

Кожухарь Вячеслав Юрьевич

**СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ 4-АРИЛ-2-АРИЛАМИНО-4-ОКСОБУТ-2-
ЕНОВЫХ КИСЛОТ НА ОСНОВЕ 3-ИМИНО-3Н-ФУРАН-2-ОНОВ
И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Самара – 2017

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

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор **Пулина Наталья Алексеевна**

Официальные оппоненты:

Шевурдов Владимир Петрович - доктор фармацевтических наук, профессор; федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», кафедра органической и фармацевтической химии, профессор кафедры

Новиков Михаил Станиславович - доктор фармацевтических наук, доцент; федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармацевтической и токсикологической химии, доцент кафедры

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

Защита диссертации состоится «__» _____ 2017 г. в __.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.085.06 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171) и на сайте (<http://www.samsmu.ru/science/referats>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «__» _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук,
доцент

Петрухина Ирина Константиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время получено значительное количество N-замещенных 2-амино-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот и их производных различного строения, а также определена некоторая перспективность поиска среди них новых отечественных фармацевтических субстанций с противовоспалительным, анальгетическим, противомикробным, местноанестезирующим и др. действием [Залесов В.В., 2004; Козьминых В.О., 2004; Пулина Н.А., 2007]. Однако имеется практическая возможность расширения данных рядов соединений за счет реализации следующих подходов: а) использование в качестве исходных соединений 3-иминофуран-2-онов в реакциях с различными нуклеофильными реагентами, что позволяет получать химические соединения, трудно- или недоступные для синтеза другими методами; б) введение в структуру N-замещенных 2-амино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот, их производных потенциальных фармакофорных фрагментов и функционализированных групп за счет расширения набора ОН-, SH- и NH-нуклеофилов, ранее не используемых в данном исследовании; в) модификация структуры полученных производных, в частности, получение водорастворимых соединений, для расширения спектра фармакологических испытаний и выхода на новые виды биологического действия.

Интерес к химии 3-иминофуран-2-онов обусловлен наличием в молекуле нескольких электрофильных и нуклеофильных центров в гетероядре и заместителях, что позволяет вовлекать их в реакции дециклизации с образованием соответствующих производных 2,4-диоксобутановых кислот [Залесов В.В., Рубцов А.Е., 2001-2007], а также рециклизации и во взаимодействие по функциональным группам с сохранением гетероцикла. Вместе с тем, отмечается незначительное количество работ в данном направлении. Важным основанием дальнейшего изучения этого класса соединений служат имеющиеся сведения об их низкой токсичности, ввиду образования продуктов метаболизма, близких по строению к естественным метаболитам живого организма.

Таким образом, работа в области синтеза биологически активных производных 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот, а также изучение связи «структура-биологическое действие» полученных соединений является актуальной.

Степень разработанности темы исследования. К настоящему времени имеется ограниченное количество публикаций по химии 3-иминофуран-2-онов, а также отсутствует систематическое фармакологическое изучение продуктов их известных химических превращений. В данной работе осуществлены исследования по синтезу производных 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот, где в качестве базовых соединений выступают 5-арил-3-арилимино-3H-фуран-2-оны и нуклеофильные реагенты, содержащие потенциальные фармакофоры. Это позволяет на основе имеющихся литературных данных предвидеть и подтвердить направление протекающих реакций, структуру целевых продуктов, а также получать биологически активные вещества с различным спектром фармакологического действия.

Цель и задачи исследования. Целью данного исследования является синтез новых фармакологически активных производных 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот, полученных на основе химических превращений 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов с OH-, SH- и NH-нуклеофилами.

Для достижения поставленной цели планируется решить следующие **задачи**:

1. Осуществить синтез 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот с введением потенциальных фармакофорных фрагментов.

2. Усовершенствовать препаративный метод циклизации 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот в 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-оны.

3. Изучить взаимодействие 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов с OH- и SH-нуклеофильными реагентами (одно-, двух- и трехатомными спиртами, алифатическими и ароматическими тиолами).

4. Исследовать взаимодействие 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов с NH-нуклеофильными реагентами (4,5-замещенными этил-2-аминотиофен-3-карбоксилатами, 2-амино-4,5,6,7-тетрагидробензо[*b*]тиофен-3-карбонитрилом, 2-амино-5,6-дигидро-4*H*-циклопента[*b*]тио-фен-3-карбоксамидом, 2-амино-1,3-тиазолом, 2-аминобензо[*d*]тиазолом, 2-амино-5-*R*-1,3,4-тиадиазолом, 3-аминотиено[2,3*b*]пиридинами, 4-*R*-1,2,5-оксадиазол-3-аминами, морфолином, пиперазином и ароилгидразидами).

5. Получить водорастворимые соединения на основе 2-ариламино-1-[пиперазин-1-ил]-4-арилбут-2-ен-1,4-дионов.

6. На основании полученных результатов исследования фармакологической активности синтезированных веществ выявить соединения, обладающие анальгетической, гемостатической, противовоспалительной, инсектицидной, противомикробной, гипогликемической активностью, а также изучить взаимосвязь «строение-биологическое действие».

Научная новизна. Установлена возможность замены уксусного ангидрида на пропионовый для оптимизации циклизации 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот в 3-иминофуран-2-оны. Впервые изучено взаимодействие 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов с алифатическими и ароматическими тиолами, приводящее к тиоэфирам 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот. Впервые установлено, что этан-1,2-диол и пропан-1,2,3-триол раскрывают цикл 3-иминофуран-2-онов с образованием соответствующих эфиров 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот, находящихся в растворе в виде *Z*-, *E*-енаминокетонных форм. Получены неописанные ранее производные 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот, содержащие в структуре биологически активные фрагменты 2-(1,3-тиазолила), 2-(бензо[*d*]тиазолила), 2-(5-*R*-1,3,4-тиадиазолила), 3-(тиено[2,3*b*]пиридила), 3-(4-*R*-1,2,5-оксадиазолила). Показано, что направление реакции не меняется при взаимодействии с морфолином и пиперазином, в результате чего выделены соответствующие 2-(4-ариламино)-1-[пиперазин(морфолин)-1-ил]-4-арилбут-2-ен-1,4-дионы, а также получены водорастворимые соли, содержащие фрагмент пиперазина. Установлено, что выраженную анальгетическую и противовоспалительную активность проявляют 2-(5-*R*-1,3,4-тиадиазолил)амиды и пиперазиды 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот, содержащие в *para*-положении ариламинного фрагмента

электроноакцепторный заместитель. Выявлено, что введение двух электронодоноров в арильный радикал при атоме C⁴ и одного электронодонорного заместителя в *пара*-положение ариламиного фрагмента 2-ариламино-1-(пиперазин-1-ил)-4-фенилбут-2-ен-1,4-диона гидрохлоридов, способствует существенному увеличению гемостатического действия, в то же время, введение электроноакцептора в ариламиновый фрагмент, при наличии фенила в положении C⁴, приводит к усилению их инсектицидных свойств.

Научная новизна исследования подтверждена 1 патентом РФ, а также поданы 2 заявки на патент РФ на изобретение.

Теоретическая и практическая значимость работы. В ходе исследования усовершенствован удобный метод циклизации N-замещенных 2-амино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот под действием пропионового ангидрида для замены ангидрида уксусной кислоты (входит в «Список IV прекурсоров...» в ред. Постановления Правительства РФ от 02.07.2015 № 665). Разработаны или усовершенствованы препаративные методы синтеза неописанных ранее бутил-, изопропил-, 2-гидроксиэтил-, 2,3-дигидроксипропил-4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еноатов; S-R-4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-ентиоатов; этил-2-[2-(4-ариламино)-4-арилбут-4-оксо-2-енамидо]-R-бензо[b]тиофен-3-карбоксилатов, 2-[4-ариламино]-4-(4-арил)-N-(3-циано-4,5,6,7-тетрагидробензо[b]тиофен-2-ил)-4-оксобут-2-енамидов, 2-[2-[(4-бромфенил)амино]-4-(4-хлорфенил)-4-оксобут-2-енамидо]-4H,5H,6H-циклопен-та[b]тиофен-3-карбоксамидов; 4-арил-2-ариламино-4-оксо-N-(тиазол-2-ил)бут-2-енамидов; 2-ариламино-N-(бензо[d]тиазол-2-ил)-4-оксо-4-фенилбут-2-енамидов; 4-арил-2-ариламино-4-оксо-N-(5-R-1,3,4-тиадиазол-2-ил)бут-2-енамидов; 2-[4-ариламино]-4-(4-арил)-N-(2-R-4,6-диметилтиено[2,3b]пиридин-3-ил)-4-оксобут-2-енамидов; 2-ариламино-4-оксо-N-(4-R-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-4-фенилбут-2-енамидов; N'-[4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еноил]бензогидразидов; 2-(4-ариламино)-1-[пиперазин(морфолин)-1-ил]-4-арилбут-2-ен-1,4-дионов; 4-арил-2-(4-ариламино)-1-[пиперазин-1-ил]бут-2-ен-1,4-диона гидрохлоридов, которые просты по выполнению, легко воспроизводимы и могут быть использованы при синтезе новых биологически активных веществ. Предложено устанавливать подлинность соединений-лидеров: 2-(5-этил-1,3,4-тиадиазолил)амида 2-(4-бромфениламино)-4-оксо-4-фенил-2-бутеновой кислоты и 4-(2,4-диметилфенил)-2-(4-метоксифениламино)-1-[пиперазин-1-ил]бут-2-ен-1,4-диона гидрохлорида - методом ИК-спектроскопии; чистоту - методом тонкослойной хроматографии.

В процессе научной работы синтезировано 122 неописанных в литературе соединения, из них фармакологическому скринингу подвергнуто 74 вещества. Выявлены соединения-лидеры, проявляющие высокую анальгетическую, противовоспалительную, гемостатическую, инсектицидную активность при низкой острой токсичности. Установлены определенные закономерности биологического действия от химической структуры веществ, которые могут быть использованы в дальнейшем поиске биологически активных соединений в ряду производных 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот.

Внедрение результатов исследования. Результаты научных исследований внедрены в научно-исследовательский и учебный процесс кафедры общей и органической химии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального

образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также кафедры природных и биологически активных соединений и научно-исследовательской лаборатории биологически активных веществ федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет».

Методология и методы исследования. В научном исследовании был использован широкий набор классических методов органического синтеза и выделения продуктов реакции. Строение полученных соединений доказано современными методами анализа структуры, состава и чистоты: ИК-, ЯМР ^1H -, ЯМР ^{13}C -спектроскопии, масс-спектрометрии, элементным анализом, тонкослойной хроматографией. Фармакологическое действие полученных веществ изучено согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Москва, 2013), обработка полученных результатов проводилась с использованием лицензионных прикладных статистических программ Statistica 8.0, Microsoft Office Excel. Прогнозирование возможного спектра биологического действия синтезированных соединений *in silico* осуществлялось с использованием программы PASS, включающей молекулярные механизмы действия фармакологически активных веществ.

Степень достоверности. Обоснованность и достоверность полученных данных подтверждена с помощью использования современных приборов для определения структуры и контроля чистоты синтезированных соединений. Для проведения фармакологического скрининга использовались стандартные утвержденные методики.

Апробация результатов. Основные результаты диссертационной работы представлены на итоговых научных конференциях ФГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России (Пермь, 2010-2015); на региональной научной конференции «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции» (Пятигорск, 2011); на Всероссийских конференциях: «Университетская наука: взгляд в будущее» (Курск, 2013), «Актуальные вопросы медицинской науки» (Ярославль, 2013), «XVI Молодежная Всероссийская школа-конференция по органической химии» (Пятигорск, 2013), «VI Молодёжная конференция ИОХ РАН» (Москва, 2014), «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2014); на международных конгрессах и конференциях: International Congress on Organic Chemistry dedicated to the 150-th anniversary of the Butlerov's Theory of Chemical Structure of Organic Compounds (Казань, 2011); «Фармация и общественное здоровье» (Екатеринбург, 2012), «Инновации молодых ученых» (Ставрополь, 2012), «Topical areas of fundamental and applied research II» (North Charleston, SC, USA, 2013), «Техническая химия. От теории к практике» (Пермь, 2010, 2014, 2016), «Развитие науки в XXI веке» (Харьков, 2015); на XXIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2016).

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Синтез и строение новых производных 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот, содержащих биологически активные группировки.

2. Результаты исследования химического поведения 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов с одно-, двух- и трехатомными спиртами, алифатическими и ароматическими тиолами, 4,5-замещенными этил-2-аминотиофен-3-карбоксилатами, 2-амино-4,5,6,7-тетрагидробензо[*b*]тиофен-3-карбонитрилом, 2-амино-5,6-дигидро-4*H*-циклопента[*b*]тиофен-3-карбоксамидом, 2-амино-1,3-тиазолом, 2-аминобензо[*d*]тиазолом, 2-амино-1,3,4-тиадиазолом, 3-аминотиено[2,3*b*]пиридином, 4-*R*-1,2,5-оксадиазол-3-амином, морфолином, пиперазином и ароилгидразидами.

3. Установленные взаимосвязи строения и биологической активности синтезированных веществ, а также выбор перспективных соединений для дальнейших фармакологических испытаний.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (№ государственной регистрации 01.9.50 007419) и в рамках выполнения проектов РФФИ № 08-03-00488, 11-03-00882-а, 14-03-96016 р_урал_а.

Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов. Все этапы исследовательской работы по поиску, анализу и обобщению научной литературы по синтезу и химическим свойствам производных *N*-замещенных 4-арил-2-амино-4-оксобут-2-еновых кислот, выполнению химических экспериментов, анализу и интерпретации экспериментальных и спектральных данных, обработке и обобщению полученных результатов биологических испытаний, апробации работ на научных конференциях проведены лично автором.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия», а именно пункту 1 – исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения структуры синтетического и природного происхождения и выявление связей и закономерностей между строением и свойствами веществ.

Публикации материалов исследования. По теме диссертации опубликованы 24 научные работы, из них: 5 статей в изданиях, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК при Минобрнауки России, получен 1 патент РФ, поданы 2 заявки на патент РФ на изобретение.

Структура и объем работы. Материалы диссертационного исследования изложены на 199 страницах машинописного текста. Работа состоит из введения, литературного обзора (гл. 1), материалов и методов исследования (гл. 2), обсуждения собственных исследований (гл. 3), экспериментальной химической части (гл. 4), изучения результатов исследования биологической активности синтезированных соединений (гл. 5), заключения, списка литературы, приложений. Диссертация содержит 55 схем, 43 таблицы и 11 рисунков. Библиография включает 199 работ, из которых 54 – на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись синтезированные производные 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот на основе 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов.

Температуру плавления (разложения) полученных веществ определяли на приборе ПТП-2 капиллярным методом. ИК-спектры записаны на приборе ФСМ-1201, спектры ЯМР ^1H , ЯМР ^{13}C - на приборах Varian Mercury Plus (300 МГц), Bruker Avance III (400 и 100 МГц). Масс-спектры зарегистрированы на хромато-масс-спектрометре Shimadzu «GCMS-QP2010 Ultra». Данные элементного анализа, выполненного на приборе Leco CNH(S)-932, соответствуют вычисленным значениям. Химическую чистоту соединений и протекание реакции контролировали методом ТСХ на пластинках «Sorbfil» ПТСХ П-А-УФ-254 в системах эфир-бензол-ацетон, 10:9:1, бензол-эфир, 1:1. Пятна детектировали парами йода и УФ-излучением. Растворимость полученных соединений определяли по методике ГФ РФ XIII издания.

Для выполнения экспериментов использовались коммерчески доступные реагенты из источников Alfa Aesar[®], Acros[®], Sigma Aldrich[®].

Изучение острой токсичности синтезированных соединений выполняли на здоровых половозрелых белых нелинейных мышах обоего пола массой 19-21 г, которые ранее не использовались в экспериментах, с определением LD₅₀.

Анальгетическую активность (АА) определяли на белых нелинейных мышах обоего пола массой 19-21 г. При скрининге по методу «горячая пластина» исследуемые вещества вводили перорально (п/о) в дозе 50 мг/кг в виде взвеси в 2% крахмальном растворе. Препаратами сравнения служили метамизол натрия (50 мг/кг), диклофенак (10 мг/кг) и нимесулид (50 мг/кг), вводимые аналогично. В методе «уксусные корчи» изучаемые вещества и метамизол натрия вводили в дозе 50 мг/кг внутривентриально (в/б) в виде взвеси в 2% крахмальном растворе, контрольным животным вводили в/б его эквивалентное количество.

Противовоспалительную активность (ПВА) полученных соединений изучали на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением 0,1 мл 1% водного раствора каррагинина белым нелинейным крысам обоего пола массой 170-200 г. Соединения вводили п/о в дозе 50 мг/кг в виде взвеси в 2% крахмальном растворе за 1 ч до введения флогогенного агента. Препаратом сравнения служил диклофенак в дозе 10 и 50 мг/кг, вводимые аналогично.

Гипогликемическую активность (ГА) изучали на модели аллоксан-индуцированного сахарного диабета (АСД). Опыты выполнены на белых нелинейных крысах обоего пола массой 180-200 г. Экспериментальную гипергликемию моделировали подкожным введением аллоксана в дозе 170 мг/кг. Изучаемые соединения вводили п/о крысам с АСД в дозе 50 мг/кг в виде взвеси в 2% крахмальном растворе. Контрольным животным вводили эквивалентное количество того же раствора. Концентрацию глюкозы в крови животных определяли до введения исследуемых соединений, а также через 120 мин после него. Препарат сравнения – метформин (50 мг/кг), вводимый аналогично.

Ориентировочно-исследовательская реакция изучена на крысах с АСД в тесте «открытое поле»; оценивалась по горизонтальной и вертикальной двигательной активности, числу заглядываний в «норки», в то время как эмоциональный статус животного определяли по уровню дефекации и груминговой активности.

Действие соединений на периферический пул фагоцитов оценивали в реакции фагоцитирующей активности нейтрофилов крови крыс при введении исследуемых соединений на фоне АСД. Для этого к 100 мкл цитратной крови крыс добавляли корпускулярный антиген, осуществляли премирование инсулином, окрашивали и микроскопировали под иммерсией. Подсчитывали фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) в %, фагоцитарный индекс нейтрофилов (ФИН) и фагоцитарное число (ФЧ).

Исследование влияния соединений на свертывающую систему крови проводили *in vitro* с помощью коагулометра «АПГ4-02-П» с использованием цитратной (3,8%) крови беспородных кроликов в соотношении 9:1. Соединения вводили в концентрации 1 мг/мл. Препаратом сравнения служил этамзилат в аналогичной концентрации.

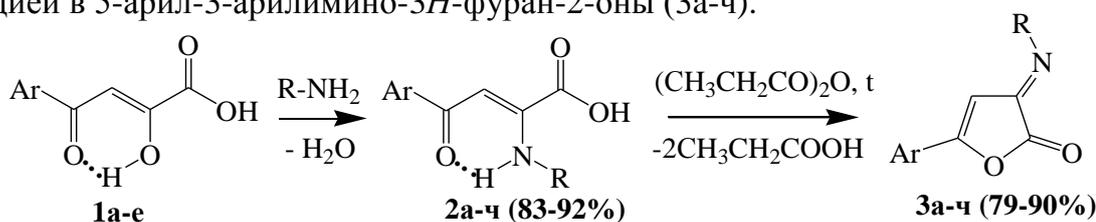
Противомикробную активность (ПМА) синтезированных соединений по отношению к тест-культурам микроорганизмов *St. aureus* ATCC 6538-P и *E. coli* ATCC 25922 определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде. Микробная нагрузка составила $2,5 \times 10^5$ микробных тел/мл. Учет результатов проводили через 18-20 ч термостатирования при температуре 37 °С. Для всех исследуемых соединений определяли минимальные ингибирующие концентрации (МИК) в мкг/мл. Препаратами сравнения служили хлоргексидин и диоксидин.

Инсектицидная активность производных была изучена на личинках комаров *Chironomidae* по следующей методике: личинки комаров помещали в чашку Петри с 5 мл 0,1% водного раствора исследуемого соединения, эталона сравнения (имидаклоприд) при температуре 20-25 °С. В качестве контроля использовали эквивалентное количество воды очищенной. Активность веществ оценивали по времени, необходимому для гибели личинок.

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Синтез 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот и 5-арил-3-арилимино-3H-фуран-2-онов

С целью синтеза исходных соединений первоначально взаимодействием 4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых кислот (1а-е) с ароматическими аминами получены известные N-замещенные 2-ариламино-4-арил-4-оксобут-2-еновые кислоты (2а-у) и новые 4-арил-4-оксо-2-[(4-сульфамойлфенил)амино]бут-2-еновые кислоты (2ф-ч) с последующей циклизацией в 5-арил-3-арилимино-3H-фуран-2-оны (3а-ч).



1: Ar=C₆H₅ (а), 4-СН₃С₆H₄ (б), 4-СН₃ОС₆H₄ (в), 2,4-(СН₃)₂С₆H₃ (г), 2,4-(СН₃О)₂С₆H₃ (д),

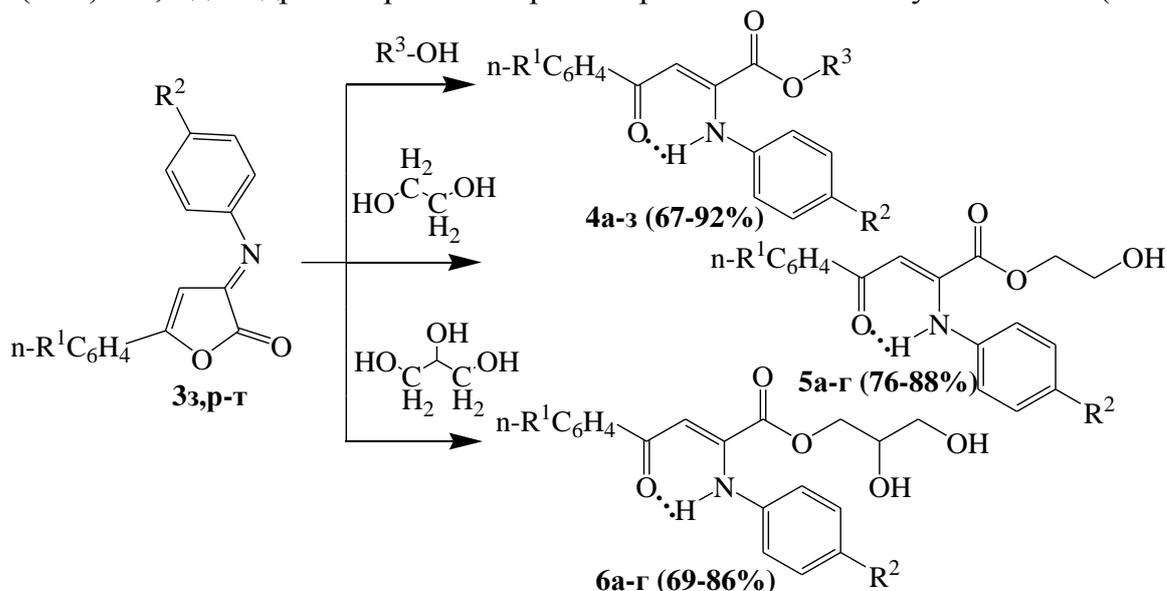
4-ClC₆H₄ (е). **2,3**: Ar=C₆H₅, R=4-CH₃OC₆H₄ (а), 4-C₂H₅OC₆H₄ (б), 4-BrC₆H₄ (в), 4-ClC₆H₄ (г), 4-IC₆H₄ (д), 3-NO₂C₆H₄ (е), 2-CH₃-4-ClC₆H₃ (ж); Ar=4-CH₃C₆H₄, R=4-BrC₆H₄ (з), 4-ClC₆H₄ (и), 4-IC₆H₄ (к); Ar=2,4-(CH₃)₂C₆H₃, 4-CH₃OC₆H₄ (л); Ar=4-CH₃OC₆H₄, R=4-BrC₆H₄ (м), 4-ClC₆H₄ (н), 4-IC₆H₄ (о); Ar=2,4-(CH₃O)₂C₆H₃, R=4-BrC₆H₄ (п); Ar=4-ClC₆H₄, R=4-BrC₆H₄ (р), 4-ClC₆H₄ (с), 4-IC₆H₄ (т), 3-NO₂C₆H₄ (у); R=4-SO₂NH₂C₆H₄, Ar=C₆H₅ (ф), 4-CH₃C₆H₄ (х), 4-CH₃OC₆H₄ (ц), 4-ClC₆H₄ (ч).

В дальнейшем нами усовершенствован способ синтеза фуран-2-онов 3а-ч на основе циклизации соответствующих кислот 2 под действием пропионового ангидрида. Он отличается хорошей воспроизводимостью и высоким выходом целевых продуктов.

2. 5-Арил-3-арилимино-3Н-фуран-2-оны в реакциях с нуклеофильными реагентами

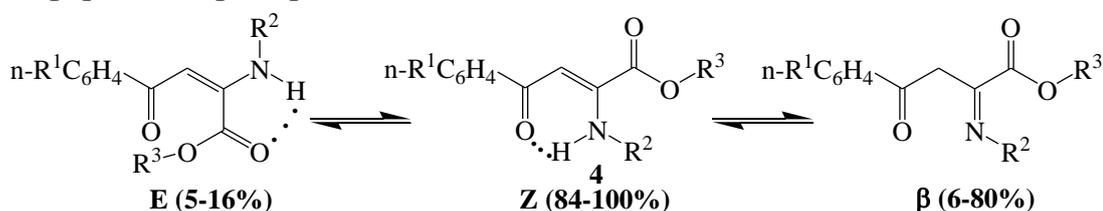
2.1. Взаимодействие 5-арил-3-арилимино-3Н-фуран-2-онов с одно-, двух- и трехатомными спиртами

3-Иминофуран-2-оны в реакцию с двух- и трехатомными предельными спиртами ранее не вовлекались. Нами установлено, что бутанол-1, изопропанол, этан-1,2-диол и пропан-1,2,3-триол раскрывают цикл фуран-2-онов 3, давая, соответственно, 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еноаты (4а-з), 2-гидроксиэтил-4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еноаты (5а-г) и 2,3-дигидроксипропил-4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еноаты (6а-г):



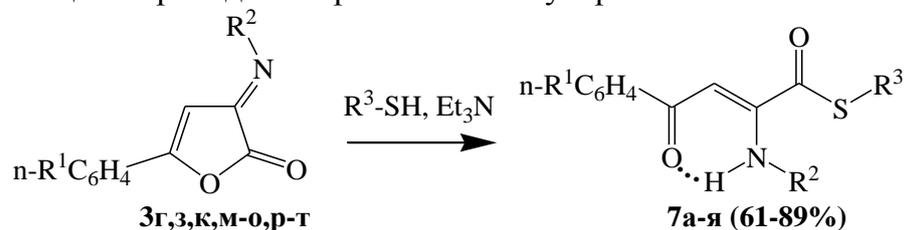
4: R³=CH(CH₃)₂, R¹=CH₃, R²=Br (а); R¹=Cl, R²=Br (б), Cl (в), I (г); R³=n-C₄H₉, R¹=CH₃, R²=Br (д); R¹=Cl, R²=Br (е), Cl (ж), I (з). **5,6**: R¹=CH₃, R²=Br (а); R¹=Cl, R²=Br (б), Cl (в), I (г).

Согласно данным спектров ЯМР ¹H, в растворе ДМСО-d₆ Z-енаминокетонная форма наблюдается у всех изученных веществ (4-6). E-енаминокетонная форма обнаружена у соединений 4, 5. β-Кетоиминная форма присутствует только у производных 4д-з. Ниже приведены формы на примере соединений 4:



2.2. Взаимодействие 5-арил-3-арилимино-3H-фуран-2-онов с алифатическими и ароматическими тиолами

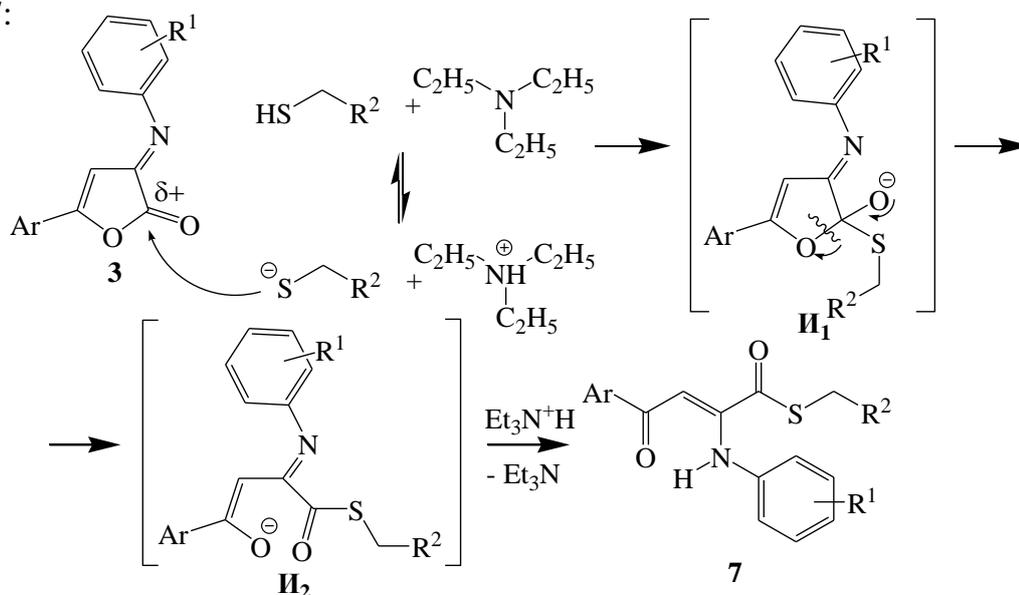
Ранее взаимодействие фуран-2-онов с SH-нуклеофильными реагентами не изучалось. Нами установлено, что алифатические и ароматические тиолы раскрывают цикл фуран-2-онов 3, давая с хорошим выходом соответствующие S-R-4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-ентиоаты (7а-я). Реакцию проводили при эквимолекулярном соотношении реагентов и триэтиламина:



7: R¹=H, R²=4-ClC₆H₄, R³=C₃H₇ (а), C₄H₉ (б), C₆H₁₃ (в), C₆H₁₁ (г); R¹=CH₃, R²=4-BrC₆H₄, R³=C₃H₇ (д), C₄H₉ (е), C₆H₁₃ (ж), C₁₂H₂₅ (з), 4-CH₂C₆H₄ (и), R²=4-IC₆H₄, R³=C₃H₇ (к); R¹=CH₃O, R³=C₆H₁₁, R²=4-BrC₆H₄ (л), 4-ClC₆H₄ (м), 4-IC₆H₄ (н); R¹=4-ClC₆H₄, R²=4-BrC₆H₄, R³=C₄H₉ (о), C₁₂H₂₅ (п), C₆H₁₁ (р), 4-CH₂C₆H₄ (с); R¹=R²=4-ClC₆H₄, R³=C₃H₇ (т), C₄H₉ (у), C₆H₁₃ (ф), C₁₂H₂₅ (х), C₆H₁₁ (ц), 4-CH₂C₆H₄ (ч); R¹=4-ClC₆H₄, R²=4-IC₆H₄, R³=C₃H₇ (ш), C₄H₉ (щ), C₆H₁₃ (ы), C₁₂H₂₅ (э), C₆H₁₁ (ю), 4-CH₂C₆H₄ (я).

Характер полученных спектров свидетельствует о существовании соединений 7 в кристаллическом состоянии и в растворе ДМСО-d₆ в виде Z-енаминокетонной формы. Кроме того, производные 7и,с,ч,я находятся в растворе в цис-транс равновесии, с преобладанием Z-изомера, содержание которого колеблется от 80 до 89%.

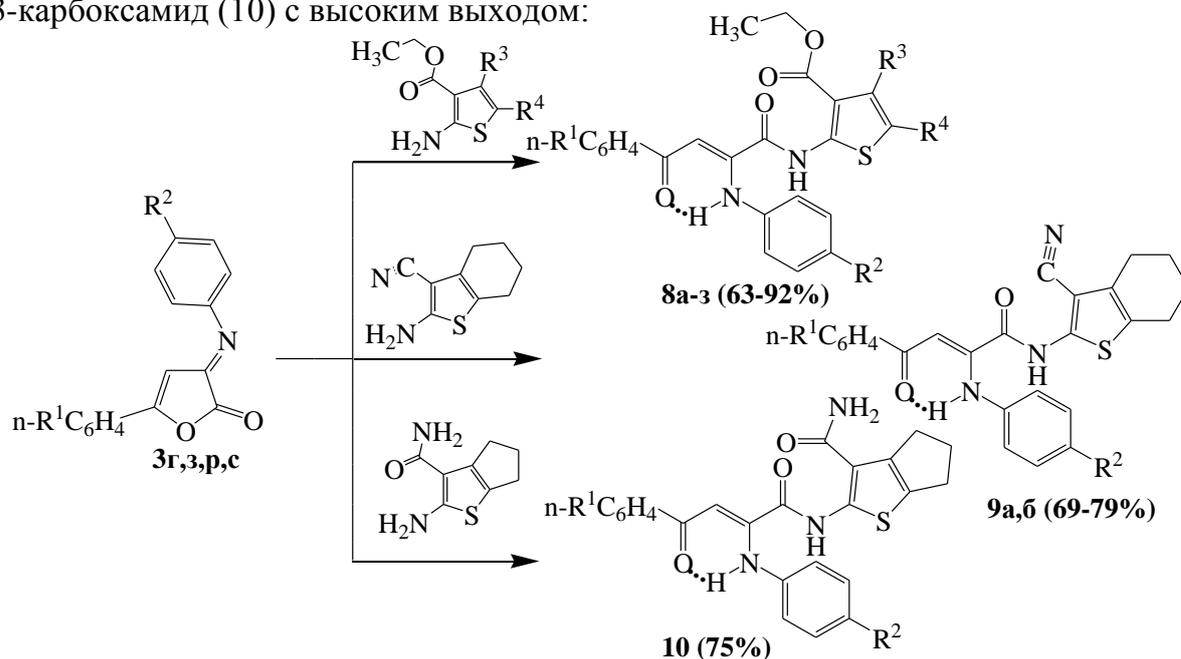
Образование тиозэфиров 7, по-видимому, начинается с активации тиольной группы основанием (триэтиламино), с последующей атакой по атому С² 3-иминофуранона 3 через тетраэдрический интермедиат **И₁**. Дальнейшее раскрытие цикла приводит к получению ациклического интермедиата **И₂**, который стабилизируется, образуя соединения 7:



2.3. Реакция 5-арил-3-арилимино-3H-фуран-2-онов с 2-аминотиофенами Гевальда

Взаимодействием фуран-2-онов 3г,з,р,с в среде безводного толуола с 2-аминотиофенами Гевальда получены этил-2-[2-(4-ариламино)-4-арилбут-4-оксо-2-

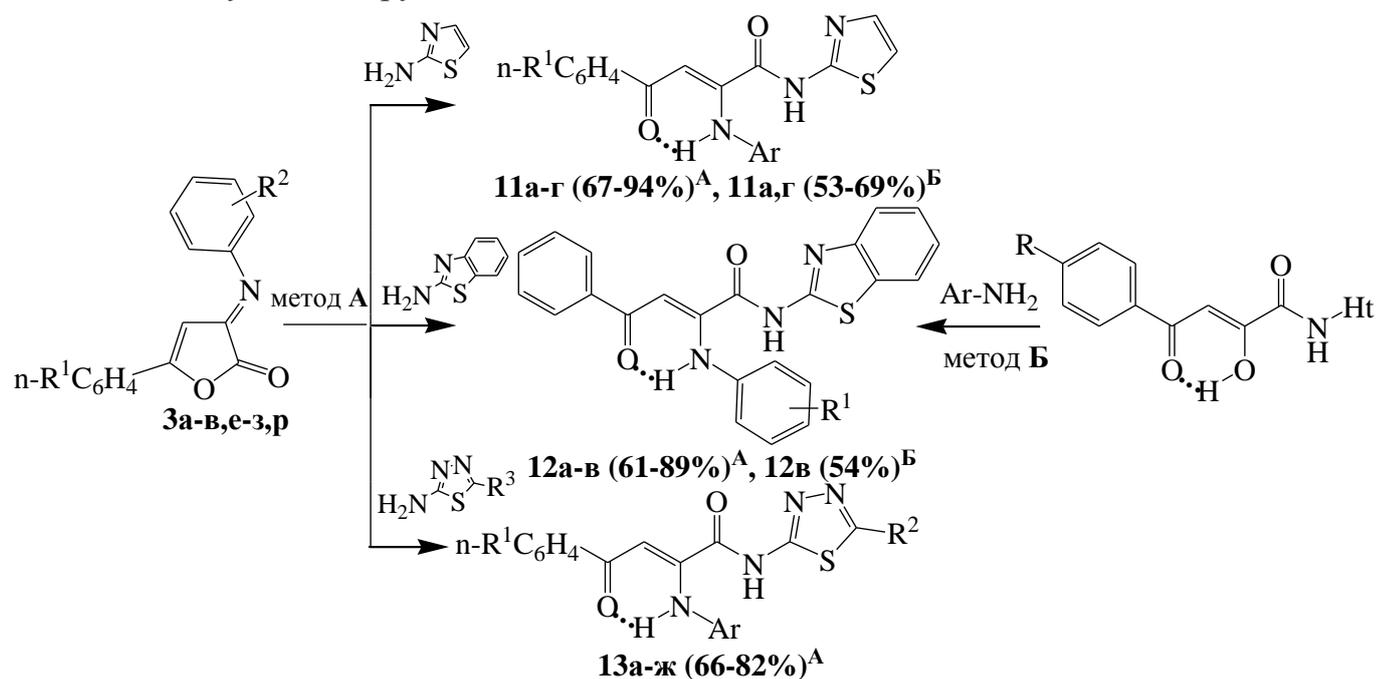
енамидо]-R-бензо[*b*]тиофен-3-карбоксилаты (8а-з), 2-[4-ариламино]-4-(4-арил)-N-(3-циано-4,5,6,7-тертагидробензо[*b*]тиофен-2-ил)-4-оксобут-2-енамиды (9а,б) и 2-[2-[(4-бромфенил)амино]-4-(4-хлорфенил)-4-оксобут-2-енамидо]-4,5,6,7-тетрагидробензо[*b*]тиофен-3-карбоксамид (10) с высоким выходом:



8: R¹=H, R²=4-ClC₆H₄, R³+R⁴=(CH₂)₄ (а); R¹=CH₃, R²=4-BrC₆H₄, R³+R⁴=(CH₂)₄ (б); R¹=Cl, R²=4-BrC₆H₄, R³=R⁴=CH₃ (в), R³+R⁴=(CH₂)₄ (г), R³+R⁴=(CH₂)₃ (д), R²=4-ClC₆H₄, R³=R⁴=CH₃ (е), R³+R⁴=(CH₂)₄ (ж), R³+R⁴=(CH₂)₃ (з). **9:** R¹=Cl, R²=4-BrC₆H₄ (а), R²=4-ClC₆H₄ (б). **10:** R¹=Cl, R²=4-BrC₆H₄.

2.4. Реакции 5-арил-3-арилимино-3H-фуран-2-онов с 2-амино-1,3-тиазолом, 2-аминобензо[*d*]тиазолом, 2-амино-5-R-1,3,4-тиадиазолом

Представляло интерес продолжить химическую модификацию 2,4-диоксобутановых кислот путем образования новых гетариламидов 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот, но полученных другим методом, по схеме:

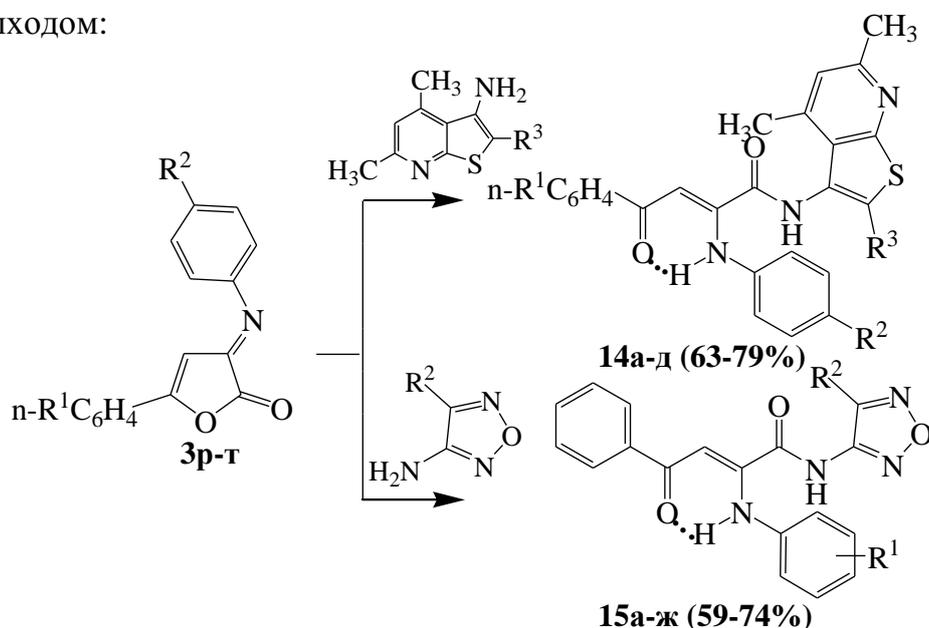


11: $R^1=H$, $Ar=4-BrC_6H_4$ (а), $3-NO_2C_6H_4$ (б), $2-CH_3C_6H_3-4-Cl$ (в); $R^1=Cl$, $Ar=4-BrC_6H_4$ (г). **12:** $R^1=4-BrC_6H_4$ (а), $3-NO_2C_6H_4$ (б), $4-CH_3OC_6H_4$ (в). **13:** $R^1=H$, $Ar=4-BrC_6H_4$, $R^2=C_2H_5$ (а), C_2H_4SH (б); $Ar=2-CH_3C_6H_3-4-Cl$, $R^2=C_2H_5$ (в); $Ar=4-C_2H_5COOC_6H_4$, $R^2=C_2H_4SH$ (г); $R^1=Cl$, $Ar=4-BrC_6H_4$, $R^2=H$ (д), CH_3 (е); $R^1=CH_3$, $Ar=4-BrC_6H_4$, $R^2=CH_3$ (ж).

Фуран-2-оны **3** взаимодействуют с соответствующими аминами в среде безводного толуола при кипячении 1-5 ч с образованием 4-арил-2-ариламино-4-оксо-N-(тиазол-2-ил)бут-2-енамидов (**11а-г**), 2-ариламино-N-(бензо[*d*]тиазол-2-ил)-4-оксо-4-фенилбут-2-енамидов (**12а-в**) и 4-арил-2-ариламино-4-оксо-N-(5-R-1,3,4-тиадиазол-2-ил)бут-2-енамидов (**13а-ж**) (метод А). Для подтверждения строения гетариламида **11а,г**, **12в** получены встречным синтезом, известным ранее, на основе реакции гетариламидов 4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых кислот с ароматическим амином (метод Б) с более низким выходом. Согласно спектрам ЯМР 1H , соединения **12а-в** находятся в растворе ДМСО- d_6 только в *Z*-кетонаминной форме, остальные вещества существуют как равновесные смеси двух кетонаминных таутомеров с преобладанием *Z*-изомера, содержание которого составляет 65-95%.

2.5. Взаимодействие 5-арил-3-арилимино-3H-фуран-2-онов с 3-аминотиено[2,3b]пиридинами и 4-R-1,2,5-оксадиазол-3-аминами

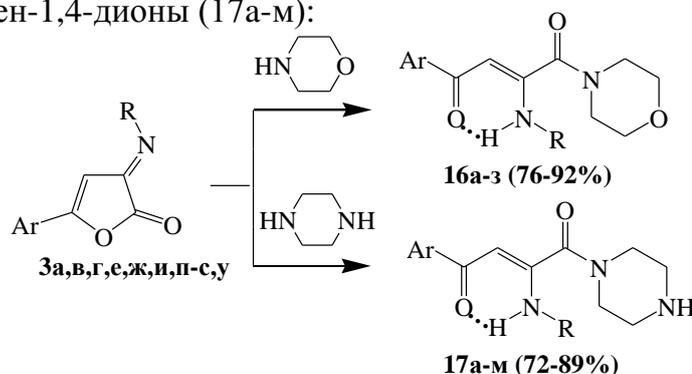
Нами установлено, что фуран-2-оны **3p-т** взаимодействуют с 3-аминотиено[2,3b]пиридинами и 4-R-1,2,5-оксадиазол-3-аминами при эквимолекулярном соотношении реагентов в среде безводного толуола при кипячении, давая 2-[4-ариламино]-4-(4-арил)-N-(2-R-4,6-диметилтиено[2,3b]пиридин-3-ил)-4-оксобут-2-енамиды (**14а-д**) и 2-ариламино-4-оксо-N-(4-R-1,2,5-оксадиазол-3-ил)-4-фенилбут-2-енамиды (**15а-ж**) с хорошим выходом:



14: $R^1=Cl$, $R^2=Br$, $R^3=4-CNC_6H_4$ (а), $COCC_6H_5$ (б); $R^1=R^2=Cl$, $R^3=4-CNC_6H_4$ (в), $COCC_6H_5$ (г); $R^1=Cl$, $R^2=I$, $R^3=4-CNC_6H_4$ (д). **15:** $R^1=4-BrC_6H_4$, $R^2=CH_3$ (а), $C(CH_3)_3$ (б), $CON(CH_3)_2$ (в), $CONC_6H_5$ (г), $C_{10}H_{15}$ (д); $R^1=4-C_2H_5COOC_6H_4$, $R^2=CH_3$ (е), $CON(CH_3)_2$ (ж). ($C_{10}H_{15}=Ad$)

2.6. Синтез 2-(4-ариламино)-1-[пиперазин(морфолин)-1-ил]-4-арилбут-2-ен-1,4-дионов

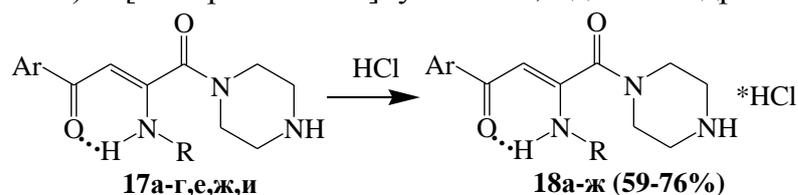
Для включения в структуру производных 2,4-диоксобутановых кислот потенциально биологически активных фрагментов морфолина и пиперазина взаимодействием фуран-2-онов 3 с эквимолекулярным количеством соответствующих аминов получены 4-арил-2-(4-ариламино)-1-[морфолин-1-ил]бут-2-ен-1,4-дионы (16а-з) и 4-арил-2-(4-ариламино)-1-[пиперазин-1-ил]бут-2-ен-1,4-дионы (17а-м):



16: Ar=C₆H₅, R=4-CH₃OC₆H₄ (а), 4-BrC₆H₄ (б), 4-ClC₆H₄ (в), 3-NO₂C₆H₄ (г); Ar=4-CH₃C₆H₄, R=4-ClC₆H₄ (д); Ar=4-ClC₆H₄, R=4-CH₃OC₆H₄ (е), 4-BrC₆H₄ (ж), 4-ClC₆H₄ (з). **17:** Ar=C₆H₅, R=4-CH₃OC₆H₄ (а), 4-BrC₆H₄ (б), 4-ClC₆H₄ (в), 3-NO₂C₆H₄ (г), 2-CH₃-4-ClC₆H₄ (д); Ar=4-CH₃C₆H₄, R=4-BrC₆H₄ (е), 4-ClC₆H₄ (ж); Ar=2,4-(CH₃)₂C₆H₃, R=4-CH₃OC₆H₄ (з); Ar=2,4-(CH₃O)₂C₆H₃, R=4-BrC₆H₄ (и); Ar=4-ClC₆H₄, R=4-BrC₆H₄ (к), 4-ClC₆H₄ (л), 3-NO₂C₆H₄ (м).

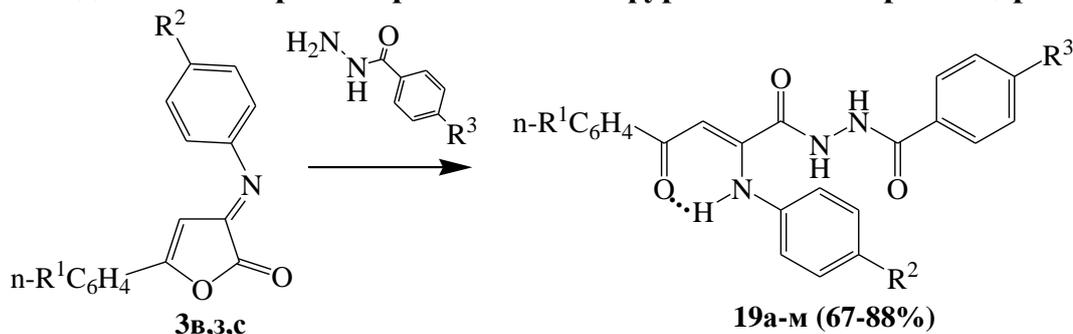
2.7. Получение 2-ариламино-1-[пиперазин-1-ил]-4-фенилбут-2-ен-1,4-диона гидрохлоридов

С целью повышения биологической доступности амидов 17, а также для изучения новых видов фармакологического действия полученных соединений, представляло интерес дальнейшая модификация их структуры. Для этого нами получены водорастворимые соли - 4-арил-2-(4-ариламино)-1-[пиперазин-1-ил]бут-2-ен-1,4-диона гидрохлориды (18а-ж):



18: Ar=C₆H₅, R=4-CH₃OC₆H₄ (а), 4-BrC₆H₄ (б), 4-ClC₆H₄ (в), 3-NO₂C₆H₄ (г); Ar=4-CH₃C₆H₄, R=4-BrC₆H₄ (д); Ar=2,4-(CH₃)₂C₆H₃, 4-CH₃OC₆H₄ (е); Ar=4-ClC₆H₄, R=4-BrC₆H₄ (ж).

2.8. Взаимодействие 5-арил-3-арилимино-3H-фуран-2-онов с ароилгидразидами



19: R¹=CH₃, R²=Br, R³=H (а), CH₃O (б), Br (в), NO₂ (г); R¹=Cl, R²=Br, R³=H (д), CH₃O (е), Br (ж), NO₂ (з); R¹=R²=Cl, R³=H (и), CH₃O (к), Br (л), NO₂ (м).

Установлено, что при взаимодействии фуран-2-онов 3в,3с с гидразидами замещенных бензойных кислот образуются с хорошим выходом N'-[4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еноил]бензогидразиды (19а-м). Реакция протекает при нагревании в среде безводного толуола при эквимолекулярном соотношении реагентов.

3. Изучение полученных данных по биологической активности производных 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот

3.1. Компьютерное прогнозирование биологической активности синтезированных соединений

Расчет предполагаемого биологического действия произведен *in silico* с использованием программы PASS, позволяющей решить задачу многокритериального отбора в применении к биологическому эффекту с возможностью прогнозировать более 3000 молекулярных механизмов действия фармакологически активных веществ. Для производных 3-19 отмечена высокая вероятность обнаружения АА, ПВА, ГА, ПМА, фибринолитической, противовирусной (в том числе, против аденовируса, вирус гриппа, ВИЧ, *Helicobacter pylori* и др.), антигельминтной, ретинопротекторной, антиневротической, противоопухолевой и других видов биологической активности.

Синтезированные соединения были подвергнуты биологическим испытаниям с целью поиска фармакологически активных веществ (см. рис. 1). Всего было исследовано 74 соединения. Кроме того, исследована острая токсичность некоторых веществ.

Изучение биологической активности осуществлялось в соответствии с требованиями Фармакологического комитета, изложенных в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Москва, 2013).

Испытания проводились в ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, а также в научно-исследовательской лаборатории биологически активных веществ ПГНИУ.

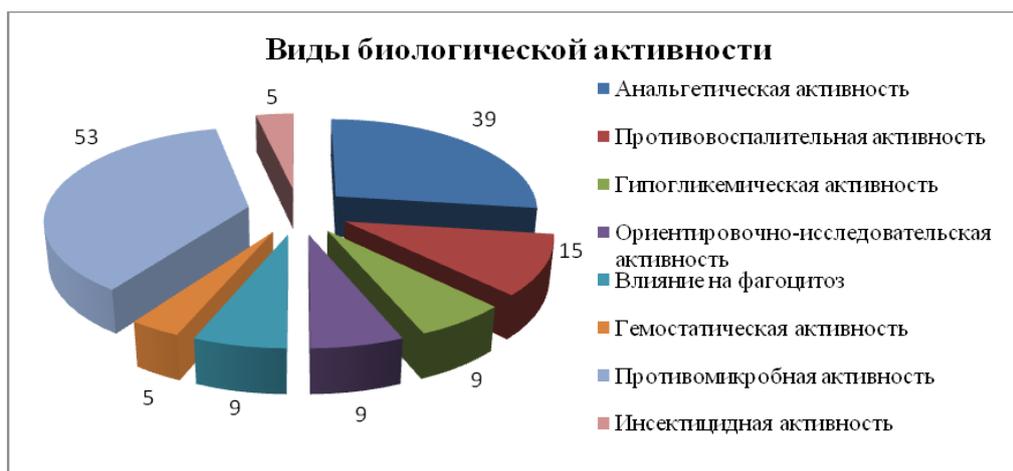


Рисунок 1. Количественные характеристики полученных данных по фармакологическому скринингу синтезированных соединений.

3.2. Острая токсичность

Установлено, что большинство производных 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот обладают низкой острой токсичностью, высоким профилем безопасности и

относятся к четвертому и пятому классу опасности, согласно ГОСТ Р 53856-2010. С учетом полученных данных LD_{50} , наиболее активные вещества имеют определенные преимущества перед большинством препаратов сравнения. В частности, LD_{50} соединения 13г составляет $1210 \div 1875$ мг/кг, а у производного 18г - $4100 \div 5900$ мг/кг.

3.3. Анальгетическая активность

В результате исследования по методике «горячая пластина» установлено, что АА, превосходящая эффект метамизола натрия, характерна для всех изученных соединений. При этом вещества 13б,в, 16в, 17б,д,е,к проявляют активность на уровне диклофенака и нимесулида, а производные 13г и 17б оказывают действие, превосходящее данные препараты (см. рис. 2). Выявлено, что амид 13г в 1,8 и 3,4 раза менее токсичен, чем диклофенак и нимесулид, соответственно. Определено, что введение электронодонорной группы в ариламиновый фрагмент в ряду производных 13 приводит к увеличению анальгетического эффекта. На активность соединений 16, 17 влияет, в большей степени, характер заместителя в ариламиновом фрагменте. Среди тиоэфиров 7 усиление АА происходит при введении электроноакцепторных групп в арильный и ариламиновый фрагменты молекулы, а также при уменьшении цепи линейных алкильных заместителей тиольного заместителя. Исследование АА соединений 7е,ц,ю на модели «уксусные корчи» показало, что все вещества тормозили их развитие, при этом лидирует тиоэфир 7е. Таким образом, поиск соединений с АА целесообразно продолжить в рядах соединений 7, 13, 16, 17, а производное 13г перспективно для дальнейшего углубленного изучения.

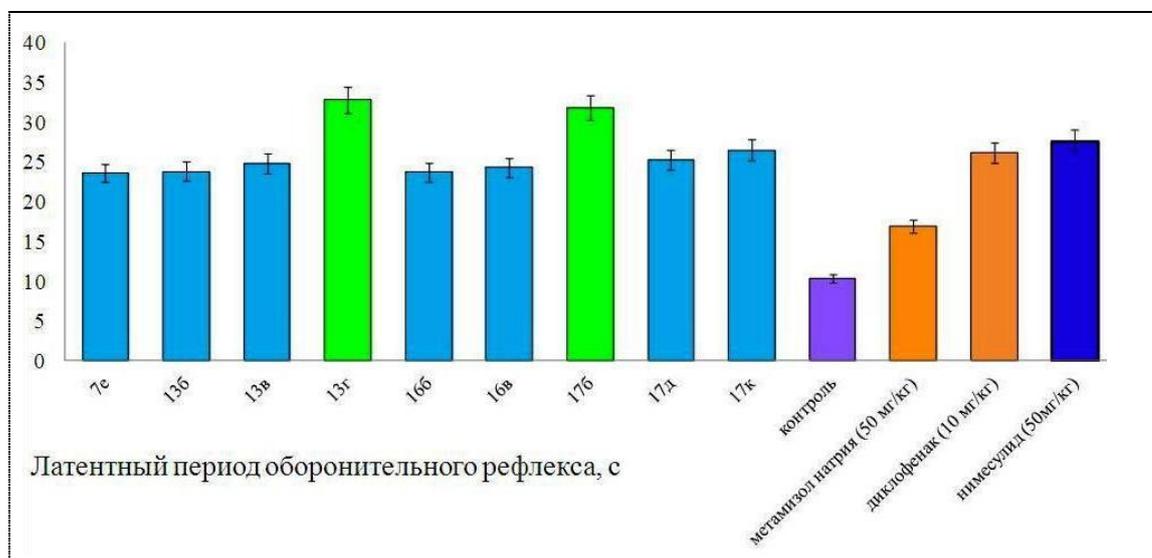


Рисунок 2. Сравнительная характеристика АА наиболее активных соединений, диклофенака и метамизола натрия по методике «горячая пластина».

3.4. Противовоспалительная активность

В ряду N-(5-R-1,3,4-тиадиазолил)амидов 13 нами обнаружено вещество 13г, проявляющее выраженную ПВА, превышающую эффект диклофенака (в дозе 10 мг/кг) во все сроки наблюдения (см. рис. 3). Среди морфолидов 16 нами выявлено соединение 16в, превосходящее по силе действия на 1 ч наблюдения диклофенак (в дозе 10 мг/кг) в 1,3

раза. Однако, на пике воспаления наблюдается небольшое снижение действия и, далее, на 5 ч эксперимента происходит увеличение его активности до уровня диклофенака (в дозе 10 мг/кг). В ряду пиперазидов 17 соединение 17б проявляет выраженную ПВА, превосходящую на 1 ч эксперимента диклофенак (в дозе 10 мг/кг) и не уступающее его эффекту на пике воспаления.

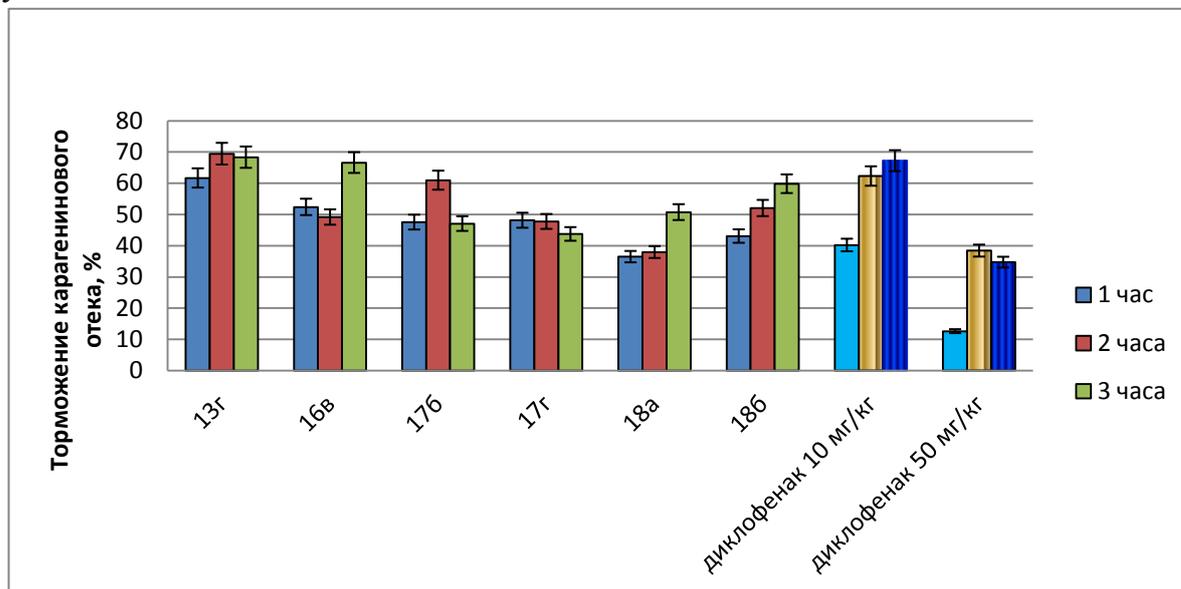


Рисунок 3. Характеристика ПВА наиболее активных соединений и диклофенака.

В ряду водорастворимых солей 18 наиболее активно производное 18б, содержащее электроноакцептор в пара-положении ариламиного фрагмента. Установлено, что при увеличении алкильной цепи в положении 5 фрагмента 2-(5-R-1,3,4-тиадиазолила) (например, у вещества 13б), введение электроноакцепторной группы в ариламиный фрагмент (у соединений 16в, 17б,г), а также при замене фрагмента пиперазина на морфолин (у производного 16в), происходит существенное усиление противовоспалительных свойств.

Таким образом, дальнейший поиск потенциальных противовоспалительных веществ в рядах производных 13, 16, 17, 18 является перспективным.

3.5. Гипогликемическая активность

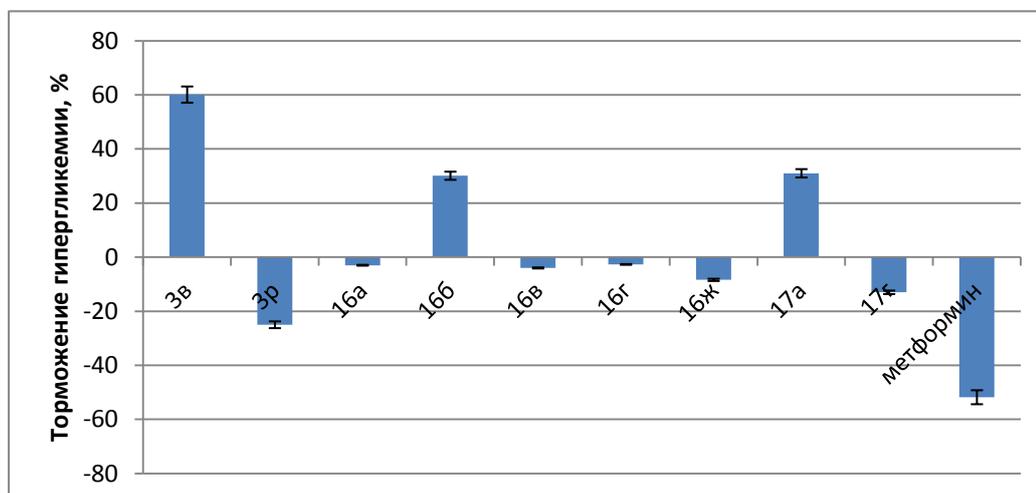


Рисунок 4. Сравнительная характеристика ГА изученных соединений и метформина.

Исследование ГА соединений из рядов 3, 16, 17 показало (см. рис. 4), что умеренным действием обладают фуранон 3р и амид 17г, в то время, как вещества 3в, 16б, 17а достоверно повышают уровень сахара в крови экспериментальных животных. По-видимому, это может быть вызвано стимулированием выработки инсулиназы – фермента, присутствующего в печени и почках, отвечающего за расщепление инсулина в организме.

3.6. Влияние соединений на ориентировочно-исследовательское поведение животных при аллоксан-индуцированном сахарном диабете

Выраженная гипергликемия сопровождается значительным снижением двигательной активности животных, а также увеличением длительности «поведения отчаяния», гомологичного депрессии у человека. Этот эффект изучен нами по методике «открытое поле» у соединений рядов 3, 16, 17. Установлено, что производные, содержащие фрагмент морфолина, и не имеющие заместителя в арильном радикале (16а-г), способствуют частичной нормализации поведенческих реакций, но не приводят к нормализации ориентировочно-исследовательского поведения и снижению тревожности на фоне АСД. Следует указать, что препарат сравнения метформин также не способствует устранению нарушений поведенческих реакций у животных с АСД.

3.7. Влияние соединений на фагоцитоз

Все исследуемые вещества рядов 3, 16, 17 способствовали активизации процессов фагоцитоза, нарушенных при АСД, в частности, увеличился процент нейтрофилов, фагоцитирующих эритроциты, премированные инсулином, и количество поглощенных корпускулярных антигенов на один фагоцитирующий нейтрофил. Полученные данные могут свидетельствовать о вероятном снижении активности инсулина в организме экспериментальных животных.

Таким образом, изучение ГА, ориентировочно-исследовательской активности и влияния на фагоцитоз производных 3, 16, 17 не выявило перспективности поиска сахаропонижающих препаратов среди данных соединений.

3.8. Гемостатическая активность

Изучено влияние водорастворимых производных 18 на свертывающую систему крови. Согласно полученным данным (см. рис. 5), наиболее перспективным соединением является 18г, превышающее по гемостатическому эффекту препарат сравнения в 2,2 раза. При этом, оно проявляет острую токсичность на уровне этамзилата.

Установлено, что введение двух электронодонорных заместителей у соединения 18г в арильный фрагмент при атоме C^4 способствует существенному усилению гемостатического действия, по сравнению с производным 18а. Наличие электроноакцепторного заместителя в арильном и ариламинном фрагменте способствует снижению данного вида активности. При этом отмечается увеличение гемостатического эффекта при введении электроноакцепторного заместителя в ариламинный фрагмент молекулы и отсутствии заместителей в арильном радикале у соединения 18б, гемостатический эффект которого также превышает этамзилат. Таким образом,

дальнейший поиск новых веществ с гемостатической активностью в ряду производных 18 является перспективным.

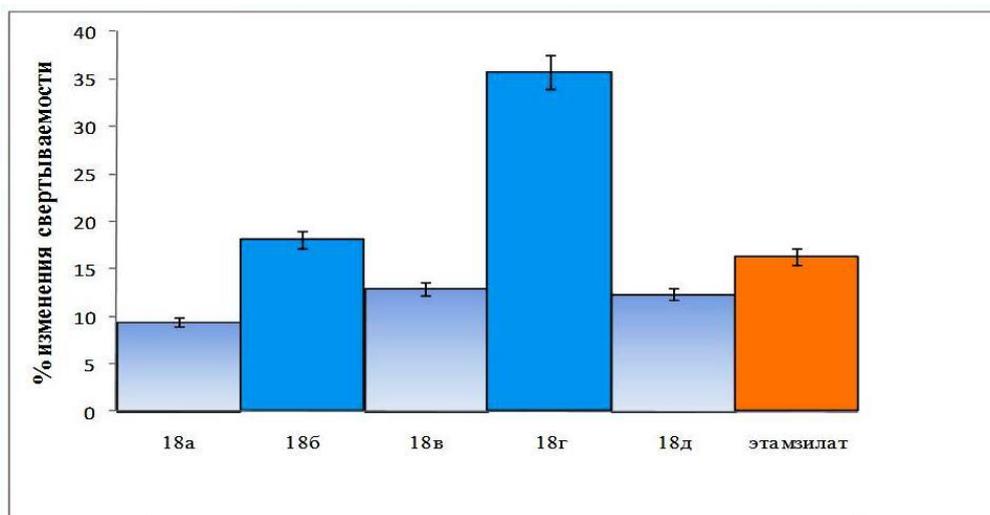


Рисунок 5. Гемостатическая активность соединений 18 и этамзилата.

3.9. Противомикробная активность

В результате исследования ПМА в рядах эфиров 4, 5, 6, 7, а также амидов 14, 15 установлено, что данные соединения проявляют активность, не превышающую эффект препаратов сравнения. В ряду амидов 11-13 обнаружены два вещества (12в и 13г), действующие на уровне хлоргексидина. Установлено, что соединения рядов 16, 17 и водорастворимые производные 18 показали различную по эффекту ПМА. Так, вещество 16з проявляет действие на уровне хлоргексидина только по отношению к штамму *St. aureus* ATCC 6538-P, а соединения 17л и 17б - только по отношению к *E. coli* ATCC 25922. Химическая модификация амидов 17 до их водорастворимых солей 18 не привела к существенному изменению изучаемой активности. Исследование ПМА у гидразидов 19 не выявило на значимом уровне данного вида действия, лишь соединение 19г активно на уровне хлоргексидина по отношению к *E. coli* ATCC 25922. В целом, изучение ПМА в рядах синтезированных соединений не показало перспективности поиска среди них новых противомикробных препаратов.

3.10. Инсектицидное действие

В ходе изучения инсектицидной активности (см. рис. 6) в ряду производных 18 обнаружено соединение 18б, достоверно влияющее на продолжительность жизни личинок комаров и превышающее по активности в 2 раза имидаклоприд, при этом, его острая токсичность в 39,9 раз меньше, чем у препарата сравнения.

Введение электроноакцепторного заместителя в ариламиновый фрагмент приводит к усилению инсектицидных свойств, в то время, как наличие электронодонорной группы в любом из арильных фрагментов существенно снижает изучаемое действие (у веществ 18а,в,г).

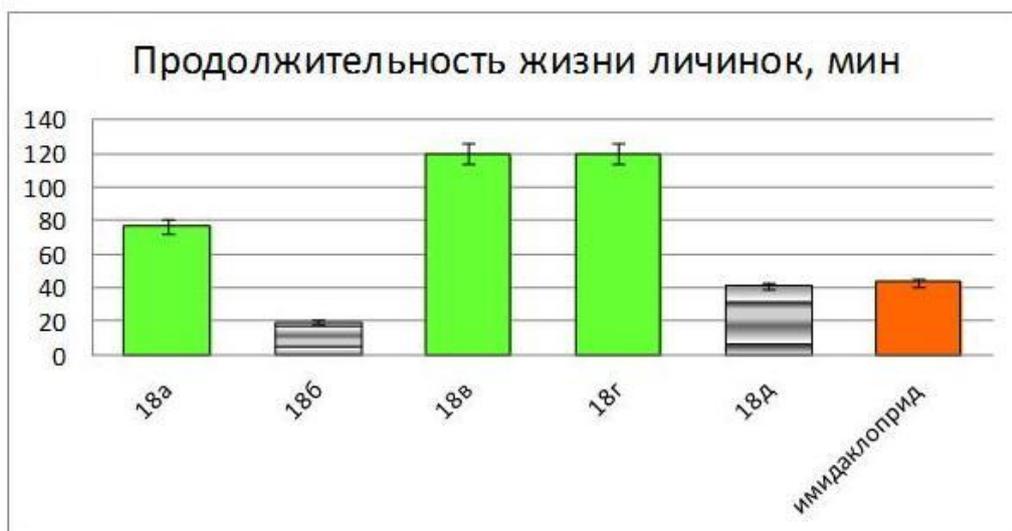


Рисунок 6. Инсектицидное действие соединений 18 и имидаклоприда.

4.1. Методы определения подлинности и чистоты 2-(5-этил-1,3,4-тиадиазолил)амида 2-(4-бромфениламино)-4-оксо-4-фенил-2-бутеновой кислоты (13г) и 4-(2,4-диметилфенил)-2-(4-метоксифениламино)-1-[пиперазин-1-ил]бут-2-ен-1,4-диона гидрохлорида (18г)

Для установления подлинности амида 13г предлагается качественная реакция комплексообразования с солями меди (II) в кислой среде (гидроксамовая проба), после гидролиза в присутствии гидроксилamina щелочного раствора, с образованием осадка зеленого цвета. Ковалентно связанный бром можно доказывать по реакции окисления хлорамином Б в кислой среде, после сжигания вещества в колбе с кислородом, выделившиеся молекулы брома при взбалтывании извлекаются хлороформным слоем с окрашиваем его в желто-бурый цвет.

Определение подлинности соединения 18г рекомендуется проводить с помощью гидроксамовой пробы, которая вызывает выделение осадка зеленого цвета. Присутствие хлорид-ионов определяют по реакции осаждения серебра нитрата раствором в азотнокислой среде с образованием белого творожистого осадка.

Для подтверждения подлинности полученных соединений можно также применять данные ИК-спектроскопии. Полное совпадение полос поглощения в рабочем и стандартном ИК-спектрах веществ свидетельствует об их идентичности. Для определения чистоты данных соединений рекомендуется использовать метод ТСХ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного диссертационного исследования разработаны и усовершенствованы препаративные методы синтеза новых производных 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот на основе 3-имино-3*H*-фуран-2-онов. Показано, что среди полученных соединений обнаружены вещества с выраженной анальгетической, противовоспалительной, гемостатической и инсектицидной активностью при низкой острой токсичности. Приведенные ниже выводы позволяют конкретно оценить

полученные в диссертационной работе данные, которые могут быть использованы при разработке оригинальных отечественных лекарственных средств.

Выводы

1. Усовершенствован препаративный метод циклизации 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот под действием пропионового ангидрида в 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-оны, содержащие потенциально биологически активные фрагменты в иминофункции. Он отличается мягкими условиями, хорошей воспроизводимостью, высоким выходом целевых продуктов, а также возможностью замены уксусного ангидрида.

2. Впервые исследовано взаимодействие 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов с бутанолом-1, 2-изопропанолом, этан-1,2-диолом и пропан-1,2,3-триолом, в результате чего получены соответствующие бутил-, изопропил-, 2-гидроксиэтил-, 2,3-дигидроксипропил-4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еноаты, находящиеся в растворе в виде *Z*-, *E*-енаминокетонных и β -кетоиминной форм с преобладанием *Z*-изомера.

3. Впервые установлено, что атака алифатических и ароматических тиолов направлена на атом C^2 гетероцикла 3-иминофуран-2-онов и сопровождается их дециклизацией с образованием *S*-*R*-4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-ентиоатов, существующих в растворе в виде двух *Z*- и *E*-енаминокетонных форм.

4. Установлено, что в реакции 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов с 4,5-замещенными этил-2-аминотиофен-3-карбоксилатами, 2-амино-4,5,6,7-тертагидробензо[*b*]тиофен-3-карбонитрилом, 2-амино-5,6-дигидро-4*H*-циклопента[*b*]тиофен-3-карбоксамидом, 2-амино-1,3-тиазолом, 2-аминобензо[*d*]тиазолом, 2-амино-5-*R*-1,3,4-тиадиазолом, 3-аминотиено[2,3*b*]пиридинами, 4-*R*-1,2,5-оксадиазол-3-аминами и ароилгидразидами образуются неописанные ранее гетариламины и гидразиды 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот, обладающие высокой анальгетической и противовоспалительной активностью.

5. Показано, что направление реакции не меняется при взаимодействии 3-иминофуран-2-онов с морфолином и пиперазином, в результате чего выделены соответствующие 2-(4-ариламино)-1-[пиперазин(морфолин)-1-ил]-4-арилбут-2-ен-1,4-дионы. Для повышения биологической доступности соединений, содержащих фрагмент пиперазина, получены их водорастворимые соли, проявляющие высокое инсектицидное и гемостатическое действие.

6. Выявлено, что выраженную анальгетическую и противовоспалительную активность проявляют 2-(5-*R*-1,3,4-тиадиазолил)амиды и пиперазиды 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот, содержащие в *para*-положении ариламинного фрагмента электроноакцепторный заместитель. Введение двух электронодоноров в арильный радикал при атоме C^4 и одного электронодонорного заместителя в *para*-положение ариламинного фрагмента 2-ариламино-1-(пиперазин-1-ил)-4-фенилбут-2-ен-1,4-диона гидрохлоридов, способствует существенному увеличению гемостатического действия, в то же время, введение электроноакцепторного заместителя в ариламинный фрагмент, при наличии фенила в положении C^4 , приводит к усилению их инсектицидных свойств.

7. Наиболее перспективными для дальнейшего углубленного исследования являются малотоксичные соединения: 2-(5-этил-1,3,4-тиадиазолил)амид 2-(4-бромфениламино)-4-оксо-4-фенил-2-бутеновой кислоты, обладающий анальгетической и противовоспалительной активностью, превосходящей эффект диклофенака и нимесулида, а также 4-(2,4-диметилфенил)-2-(4-метоксифениламино)-1-[пиперазин-1-ил]бут-2-ен-1,4-диона гидрохлорид, оказывающий гемостатическую активность, превышающую действие этамзилата в 2,2 раза.

Рекомендации

Проведенное диссертационное исследование имеет научно-практическое значение для дальнейшего целенаправленного синтеза новых биологически активных соединений на основе химических превращений 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов с выходом на перспективные виды фармакологических эффектов, отвечающих современным требованиям.

Рекомендуется:

- применять усовершенствованный метод циклизации производных 2,4-диоксобутановых кислот в 3-иминофуран-2-оны без использования прекурсора - ангидрида уксусной кислоты;

- внедрить разработанные методики синтеза, доказательства структуры и чистоты, а также полученные данные по исследованию биологической активности производных 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот в учебный процесс по курсу «Фармацевтическая химия» и научно-исследовательскую работу вузов.

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в создании новых отечественных оригинальных лекарственных препаратов с анальгетическим, противовоспалительным и гемостатическим действием на основе 2-(5-*R*-1,3,4-тиадиазолил)амидов и пиперазидов 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот и их водорастворимых солей.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ ПРЕДСТАВЛЕНО В РАБОТАХ

1. Кузнецов, А.С. Оценка перспективности поиска биологически активных соединений в ряду производных 4-*R*-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот / А.С. Кузнецов, Ф.В. Собин, В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина // **Глобальный научный потенциал**. – 2013. – Т. 25, №4. – С. 8-11.

2. Пулина, Н.А. Синтез и анальгетическая активность гетариламидов 4-арил-2-ариламино-4-оксо-2-бутеновых кислот / Н.А. Пулина, Ф.В. Собин, В.Ю. Кожухарь [и др.] // **Хим.-фарм. журн.** – Т. 48, № 1. – 2014. – С. 14-17.

Версия: Pulina, N.A. Synthesis and analgesic activity of 4-aryl-2-arylamino-4-oxo-2-butenic acid hetarylamides / N.A. Pulina, F.V. Sobin, V.Yu. Kozhukhar [et al.] // **Pharmaceutical Chemistry Journal**. – Vol. 48, № 1. – 2014. – P. 11-14.

3. Пулина, Н.А. Анальгетическая активность производных 2-амино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот / Н.А. Пулина, В.Ю. Кожухарь, Р.Р. Махмудов [и др.] // **Фармация**. – 2014. – № 5. – С. 45-47.

4. Кожухарь, В.Ю. Исследование анальгетической активности новых соединений, содержащих фрагменты морфолина, пиперазина и адамантана [Электронный ресурс] / В.Ю.

Кожухарь, А.С. Кузнецов, Н.А. Пулина [и др.] // **Совр. пробл. науки и образования.** – 2015. – № 3. – Режим доступа: www.science-education.ru/123-17523.

5. Кожухарь, В.Ю. Теоретическое обоснование некоторых фармакологических свойств и изучение гипогликемической активности производных 2,4-диоксобутановых кислот [Электронный ресурс] / В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина, Т.А. Юшкова [и др.] // **Совр. пробл. науки и образования.** – 2015. – № 5. – Режим доступа: www.science-education.ru/128-22097.

6. Кожухарь, В.Ю. Синтез и анальгетическая активность соединений на основе 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов / В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина, А.Е. Рубцов [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сб. науч. тр. / Под ред. М.В.Гаврилина. – Пятигорск: ПятГФА, 2011. – С. 524-525.

7. Kozhukhar, V.J. Synthesis and properties of compounds on the basis of 5-aryl-3-arylimino-3*H*-furan-2-ones / V.J. Kozhukhar, N.A. Pulina, A.E. Rubtsov // International Congress on Organic Chemistry dedicated to the 150-th anniversary of the Butlerov's Theory of Chemical Structure of Organic Compounds. Book of abstracts. – Kazan, Russia. – 2011. – P. 151.

8. Пулина, Н.А. Синтез и противомикробная активность гетериламидов N-замещенных 2-амино-4-арил-4-оксо-2-бутеновых кислот / Пулина Н.А., Кожухарь В.Ю., Дубровина С.С. // Фармация и общественное здоровье. Материалы V международной конференции / Под ред. А.С. Гаврилова. – Екатеринбург: УГМА, 2012. – С. 107-109.

9. Кожухарь, В.Ю. Поиск новых соединений с анальгетической активностью в ряду гетериламидов N-замещенных 2-амино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот / В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина, Р.Р. Махмудов [и др.] // Инновации молодых ученых: сб. статей. междунар. науч.-практ. конф. – Ставрополь, 2012. – С. 31-34.

10. Пулина, Н.А. Синтез новых производных в ряду 2-(5-*R*-1,3,4-тиадиазолил)амидов 4-арил-2-арилимино-4-оксобут-2-еновых кислот / Н.А. Пулина, В.Ю. Кожухарь // Университетская наука: Взгляд в будущее: материалы Всеросс. науч. конф. – Курск: КГМУ, 2013. – С. 120-122.

11. Ахремчик, Ю.Е. Изучение реакции N-замещенных 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов с гетероциклическими аминами / Ю.Е. Ахремчик, В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина [и др.] // Актуальные вопросы медицинской науки: сб. науч. трудов мол. ученых Всеросс. науч.-практич. конф. с междунар. участием. – Ярославль, 2013. – С. 232.

12. Кожухарь, В.Ю. Изучение взаимодействия N-замещенных 5-арил-3-арилимино-3*H*-фуран-2-онов с гетероциклическими аминами и гидразидами бензойных кислот / В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина, С.А. Шипиловских [и др.] // XVI Молодежная Всеросс. школа-конференция по органической химии : материалы молод. школы-конф. по орган. хим. – Пятигорск, 2013. – С. 120.

13. Pulina, N.A. Research of antinociceptive activity among a series of amides of N-substituted 2-amino-4-aryl-4-oxobut-2-enoic acids / N.A. Pulina, V.Y. Kozhukhar, R.R. Makhmudov [et al.] // The 2nd International theoretical and practical conference materials "Topical areas of fundamental and applied research II". North Charleston, SC, USA. – 2013. – P. 149-152.

14. Кожухарь, В.Ю. Синтез и антигельминтная активность N-замещенных амидов 4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-еновых кислот / В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина, А.И. Сюткина [и др.] // Современная фармация: образование, наука, бизнес: материалы межрег. науч.-практ. конф. с междунар. уч. – Тюмень: РИЦ «Айвекс», 2014. – С. 170.

15. Кожухарь, В.Ю. Синтез 2-(4-ариламино)-1-(пиперазин-1-ил)-4-арилбут-2-ен-1,4-диона гидрохлоридов и поиск их инсектицидной активности / В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина, А.И. Сюткина [и др.] // VI Молодёжная конференция ИОХ РАН: сб. тез. докл. – Москва, 2014. – С. 170-171.

16. Кузнецов, А.С. Синтез и изучение гипогликемической активности соединений на основе производных 4-ацил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых кислот / А.С. Кузнецов, В.Ю. Кожухарь, А.И. Краснова, Н.А. Пулина [и др.] // Молодая фармация – потенциал будущего: Сб. мат. IV Всеросс. науч. конф. студ. и асп. с междунар. участием. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2014. – С. 97-99.

17. Кожухарь, В.Ю. Синтез и поиск инсектицидной активности в ряду производных 4-арил-2,4-диоксобутановых кислот / В.Ю. Кожухарь, А.И. Сюткина, Д.А. Поздеева, Н.А. Пулина [и др.] // Вестник Перм. гос. фарм. акад. – 2014. – № 12. – С. 78-79.

18. Кожухарь, В.Ю. Синтез и гипогликемическая активность производных на основе N-замещенных 3-арилимино-3H-фуранонов / В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина, Т.А. Юшкова [и др.] // Техническая химия. От теории к практике. IV международная конференция: сб. статей. – Пермь: ИТХ, 2014. – С. 116.

19. Старкова, А.В. Результаты скрининговых исследований влияния веществ, синтезированных в ПГФА, на свертывание цельной крови / А.В. Старкова, Б.Я. Сыропятов, И.Н. Чернов, Ф.В. Собин, В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина [и др.] // Вестник Перм. гос. фарм. акад. – 2014. – № 14. – С. 93-96.

20. Пулина, Н.А. Взаимодействие 5-арил-3-арилимино-3H-фуран-2-онов с тиоспиртами / Н.А. Пулина, В.Ю. Кожухарь, А.Е. Рубцов // Развитие науки в XXI веке: сб. тезисов и статей III Междунар. конф. – Харьков: Научно-информационный центр «Знание», 2015. – С. 107-108.

21. Кожухарь, В.Ю. Изучение взаимодействия 5-арил-3-арилимино-3H-фуран-2-онов с тиоспиртами / В.Ю. Кожухарь, А.Е. Рубцов, Н.А. Пулина // Вестник Перм. гос. фарм. акад. – 2015. – №15. – С. 140-141.

22. Кожухарь, В.Ю. Изучение анальгетической активности продуктов взаимодействия 5-арил-3-арилимино-3H-фуран-2-онов с тиолами / В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина, А.Е. Рубцов // Фармацевтическая наука и практика: достижения, инновации, перспективы: материалы науч.-практ. конф. с междунар. уч. – Пермь: ПГФА, 2015. – №16. – С. 60-62.

23. Кожухарь, В.Ю. Поиск новых противовоспалительных веществ в ряду 2-(4-ариламино)-1-(R-1-ил)-4-арилбут-2-ен-1,4-диононов / В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина, А.Е. Рубцов [и др.] // Человек и лекарство: сб. тез. XXIII Росс. Национального конгресса. – Москва, 2016. – С. 21-23.

24. Кожухарь, В.Ю. Синтез и антиноцицептивная активность S-R-4-арил-2-ариламино-4-оксобут-2-ентиоатов / В.Ю. Кожухарь, Н.А. Пулина, А.Е. Рубцов [и др.] // Техническая химия. От теории к практике. V международная конференция: сб. статей. – Пермь: ИТХ, 2016. – С. 102-103.

Патенты

1. Патент РФ № 2549572. 2-(5-Этил-1,3,4-тиадиазолил)амид 2-(4-бромфениламино)-4-оксо-4-фенил-2-бутеновой кислоты, обладающий анальгетической активностью / Н.А. Пулина, В.Ю. Кожухарь, А.И. Краснова, Т.А. Юшкова (РФ). – № 2013134779/04; заявл. 23.07.2013; опубл. 27.04.2015, Бюл. №12. – 6 с.

Автор выражает благодарность научному сотруднику РИЦ «Фарматест» ПГФА Е.Б. Поляковой за запись ИК-спектров, доценту кафедры природных и биологически активных соединений ПГНИУ А.Е. Рубцову за запись ЯМР ¹H-, ЯМР ¹³C-спектров, зав. научно-исследовательской лаборатории по изучению биологически активных соединений ПГНИУ Р.Р. Махмудову, доц. кафедры микробиологии С.С. Дубровиной, сотрудникам кафедры фармакологии: профессору Т.А. Юшковой, ст. преподавателю А.И. Красновой, доц. кафедры физиологии А.В. Старковой за проведение биологических испытаний синтезированных соединений и зав. виварием ПГФА Л.Н. Марковой.