітро-2-карбокси- і 2-карбометоксифумаранілових кислот (9б-г).

Отримані метилові ефіри (9а-г) легко гідролізуються 5%-ним водним розчином лугу з утворенням дизаміщених солей (11а-г), при підкисленні яких виділені відповідні кислоти (12а-г).



Як і у випадку 2-карбоксималеїнанілової кислоти, для її транс-ізомеру вивчені константи кислотної іонізації. Також були отримані кислоти та середні солі, які містять катіони лужних металів, амонію і морфолінію.

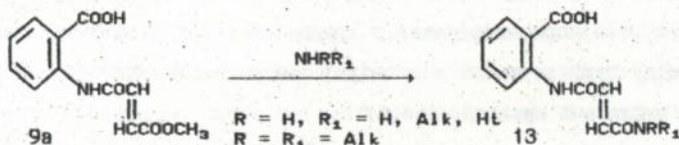
Метилові ефіри 2-карбокси-4R- і 2-карбометоксифумаранілових кислот (12а-г) вбирають в області $1730\text{--}1728\text{ см}^{-1}$ внаслідок валентних коливань карбонільної групи $\nu_{\text{C=O}}$ складноефірного фрагменту. II Амідна смуга, обумовлена деформаційними коливаннями δ_{NH} карбамідної групи, зміщена в область $1540\text{--}1536\text{ см}^{-1}$ внаслідок значної взаємодії з коливаннями $\nu_{\text{C=O}}$ (I амід).

ІЧ-спектри 2-карбоксифумаранілової кислоти (12а) в основному схожі з її цис-ізомером. Інтенсивні смуги, що відповідають валентним коливанням карбонільної групи ($\nu_{\text{C=O}}$, I амід) і деформаційні амідної групи (δ_{NH} , II амід) карбамідного залишку у транс-ізомері

зміщені у більш довгохвильову область спектра і знаходяться при 1580 см^{-1} . При 980 см^{-1} спостерігається смуга середньої інтенсивності, яка характеризує позаплощинні деформаційні коливання C-H груп транс-етиленового зв'язку (δ_{CH}).

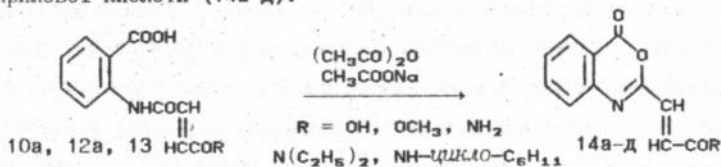
УФ-спектр 2-карбоксіфумаранілової кислоти (12а) характеризується спектром, аналогічним її цис-ізомеру з двома максимумами: 317 нм (31546 см^{-1}) і 214 нм (46729 см^{-1}).

Амідуванням метилового ефіру 2-карбоксіфумаранілової кислоти (9а) надлишками аміаку, амінами жирного і жирно-ароматичного рядів при нетривалому нагріванні отримані відповідні амідів (13).



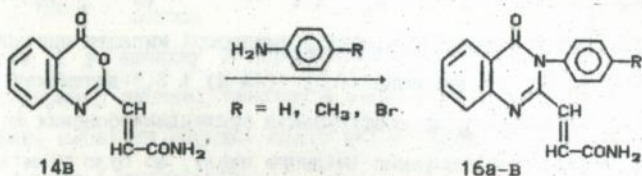
На основі 2-карбоксіфеніламідів фумарової кислоти синтезовані похідні 4н-3,1-бензоксазин-4-ону (14а-д) і 2,3-дизаміщені хіназолону-4 (16а-в). Транс-конфігурація етилендикарбонових кислот виключає можливість утворення імідного циклу, що було відмічено у випадку 2-карбоксіmaleїнанілової кислоти.

Циклізацію 2-карбоксіфумаранілової кислоти (12а), її метилового ефіру (10а) і деяких амідів (13) проводили при нетривалому нагріванні в оцтовому ангідриді в присутності ацетату натрію з утворенням відповідних похідних 4н-3,1-бензоксазин-4-он-2-транс-акрилової кислоти (14а-д).



ІЧ-спектр отриманих похідних бензоксазину-4 (14а-д) характеризується відсутністю смуги ν_{NH} і появою смуги середньої інтенсивності в області 1650 см^{-1} , яка відповідає валентним коливанням $\nu_{\text{C=N}}$. Оксазинове кільце характеризується наявністю смуг в області $1680-1650$, 1600 і $1320-1300 \text{ см}^{-1}$, транс-етиленовий зв'язок - смугою в області $980-970 \text{ см}^{-1}$. Вивчення мас-спектра 4н-3,1-бензоксазин-4-он-2-транс-акрилової кислоти (14а) показало, що така структура малостабільна в електричному полі і дає малоінтенсивний пік молекулярного іону.

На основі аміду 4н-3,1-бензоксазин-4-он-2-транс-акрилової кислоти (14в) при нагріванні з ариламинами в середовищі диметилформаміду були отримані відповідні аміди 3-арилхіназолін-4-он-2-транс-акрилової кислоти (16а-в).



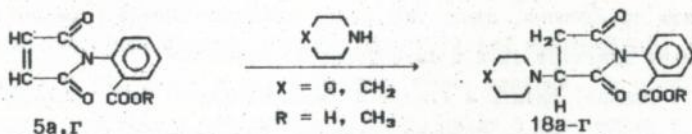
Вивчення УФ-спектрів показало, що для 4н-3,1-бензоксазин-4-он-2-транс-акрилової кислоти (14а) в області розташування α - і ρ -смуг, що відповідають 2-карбоксифумаранілової кислоти (12а), спостерігається структурована смуга, яка є суперпозицією двох електронних збуджень α - і ρ -типу. Наявність чіткої коливальної структури спектру є додатковим доказом утворення конденсованої молекулярної системи. Крім того, спостерігається істотне bathochrome зміщення короткохвильової смуги, що викликає зсув короткохвильових переходів та перерозподіл їх інтенсивності. Для 2,3-дизамішених хіназолону-4 (16а) спостерігається аналогічна спектральна

картина з тією різницею, що в області 317 нм (13831 см^{-1}) виявляється додаткове вбирання, обумовлене ароматичним хромофором у третьому положенні.

4. Вивчення реакції нуклеофільного приєднання до активованого подвійного зв'язку імідів та метилових ефірів 2-карбоксі(карбометокси)малеїнанілової кислоти

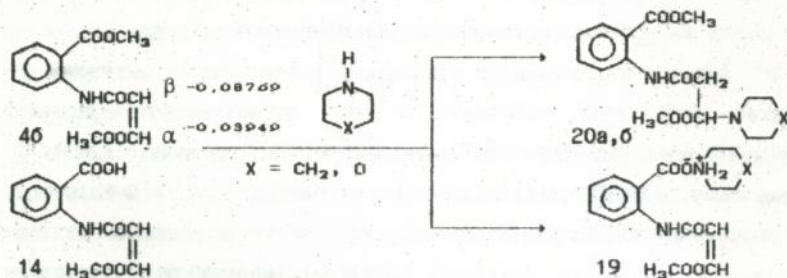
Наявність в структурі етилендикарбонових кислот активованого двома карбонілами подвійного зв'язку обумовлює багаточисленні реакції приєднання нуклеофільних реагентів. У зв'язку з цим була вивчена поведінка імідів (5а,г) і метилових ефірів 2-карбоксі(карбометокси)малеїнанілової кислоти (4а,б) в реакціях нуклеофільного приєднання циклічних амінів: морфоліну та піперидину (17); з бінуклеофільними реагентами: тиосечовиною, фенілтіосечовиною, діамінами жирного і ароматичного рядів (21) та гідразинном (23).

При взаємодії *N*-2[карбоксі(карбометокси)феніл]малеїнімідів (5а,г) з піперидином і морфоліном (17) були отримані відповідні похідні сукциніміду.



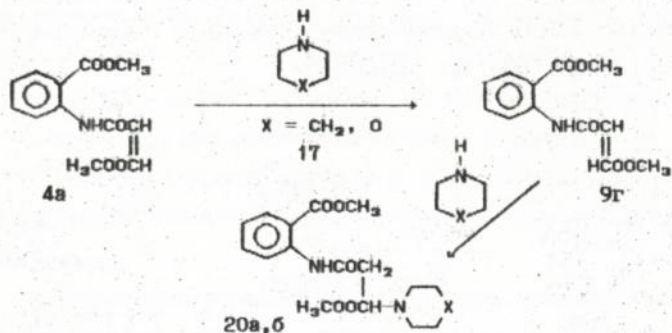
При взаємодії метилового ефіру 2-карбоксімалеїнанілової кислоти (4а) з вищеприведеними амінами замість продукту приєднання була виділена сіль по вільній карбоксильній групі (19). Квантово-хімічні розрахунки електронної густини по програмі MNDO з повною оптимізацією геометрії в молекулі метилового ефіру 2-карбометок-

сималеїнанілової кислоти (46) показали, що приєднання нуклеофілу з перевагою відбувається по α -вуглецевому атому з утворенням метилового ефіру *o*-карбометокси-2-гетерилсукцинанілових кислот (20a,б). Це було також підтверджено експериментально при вивченні фрагментації молекулярного іону.



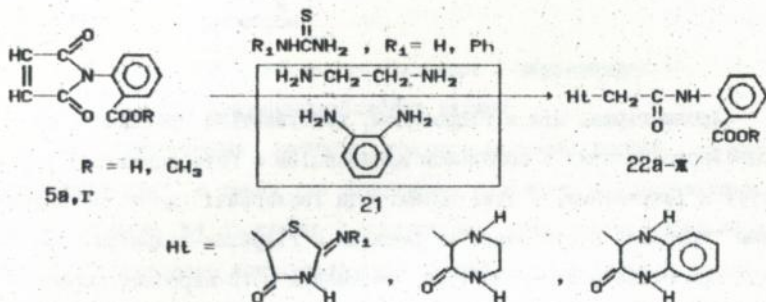
Установлено, що в присутності амінів спочатку відбувається ізомеризація *cis*-ізомеру етилендикарбонових кислот у більш стабільний *trans*-ізомер - фумарову кислоту. Протікання реакції таким чином, напевне, і пояснюється тим, що її проведення потребує тривалого кип'ятіння в етанолі. Використання метилового ефіру 2-карбоксіфумаранілової кислоти приводить до отримання того ж продукту приєднання, однак при більш швидкому перебігу реакції, оскільки виключає стадію ізомеризації (схема 3).

Реакції амінів и тіолів з малеїнімідами можуть моделювати біохімічно важливі процеси останніх. Ця закономірність була використана нами у проведенні реакції імідів 2-карбоксі- і 2-карбометоксिमалеїнанілових кислот (5a,r) з азот- і сірковмісними біонуклеофілами (21). В результаті цих досліджень були отримані *o*-карбоксі(карбометокси)феніламіди 2-гетерилоцтових кислот (22a-x),



що містять ядро тіазолідину, 1,2-дігідрокіноксаліну і піперазину, як гетероциклічний фрагмент (схема 4).

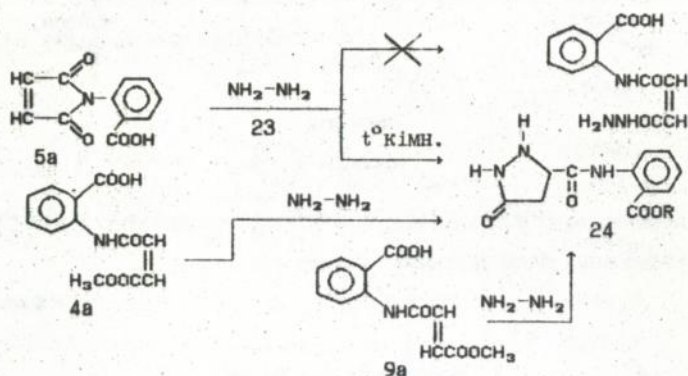
Схема 4



Гідразин, який містить у своїй структурі дві нуклеофільні групи здатний реагувати з малеїнімідами двома шляхами. Як правило, реакція протікає з розкриттям імідного циклу з утворенням відповідного гідразиду. В реакції іміду 2-карбоксималеїнанілової кислоти з гідразин-гідратом (23) замість очікуваного гідразиду отримали продукт приєднання до подвійного зв'язку, який було ідентифіковано нами як о-карбоксифеніламід 5-окспіразолідил-3-кар-

бонової кислоти (24). Аналогічний продукт отримано при гідразинізації метилових ефірів 2-карбоксималеїнанілової та 2-карбоксифумаранілової кислот (4а, 9а) (схема 5).

Схема 5



Трохи гірше, ніж з гідрaziном, відбувається приєднання до подвійного зв'язку з подальшою циклізацією в гетероциклічну структуру з реагентами, в яких аміногрупи ізольовані двома метиловими групами. В той час, як реакцію з гідразин-гідратом проводять при кімнатній температурі, взаємодія N-[2-карбокси(карбометокси)феніл]малеїніміду (5а,г) з етилендіамін-гідратом з утворенням о-карбокси(карбометокси)феніламіду 2-оксопіперазілоцтової кислоти відбувається при тривалому кип'ятінні (22д,е).

В ІЧ-спектрах о-карбоксифеніламідів 2-гетерилоцтових кислот (22д,е) спостерігаються широкі смуги в області 3300-2800 см⁻¹, які відповідають валентним коливанням асоційованої он-групи (ν_{OH}). Валентні коливання ν_{NH} гетероциклу спостерігаються при 3383-3200 см⁻¹, ν_{NH} (I амідна смуга) - при 3210-3180 см⁻¹, вален-

тним коливанням карбонільних груп ($\nu_{C=O}$) відповідають смуги в області 1780-1620 cm^{-1} . В результаті приєднання до подвійного зв'язку смуга вбирання, характерна для позаплощинних деформаційних коливань δ_{CH} цис-етиленового зв'язку, відсутня.

УФ-спектри вбирання аддуктів до подвійного зв'язку можна характеризувати наявністю смуг, аналогічних *N*-ацетилантранілової кислоти.

Мас-спектри вивченої серії сполук характеризуються наявністю малоінтенсивних іонів. Їх положення, відношення інтенсивностей іонів M^+ , $M+1^{+}$ і $M+2^{+}$, а також маса осколкових іонів підтверджують структуру *o*-карбоксі(карбометокси)феніламідів 2-гетерилоцтових кислот.

5. Біологічна активність похідних 2-карбоксіфеніламідів етилендикарбонових кислот

Для прискорення процесу пошуку закономірностей зв'язку "структура-дія", а також для скорочення кількості експериментальних досліджень на тваринах і підвищення ефективності виявлення БАС, було проведено комп'ютерне прогнозування біологічної активності з допомогою програми ОРАКУЛ. Отримані дані дозволили на кафедрах патології і фармакотерапії Української фармацевтичної академії та на базі НДІ мікробіології і імунології ім. І.І.Мечнікова цілеспрямовано провести фармакологічний скринінг на виявлення протизапальної, анальгетичної, гемостатичної та антимікробної активності. У більшості випадків дані прогнозу знайшли своє експериментальне підтвердження.

Вивчення протизапальної активності дозволило знайти три речовини, які діють на рівні і одну речовину, що перевищує по анти-

ексудативному ефекту дію препарату порівняння вольтарена.

Анальгетичну активність, що наближується по дії до анальгіну, показали дві речовини.

З десяти сполук, які вивчали на виявлення антикоагулянтної і гемостатичної активності, жодна не проявила антикоагулянтний ефект, а дві сполуки наближаються по дії до препарату порівняння - амінокапронової кислоти.

Отримані в результаті приєднання до подвійного зв'язку гетероцикли входять також в структуру деяких антимікробних препаратів. Так, ядро тіазолідину міститься в структурі антибіотика пеніциліна, окислений хіноксалін - в структурі таких антибактеріальних препаратів широкого спектру дії, як хіноксидін і діоксидін. Проводячи аналогію між структурами цих антимікробних препаратів та отриманими нами сполуками, а також урахувавши високий коефіцієнт довіри, була вивчена дія о-карбоксі(карбометокси)феніламідів 2-гетерилоцтових кислот у відношенні штамів *S.aureus*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *B.proteus*, *B.anthracoides*, *Candida albicans*. Мікробіологічний скринінг показав, що сполуки, які вивчались, чинять бактеріостатичний та бактеріцидний ефект в концентрації 25-200 мкг/мл.

Похідні 2-карбоксімалеїнанілової та 2-карбоксіфумаранілової кислот мають також значну діуретичну та помірну антигіпоксичну дію, інформація про які в банку даних програми ОРАКУЛ відсутня.

Антигіпоксичну активність на рівні препарату порівняння натрію оксидіурату показала одна сполука і одна перевищує його ефект на 46%.

Вивчення діуретичної активності в ряду сполук, що вивчались, дозволило з'ясувати, що вплив на виділювальну функцію нирок бі-

льше здійснюють амідн 2-карбоксіфумаранілової кислоти.

За класифікацією Сидорова синтезовану групу похідних 2-карбоксімалеїнанілової кислоти можна віднести до малотоксичних або практично нетоксичних речовин.

Фармакологічний скринінг дозволив виявити речовини з комплексною дією. Так, диметиламід 2-карбоксіфумаранілової кислоти проявляє значну протизапальну дію, що перевищує препарат порівняння вольтарен і діуретичну дію, яка перевищує в 2,3 рази дію гіпотіазиду, запропоновано для поглибленого фармакологічного дослідження і включено у план НДР кафедри патології УкрФА.

В И С Н О В К И

1. З метою пошуку нових фармакологічно активних сполук за удосконаленими і модифікованими методиками здійснено синтез похідних 2-карбоксімалеїнанілової і 2-карбоксіфумаранілової кислот. Отримані їх солі, метилові ефіри та амідн. Структурні особливості кислот, що вивчались, дозволили в результаті ряду хімічних перетворень отримати на їх основі раніше не вивчені похідні 2-гетерилоцтової (-акрилової, -янтарної) кислот, які містять залишки 4н-3,1-бензоксазин-4-ону, 3-арилхіназолону-4, 2-іміно(феніліміно)-4-оксостівазолідину, 1,2-дігідро-2-оксохіноксаліну, 2-оксопіперазіну, морфоліну та піперидину, як гетероциклічний фрагмент.

2. Досліджені можливі варіанти внутрішньомолекулярної циклодегідратації 2-карбоксімалеїнанілової кислоти: в середовищі оцтового ангідриду в присутності ацетату натрію відбувається утворення лактаму 2-ацетокси-4н-3,1-бензоксазин-4-он-2-акрилової кислоти; з оцтовим ангідридом або з пентаоксидом фосфору утворюється N-(2-карбоксіфеніл)малеїнімід. Розглянуті теоретичні міркування щодо механізму циклізації 2-карбоксімалеїнанілової кислоти в лактам 2-ацетокси-4н-3,1-бензоксазин-4-он-2-акрилової кислоти, який включає стадію утворення змішаного ангідриду з переходом в карбаніон і послідовним перегрупованням в ацетильовану конденсовану гетероциклічну структуру. Вивчена реакція гідролізу отриманої сполуки в N-(2-карбоксіфеніл)малеїнімід.

3. Теоретично обґрунтовано за допомогою методу молекулярної

механіки ММХ утворення міцного водневого зв'язку з реалізацією шестичленної квазіциклічної структури і димеру, проведено їх вивчення з допомогою ІЧ-спектроскопії. Експериментально підтверджено напрямок реакції етерифікації вищеназваної кислоти метиловим спиртом в присутності пентаоксиду фосфору. Установлено, що в реакцію вступає тільки карбоксильна група maleїнової кислоти.

4. В результаті проведених досліджень підтверджено підвищену здатність активованого подвійного зв'язку імідів і метилових ефірів 2-карбоксі(карбометокси)maleїнанілових кислот до приєднання азот- і сіркувмісних нуклеofilів. Взаємодія імідів з тіосечовиною, фенілтіосечовиною, о-фенілендіаміном і етилендіаміном приводить до утворення о-карбоксі(карбометокси)феніламідів 2-гетерил-оцтових кислот, що містять ядро тіазолідину, піперазину і хіноксаліну, як гетероциклічний фрагмент.

5. Вивчена реакційна здатність метилового ефіру 2-карбоксіmaleїнанілової кислоти в реакції A_{11} ; за допомогою квантово-хімічних розрахунків електронної густини за програмою MNDO визначено і мас-спектрометрично підтверджено переважне приєднання нуклеofilу до α -вуглецевого атому. В результаті було отримано метилові ефіри о-карбометокси-2-гетерилсукцинанілових кислот. Іміди 2-карбоксі(карбометокси)maleїнанілових кислот в реакції з морфоліном та піперидином дають відповідні похідні сукциніміду.

6. Установлена аномальність реакції взаємодії іміду 2-карбоксіmaleїнанілової кислоти з гідразиним: замість очікуваного гідразиду було отримано аддукт до подвійного зв'язку - о-карбоксіфеніламід 5-оксопіразоліділ-3-карбонової кислоти. Аналогічний продукт отримано при гідразинолізі метилових ефірів 2-карбоксіmaleїнанілової та 2-карбоксіфумаранілової кислот.

7. Вивчена реакція циклізації 2-карбоксіфумаранілової кислоти та її функціональних похідних з утворенням відповідних похідних 4н-3,1-бензоксазин-4-он-2-транс-акрилової кислоти. На основі аміду вищеназваної кислоти проведена реакція з ариламинами з утворенням амідів 3-арилхіназолін-4-он-2-транс-акрилової кислоти.

8. Під час виконання експериментальної частини отримано 71 не описана в літературі сполука, для яких визначені фізико-хімічні константи, вивчені УФ-, ІЧ- і мас-спектри, індивідуальність підтверджена методом ТМХ в різних системах розчинників. Методом потенціометричного титрування в середовищі 60%-ного водного

діоксану визначені величини рКа для 2-карбоксималеїнанілової і 2-карбоксіфумаранілової кислот.

9. Фармакологічні дослідження дозволили виявити сполуки з протизапальною (4), анальгезуючою (2), антигіпоксичною (2), гемостатичною (2), діуретичною (9) дією, що наближується або діє на рівні препаратів порівняння. Встановлено елементи залежності між хімічною будовою синтезованих сполук та їх біологічною дією.

10. За результатами досліджень диметиламід 2-карбоксіфумаранілової кислоти, що має виражену діуретичну і протизапальну дію, включено в план НДР кафедри патології Української фармацевтичної академії на 1993-1994 роки для поглибленого вивчення.

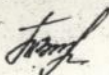
Основний зміст роботи викладено в наступних публікаціях:

1. Синтез, реакційна здатність та біологічна активність похідних дикарбонових кислот з алкільними, арильними і гетероциклічними замісниками / В.П.Черних, І.С.Гриценко, В.І.Гридасов та інш. // Фармац. журнал. - 1991. - №4. - С.48-63.
2. Синтез, свойства и биологическая активность амидных производных бутан(транс-бутен)диовых кислот / В.П.Черных, Е.Л.Снитковский, Е.М.Сопельник и др. // Сб. науч. тр. Рязанского мед. ин-та. "Синтез и контроль качества лекарств". - С.68-75.
3. Поиск новых фармакологически активных соединений в ряду производных дикарбоновых кислот / В.П.Черных, З.И.Коваленко, Л.И.Тихова и др. // Тез. докл. Всесоюз. конф. "Результаты и перспективы науч. исслед. по биотехнологии и фармации", 29 июня - 1 июля 1989 г. - Ленинград, 1989. - С.48.
4. Синтез и биологическая активность производных дикарбоновых кислот и гетероциклических соединений, полученных на их основе / В.П.Черных, В.И.Гридасов, Е.М.Сопельник и др. // Тез. докл. V съезда фармацевтов БССР "Пути улучшения организации и повышения качества лекарственного обеспечения населения", май 1989 г. - Минск, 1989. - С.172.
5. Синтез, физико-химические свойства и фармакологическая активность в ряду производных дикарбоновых кислот / В.П.Черных, В.И.Гридасов, Е.М.Сопельник и др. / Тез. докл. III съезда фармацевтов ТССР. - Ашхабад, 1989. - С.182-183.
6. Синтез и фармакологическая активность производных этан-, бутан-

- и бутендиовых кислот / В.П.Черных, Е.М.Сопельник, Е.Л.Снитковский и др. // Тез. докл. VI съезда фармакологов УССР "Фармакология: состояние и перспективы исследований", 25-27 сентября 1990 г. - Харьков, 1990. - С.339.
7. Машинное прогнозирование биологической активности и синтез в ряду производных дикарбоновых кислот / Е.М.Сопельник, С.Н.Коваленко, Л.А.Шемчук и др. // Тез. докл. 10-й конф. молодых ученых "Синтез и исслед. биологич. актив. соедин.". - Рига, 1989. - С.115.
8. Синтез и биологическая активность производных этан-, этилен- и бутандикарбоновых кислот / В.П.Черных, Т.В.Вошко, И.А.Журавель и др. // Сб. науч. тр. Запорожского мед. ин-та "Пути повышения эффективности фармацевтической науки и практики". - Запорожье, 1991. - С.276-277.
9. Е.М.Сопельник, Т.В.Вошко. Синтез биологически активных соединений на основе α -замещенных амидов малеиновой кислоты // Тез. докл. XVI науч. конф. молодых ученых и специалистов Харьк. НИИ эндокринол. и химии гормонов "Актуал. вопр. соврем. эндокринол. и химии гормонов". - Харьков, 1989. - С.25.
10. Синтез биологически активных производных 2-(3-, 4-)карбоксо-фениламида этилендикарбоновых кислот / Е.М.Сопельник, Т.В.Вошко, В.А.Саганенко, Нажиб Рамез // Тез. докл. XVII науч. конф. молодых ученых и специалистов Харьк. НИИ эндокринол. и химии гормонов "Актуал. вопр. соврем. эндокринол. и химии гормонов". - Харьков, 1989. - С.25.
11. Е.М.Сопельник, Т.В.Вошко. Синтез и биологическая активность 2-карбоксофумараниловой кислоты и ее производных / Тез. докл. науч.-практ. конф. "Актуальные вопросы фармацевтической науки и практики". - Курск, 1991. - С.20-21.
12. Поиск новых биологически активных веществ в ряду производных этан- и этилендикарбоновых кислот / Е.М.Сопельник, Е.Л.Снитковский, Е.А.Гурова и др. // Тез. докл. республ. научн. конф. "Реализация научных достижений в практической фармации", 16-18 октября 1991 г. - Харьков, 1991. - С.141-142.
13. Нуклеофильное присоединение морфолина и пиперидина к активированной двойной связи амидных производных этилендикарбоновых кислот / Т.В.Вошко, Е.М.Сопельник, М.А.Мамон, А.О.Порохняк // Тез. докл. науч.-практ. конф. "Лекарственные средства Украины,

синтез, научные исследования, производство, реализация", 23-24 сентября 1992 г. - Харьков, 1992. - С.119.

14. Т.В.Вощко, Е.М.Сопельник. Реакции нуклеофильного присоединения к активированной двойной связи амидных производных этилендикарбоновых кислот // Тези доповідей XVI Української конф. з органічної хімії. - Тернопіль, 1992. - С.138.



Підп. до друку 11.07.24 Формат 60×84^{1/8}. Папір. друк. Друк офсетний.
Умовн. друк. арк. 10 Умовн. фарбо-відб. 12 Облік-вид. арк. 10
Тираж 100 прим. Зам. № 1560. Безплатно.

Харківське орендне поліграфічне підприємство.
310093, Харків, вул. Свердлова, 115.

0150

AB 27.542

AB 27.542