

Кузнецов Александр Сергеевич

**СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ ХИМИЧЕСКИХ ПРЕВРАЩЕНИЙ
2(3)-[2-(АДАМАНТАН-1-ИЛ)-2-ОКСОЭТИЛИДЕН]ГИДРАЗОНОВ
5-(ГЕТ)АРИЛФУРАН-2,3-ДИОНОВ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

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:

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

Кодониди Иван Панайотович - доктор фармацевтических наук, доцент; Пятигорский медико-фармацевтический институт - филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра органической химии, профессор кафедры.

Ведущая организация:

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

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 проблемы. Одной из важнейших задач фармацевтической химии является направленный синтез и поиск новых отечественных фармацевтических субстанций в ряду полученных соединений. Известно, что фрагмент адамантила, обладая качествами фармакофора, имеет высокую липофильность, что позволяет вводить его производные через биологические мембраны в клетку [Моисеев И.К., 2011]. В медицинской практике широко используются адамантансодержащие препараты с противовирусной, нейротропной, иммуностимулирующей и др. активностью. Реакция Штаудингера является удобным методом синтеза трифенилфосфоранилиденгидразонов (трифенилфосфазинов), содержащих фрагмент адамантила. Однако описаны лишь несколько таких производных, при этом не имеющих заместителей в каркасном ядре [Sasaki T., 1969; Meer M.A., 1986]. В дальнейшем, используя 4-(гет)арил-2,4-диоксобутановые кислоты и их циклический лактон - 5-(гет)арилфуран-2,3-дионы, как химическую и биологически активную матрицу, возможно проведение реакции диаза-Виттига с образованием продуктов замещения, содержащих несколько потенциальных фармакофорных фрагментов. Известно немного работ в данном направлении [Залесов В.В., Пулина Н.А., 1989, 1990, 2009]. Ценность данной реакции заключается в синтезе соединений, которые невозможно получить другим методом, а лишь при использовании, например, трифенилфосфазинов на основе адамантаноилдiazометана. Представляет интерес изучение химического поведения 2-{[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2H)-онов с OH-, SH-, NH-нуклеофилами и ароилкетеном с образованием потенциально биологически активных веществ. Однако превращения с OH-, NH-нуклеофилами и ароилкетеном изучены недостаточно, а с SH-нуклеофилами - ранее не исследованы. Известен небольшой ряд 3-гидразоно-5-арилфуран-2(3H)-онов, содержащих в гидразонофункции только арильный или бензоильный заместители [Тюнева А.В., Комарова О.А., Рубцов А.Е., 2010, 2011]. При этом они также практически не изучены в реакциях с нуклеофильными реагентами и не проведены их фармакологические испытания. Введение в структуру 3-гидразонофуран-2(3H)-онов адамантаноильного радикала и дальнейшая их химическая модификация OH-, SH-, NH-нуклеофилами позволит потенцировать биологическое действие соединений. Таким образом, работа в области синтеза биологически активных соединений на основе химических превращений 2(3)-[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразонов 5-(гет)арилфуран-2,3-дионов, а также выявление связи «структура-биологическое действие веществ» является актуальным.

Степень разработанности темы исследования. Известны единичные публикации по химии 2-гидразонопроизводных 4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот и 5-арилфуран-3(2H)-онов, а также 3-гидразонопроизводных 5-арилфуран-2(3H)-онов. При этом описаны лишь два производных, содержащих адамантил, и мало изучены их химические и биологические свойства. В работе осуществлён синтез трифенилфосфазинов, содержащих данный фармакофорный фрагмент, и проведено сравнительное изучение химического поведения 2- и 3-[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразонов 5-(гет)арилфуран-2,3-дионов с нуклеофильными реагентами, с дальнейшим выявлением закономерностей между

строением и результатами биологической активности полученных веществ. Это позволяет в полной мере, учитывая литературные данные, предвидеть и подтвердить структуру новых соединений, получать биологически активные производные с различными видами фармакологического действия и выбрать наиболее перспективные вещества для дальнейшего изучения.

Цель работы. Целью настоящего исследования является синтез новых биологически активных соединений в рядах 2(3)-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов и продуктов их химических превращений с OH-, SH-, NH-нуклеофилами, ароилкетеном.

Задачи исследования. Для достижения цели должны быть решены следующие задачи:

1. Осуществить синтез новых потенциально биологически активных 1-(3-R-адамantan-1-ил)-2-(трифенилфосфоранилиденгидразоно)этанолов, 2-{2-[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот и 2(3)-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов, используя или оптимизируя известные методы.
2. Провести сравнительное изучение химических свойств 2- и 3-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов в реакциях с OH-, SH-, NH-нуклеофильными реагентами (водой, метанолом, этанолом, тиогликолевой кислотой, ароматическими аминами).
3. Изучить взаимодействие 2-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-арилфуран-3-онов с ароилкетеном.
4. Синтезировать водорастворимые соединения на основе 2-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот и комплексные производные на основе N-[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-енгидразидов и дихлоридов никеля, марганца, кобальта.
5. На основании полученных результатов исследования фармакологической активности синтезированных веществ выявить соединения, обладающие противомикробной, противовирусной, анальгетической, противовоспалительной, гипогликемической, гемостатической активностью, изучить взаимосвязь «строение-биологическое действие», а также предложить соединения-лидеры для дальнейших углублённых исследований.

Научная новизна. Впервые получены трифенилфосфазины на основе 3-хлор(бром)-адамantanоилдиазометана и продукты их взаимодействия с 4-(гет)арил-2,4-диоксобутановыми кислотами. Показана возможность совмещения реакций Штаудингера и диаза-Витига для синтеза 2-{[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2H)-онов. Впервые изучено взаимодействие 2(3)-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов с тиогликолевой кислотой, установлено различное направление атаки нуклеофильного реагента. Выявлено, что 2-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2H)-оны с ароилкетеном образуют два типа циклических продуктов, в зависимости от условий проведения эксперимента. Проведён сравнительный анализ химического поведения 2- и 3-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов с водой,

алифатическими спиртами и ароматическими аминами. Изучено комплексообразование N-[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-енгидразидов с дигалогенидами никеля, марганца, кобальта и установлена бидентатная O-O координация исходных гидразидов. Впервые получены водорастворимые 4-(гет)арил-2-{2-[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-оксобут-2-еноаты натрия. Выявлено влияние электронодонорных заместителей в арильном радикале на увеличение противомикробного действия 2-[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразинил]-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот, их натриевых солей, а также комплексного производного на основе никеля (II). При этом, в случае натриевых солей соответствующих кислот, дополнительное введение атома галогена в каркасное ядро адамантила приводит также к их высокой гемостатической активности. Установлено, что увеличению анальгетического действия способствуют, помимо наличия электронодоноров в арильном фрагменте 2-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразино}-5-(гет)арилфуран-3(2H)-онов, дополнительные функциональные группы при атоме C⁴ фуранового цикла. Поданы 3 заявки на выдачу патента РФ на изобретение: «2-[2-(3-Хлорадамantan-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразино]-4-(2,4-диметоксифенил)-4-оксо-2-бутеновая кислота, обладающая антифлавивирусной активностью» № 2015131648/04 (048803) от 29.07.2015; «Бис{3-(4-метилфенил)-1-N²-[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразидо]-1,3-пропандионато}никель, обладающий противомикробной активностью» № 2016119072 (029956) от 17.05.2016; «4-(4-Метоксифенил)-2-{2-[2-оксо-(3-хлорадамantan-1-ил)этилиден]гидразинил}-4-оксобут-2-еноат натрия, обладающий гемостатической активностью» № 2016127930(043717) от 11.07.2016.

Теоретическая и практическая значимость работы. Установлены основные направления реакций 2(3)-адамantanоилметиленидгидразидов 5-(гет)арилфуран-2,3-диононов с нуклеофильными реагентами, что позволяет прогнозировать строение продуктов аналогичных превращений. Разработаны или усовершенствованы удобные препаративные методы синтеза неописанных ранее 1-(3-R-адамantan-1-ил)-2-(трифенилфосфоранилиденгидразино)этанов, 2-{[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразино}-5-(гет)арилфуран-3(2H)-онов, 2-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот и их натриевых солей, 3-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразино}-5-(гет)арилфуран-2(3H)-онов, N-[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-енгидразидов и их комплексов с Ni(II), Mn(II), Co(II), 2-[(2-(адамantan-1-ил)-1-алкокси-2-оксоэтил)гидразино]-5-арилфуран-3-онов, 2-{[2-(адамantan-1-ил)-2-оксо-1-(2-(5-арил-3-оксофуран-2-илиден)гидразинил)этил]тио}-этановых кислот, 2-{[(2-(адамantan-1-ил)-2-оксо-1-ариламино)этил]гидразино}-5-арилфуран-3-онов, 10-[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]амино]-6,7-диарил-1,6-диоксо-10-азаспиро[4.5]дека-2,7-диен-4,9-диононов, 2-(адамantan-1-карбонил)-6-арил-3-[(5-арил-3-оксофуранилиден)амино]-4H-1,3-оксазин-4-онов, алкил 2-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-арил-4-оксобут-2-еноатов, 2-{2-[2-(3-R-адамantan-1-ил)оксоэтилиден]гидразинил}-4-арил-4-оксобут-2-еноилтио}этановых кислот, 2-{[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-арил-4-оксо-N-арилбут-2-енамидов, которые просты по выполнению, легко воспроизводимы, а полученные вещества могут быть использованы в

дальнейшем поиске биологически активных соединений. Предложено устанавливать подлинность соединений-лидеров: 2-{[2-(3-хлорадамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(2,4-диметоксифенил)-4-оксобут-2-еновой кислоты и 4-(4-метоксифенил)-2-{2-[2-оксо-(3-хлорадамантан-1-ил)этилиден]гидразинил}-4-оксобут-2-еноата натрия методом ИК-спектроскопии, чистоту – методом тонкослойной хроматографии.

В ходе научной работы синтезированы 92 неописанных в литературе соединения, из них фармакологическому скринингу подвергнуто 73 вещества. Выявлены перспективные соединения, проявляющие высокую противовирусную, гемостатическую и противомикробную активность при низкой острой токсичности. Статистически достоверные данные биологической активности позволили выявить некоторые закономерности их фармакологического эффекта от строения веществ, что может быть использовано при целенаправленном синтезе активных родственных соединений.

Внедрение результатов исследования. Результаты научных исследований внедрены в научно-исследовательский и учебный процесс кафедры биологической химии ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также кафедры природных и биологически активных соединений и научно-исследовательской лаборатории биологически активных веществ ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет».

Методология и методы исследования. Для достижения поставленной цели применялись универсальные методы лабораторного синтеза и выделения органических веществ. Для доказательства строения новых соединений использованы методы анализа структуры, состава и чистоты: ИК-, ЯМР ^1H -спектроскопии, масс-спектрометрии, масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, элементного анализа, тонкослойной хроматографии. Исследование новых синтезированных соединений на возможный спектр биологического действия проводился *in silico* с использованием программы PASS. Фармакологическое действие полученных веществ изучено согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств». Обработка полученных результатов проводилась с использованием лицензионных компьютерных прикладных программ (Statistica 8.0, Microsoft Office Excel).

Степень достоверности. Обоснованность и достоверность полученных данных подтверждена с помощью использования современных приборов для определения структуры и контроля чистоты полученных веществ. Для проведения фармакологических экспериментов использовались стандартные утверждённые методики, полученные данные статистически обработаны с помощью компьютерных программ.

Апробация результатов. Основные результаты диссертационной работы доложены на: итоговых научных конференциях ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России (Пермь, 2011-2015); Международных симпозиумах и конгрессах - «Advanced science in organic chemistry» (Мисхор, 2010), «International Congress on Organic Chemistry dedicated to the 150-th anniversary of the Butlerov's Theory of Chemical Structure of Organic Compounds» (Казань, 2011), «KOST-2015» (Москва, 2015); Международных конференциях - «Техническая химия: от теории к практике» (Пермь, 2012, 2014), «Новые направления в химии

гетероциклических соединений» (Пятигорск, 2013), «2nd Russian conference on medicinal chemistry MedChem 2015» (Новосибирск, 2015), «9th Eurasian Meeting on Heterocyclic Chemistry» (Домбай, 2016); Всероссийских научно-практических конференциях - «Успехи синтеза и комплексообразования» (Москва, 2012, 2014), «Современные проблемы химической науки и образования» (Чебоксары, 2012), «Актуальные вопросы медицинской науки» (Ярославль, 2013), «Актуальные проблемы и достижения в медицине» (Самара, 2014), «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2014), а также на XXIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2016).

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Синтез и строение новых 1-(3-R-адамantan-1-ил)-2-(трифенилфосфоранилиденгидразоно)этанолов и 2(3)-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онол, содержащих фармакофорные фрагменты.

2. Результаты исследования химического поведения 2(3)-{[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онол с водой, метанолом, этанолом, ароматическими аминами, тиогликолевой кислотой, ароилкетеном.

3. Выявленные взаимосвязи строения и биологического действия синтезированных веществ, а также выбор перспективных соединений для дальнейших фармакологических исследований.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава РФ (№ государственной регистрации 01.9.50 007419) и в рамках выполнения проектов РФФИ № 08-03-00488, 11-03-00882-а, 14-03-96016 p_урал_a.

Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов. Лично автором выполнялся поиск, анализ и обобщение научной литературы по методам синтеза и химическим свойствам трифенилфосфоранилиденгидразонов, биологической активности и методам синтеза производных 4-арил-2,4-диоксобутановых кислот; проведение химических экспериментов; анализ и интерпретация экспериментальных и спектральных характеристик; обработка и обобщение полученных результатов биологических испытаний; апробация полученных данных на научных конференциях.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Исследования диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия», конкретно 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 опубликовано 24 научные работы, из них: 5 статей в изданиях, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК при Минобрнауки России.

Структура и объем работы. Материалы диссертационного исследования изложены на 198 страницах машинописного текста. Диссертация состоит из введения, литературного

обзора (гл.1), материалов и методов исследования (гл.2), обсуждения собственных исследований (гл.3), экспериментальной химической части (гл.4), анализа результатов изучения биологической активности синтезированных соединений (гл.5), заключения, списка литературы, приложения. Диссертация содержит 82 схемы, 43 таблицы и 11 рисунков. Список литературы включает 230 работ, из которых 132 - на иностранных языках. Приложение представлено 3 актами внедрения результатов научных исследований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись производные химических превращений 2(3)-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов.

Температуру плавления (разложения) определяли на приборе ПТП-2 капиллярным методом. ИК-спектры записаны на приборе ФСМ-1201 в виде пасты в вазелиновом масле, спектры ЯМР ^1H - 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» методом прямого ввода образца в ионный источник. Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой проводилась по протоколу ПНД Ф 16.1:2.3:3.11-98 «Методика выполнения измерений содержания металлов в твердых объектах методом спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой». 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.

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, которые ранее не использовались в экспериментах, с определением LD₅₀.

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. Учёт результатов проводили через 18-20 часов термостатирования при температуре 37 °С. Для всех исследуемых соединений определяли минимальные ингибирующие концентрации (МИК) в мкг/мл. Препаратами сравнения служили хлоргексидин и диоксидин.

Противогрибковую активность по отношению к тест-культуре *C. albicans* 885-653ATCC определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде Сабуро, в качестве препарата сравнения использовали флуконазол.

Антифлавивирусную активность проводили на белых нелинейных крысах массой 160-180 г при внутрибрюшинном (в/б) введении вещества в дозе 175 мг/кг за 1 ч до инъекции антигена. Изучено влияние соединений и препарата сравнения на

специфический фагоцитоз. Объектом фагоцитоза служили эритроциты барана, примированные антигеном вируса клещевого энцефалита (ВКЭ). Состояние фагоцитов оценивали по показателям: фагоцитарная активность нейтрофилов (ФАН) в %, фагоцитарный индекс нейтрофилов (ФИН), фагоцитарное число (ФЧ). Антиген вируса вводили однократно в/б из расчёта 0,5 мл на 100 г массы животного в титре 1:80. Препарат сравнения – иммуноглобулин против ВКЭ вводили аналогично в дозе 0,005 мл на 100 г массы животного в титре 1:80 за 1 ч до инъекции антигена.

Анальгетическую активность (АА) определяли на белых нелинейных мышах обоего пола массой 19-21 г по методу «горячая пластина». Исследуемые вещества вводили перорально (п/о) в дозе 50 мг/кг в виде взвеси в 2% крахмальном растворе. Препаратами сравнения служил метамизол натрия (50 мг/кг), диклофенак (10 мг/кг) и нимесулид (50 мг/кг), вводимые аналогично. Контрольным животным вводили эквивалентное количество 2% крахмального раствора.

Противовоспалительную активность (ПВА) изучали на модели острого воспалительного отёка, 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 час до введения флогогенного агента. Препаратом сравнения служил диклофенак в дозе 10 и 50 мг/кг, вводимые аналогично.

Гипогликемическую активность (ГА) определяли на модели алоксан-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 2% крахмального раствора. Концентрацию глюкозы в крови животных определяли до введения соединений, а также через 120 мин после него. Препарат сравнения – метформин (50 мг/кг), вводимый аналогично.

Влияние соединений на ориентировочно-исследовательское поведение животных изучено в тесте «открытое поле» на крысах с АСД. Оценивалось по горизонтальной и вертикальной двигательной активности, числу заглядываний в «норки», уровню дефекации и грумминговой активности. Вещества и препарат сравнения (метформин) вводили п/о в дозе 50 мг/кг в 2% крахмальном растворе.

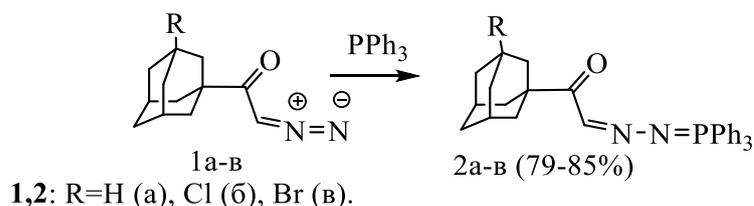
Действие соединений на периферический пул фагоцитов оценивали в реакции фагоцитирующей активности нейтрофилов крови. Для этого к 100 мкл цитратной крови крыс добавляли корпускулярный антиген, осуществляли премирование инсулином, окрашивали и микроскопировали под иммерсией. Подсчитывали ФАН в %, ФИН и ФЧ. Реакцию определения экспрессии специфических рецепторов к инсулину изучали со 100 мкл крови крыс, вносимыми в 100 мкл 5% раствора натрия цитрата. Проводили лизис эритроцитов, удаляли их повторным центрифугированием с использованием среды 199, в которой ресуспендировали клетки, затем добавляли 100 мкл 0,5 эритроцитарного инсулинового диагностикума.

Исследование влияния соединений на свёртывающую 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.

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

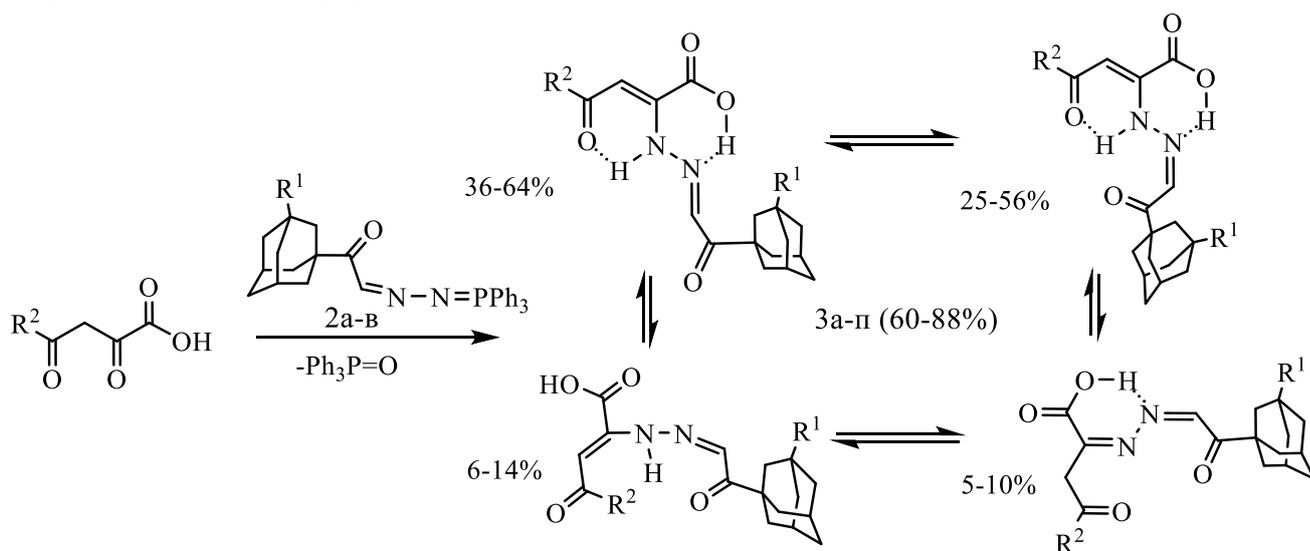
1.1. Получение исходных 1-(3-R-адамантан-1-ил)-2-(трифенилфосфоранилиденгидразо)этанов реакция Штаудингера

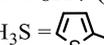
При взаимодействии эквимолекулярных количеств 1-(3-R-адамантан-1-ил)-2-дiazоэтан-1-она (1а-в) и трифенилфосфина образуются с хорошим выходом 1-(3-R-адамантан-1-ил)-2-(трифенилфосфоранилиденгидразо)этаноны (2а-в), при этом соединения 2б,в получены нами впервые:



1.2. Синтез 2-{[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(гет)арилбут-2-еновых кислот

Установлено, что трифенилфосфазины 2а-в взаимодействуют с 4-(гет)арил-2,4-диоксобутановыми кислотами с образованием 2-{[2-(3-R¹-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот (3а-п) и трифенилфосфинооксида. ИК-спектры свидетельствуют о наличии в кристаллах этих соединений прочной внутримолекулярной водородной связи (ВВС) Н-хелатного типа. По данным спектров ЯМР ¹Н, соединения 3а-п в растворе ДМСО-d₆ существуют в виде четырёх таутомерных форм:

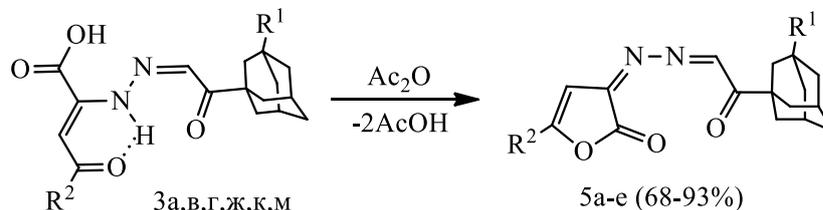


3: R¹=H, R²=C₆H₅ (а), 4-CH₃C₆H₄ (б), 4-CH₃OC₆H₄ (в), 2,4-(CH₃O)₂C₆H₃ (г), 4-ClC₆H₄ (д), 4-IC₆H₄ (е), C₄H₃O (ж), C₄H₃S (з); R¹=Cl, R²=C₆H₅ (и), 4-CH₃C₆H₄ (к), 4-CH₃OC₆H₄ (л), 2,4-(CH₃O)₂C₆H₃ (м), 4-IC₆H₄ (н), C₄H₃S (о); R¹=Br, R₂=4-CH₃OC₆H₄ (п). C₄H₃O = , C₄H₃S = 

Выходы производных 3 могут снижаться за счёт образования известных 3(5)-арилпиразол-5(3)-карбоновых кислот (4) в присутствии воды во время протекания реакции.

1.3. Синтез 3-{{2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арилфуран-2(3H)-онов

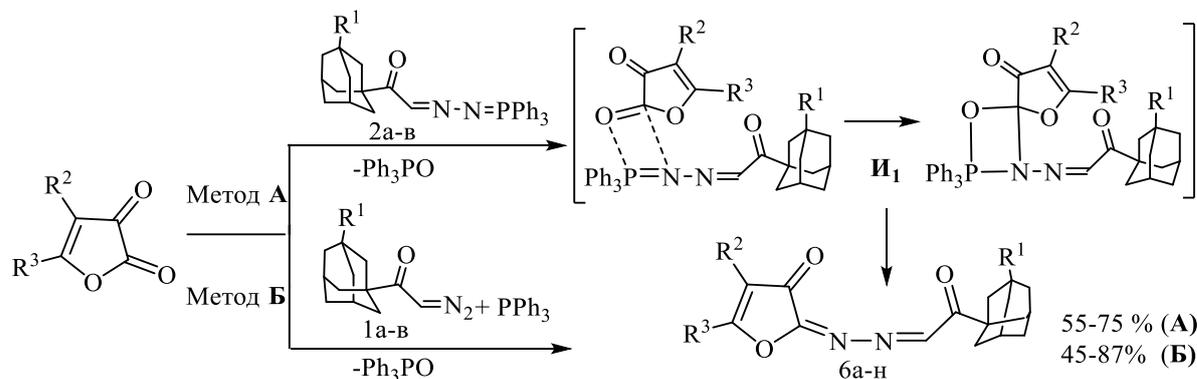
Нами установлено, что кислоты 3а,в,г,ж,к,м циклизируются под действием уксусного ангидрида в 3-{{2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арилфуран-2(3H)-оны (5а-е):



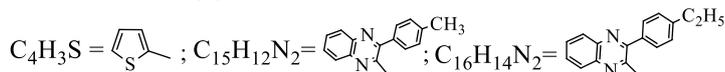
5: R¹=H, R²=C₆H₅ (а), 4-CH₃OC₆H₄ (б), 2,4-(CH₃O)₂C₆H₃ (в), C₄H₃O (г); R¹=Cl, R²=4-CH₃C₆H₄ (д), 2,4-(CH₃O)₂C₆H₃ (е).

1.4. Синтез 2-{{2-(3-R¹-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арил-4-R²-фуран-3(2H)-онов

При взаимодействии трифенилфосфазин 2а-в с 4-R-5-(гет)арилфуран-2,3-дионом образуются 2-{{2-(3-R¹-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арил-4-R²-фуран-3(2H)-оны (6а-н) и трифенилфосфиноксид. Реакция диаза-Виттига протекает в среде абсолютного толуола при эквимолекулярном соотношении реагентов (метод А). С целью оптимизации метода синтеза фуран-3-онов 6 нами осуществлено совмещение реакций Штаудингера и диаза-Виттига (метод Б). Для этого использовали эквимолекулярные количества диазосоединения 1, соответствующего фурандиона и трифенилфосфина, что позволило сократить время эксперимента и получать фуран-3-оны 6 с более высоким выходом, ввиду возможного гидролиза соединений 2а-в при их выделении и очистке:



1,2: R¹=H (а), Cl (б), Br (в); 6: R¹=H, R²=H, R³=C₆H₅ (а), 4-CH₃C₆H₄ (б), 4-CH₃OC₆H₄ (в), 4-BrC₆H₄ (г), C₄H₃S (д), R²=Br, R³=C₆H₅ (е), R²=C₆H₅CO, R³=C₆H₅ (ж), R¹=Br, R²=H, R³=4-CH₃C₆H₄ (з), R²=C₆H₅CO, R³=C₆H₅ (и); R¹=Cl, R²=H, R³=4-CH₃OC₆H₄ (к); R¹=H, R²=C₁₅H₁₂N₂, R³=4-CH₃C₆H₄ (л), R²=C₁₆H₁₄N₂, R³=4-C₂H₅C₆H₄ (м), R¹=Cl, R²=C₁₅H₁₂N₂, R³=4-CH₃C₆H₄ (н).

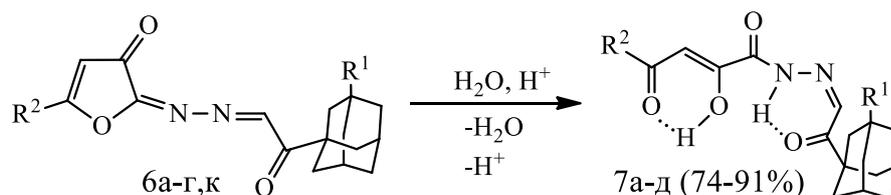


Образование соединений 6а-н происходит, по-видимому, аналогично механизму реакции аза-Виттига – за счёт нуклеофильной атаки фосфиновой компонентой кислорода лактонного карбонила фуранового цикла с образованием промежуточного оксоазофосфетидина **И₁** и последующим элиминированием трифенилфосфиноксида. Таким образом, введение бензоильной и гетарильных групп в структуру фурандиона не

изменило направление реакции с трифенилфосфазинами 2, которая во всех случаях идёт строго селективно по его лактонной карбонильной группе.

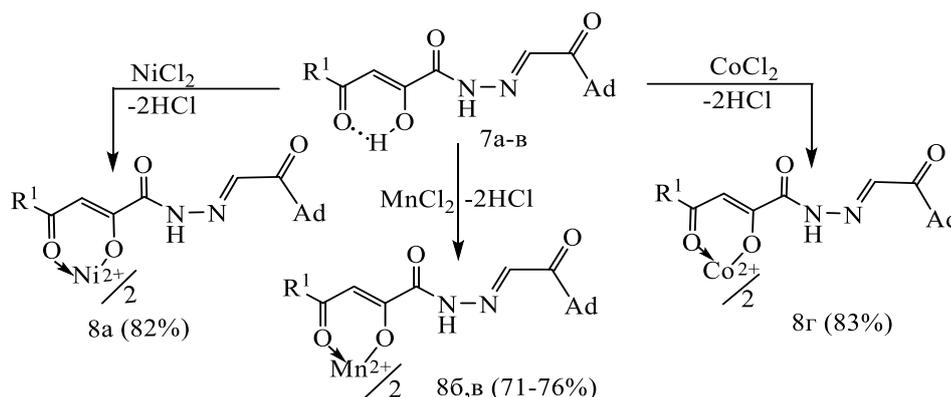
1.5. Химические превращения 2-[[2-(3-R¹-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно]-5-(гет)арил-4-R²-фуран-3(2H)-онон

Нами установлено, что фуран-3-оны ба-г,к гидролизуются в мягких условиях при температуре 20-25 °С в смеси ацетонитрил-вода (5:1) в присутствии каталитических количеств хлороводородной кислоты с образованием N-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-енгидразидов (7). Спектральные характеристики гидразидов 7а-д свидетельствуют о их существовании в кристаллическом состоянии и в растворе ДСМО-d₆ с ВВС Н-хелатного типа:



7: R¹=H, R²=C₆H₅ (а), 4-CH₃C₆H₄ (б), 4-CH₃OC₆H₄ (в), 4-BrC₆H₄ (г); R¹=H, R²=4-CH₃OC₆H₄ (д).

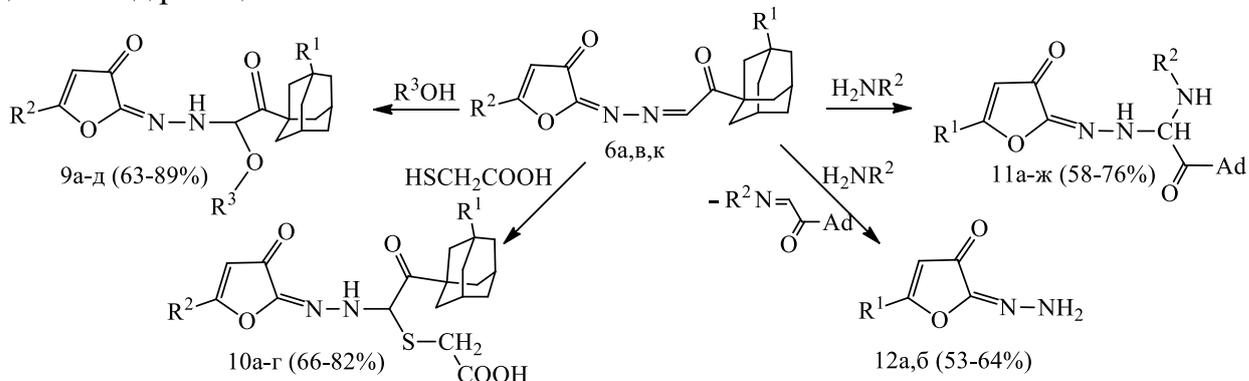
Гидразиды 7а-в с дихлоридами никеля, марганца, кобальта в среде этилового спирта и соотношении лиганд-металл 2:1 образуют бис{3-(4-метилфенил)-1-N²-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразида]-1,3-пропандионато}никель (8а), бис{3-арил-1-N²-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразида]-1,3-пропандионато}марганец (8б,в), бис{3-(4-метокси-фенил)-1-N²-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразида]-1,3-пропандионато}кобальт (8г). Спектральные характеристики свидетельствуют, что гидразиды 7 в реакции комплексообразования координируются Ni(II), Mn(II), Co(II) как бидентатные О-О лиганды и образуют с ними продукты с делокализованными кратными связями в шестичленных хелатных циклах:



8: R¹=4-CH₃C₆H₄ (а), C₆H₅ (б), 4-CH₃OC₆H₄ (в), 4-CH₃OC₆H₄ (г).

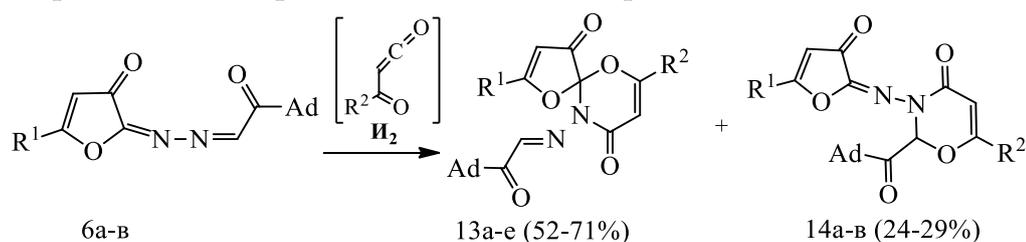
Установлено, что фуран-3-оны ба,в,к взаимодействуют с метанолом и этанолом, тиогликолевой кислотой, ароматическими аминами с образованием соответствующих продуктов присоединения по активированной связи HC=N: 2-[[2-(2-(адамантан-1-ил)-1-алкокси-2-оксоэтил)гидразоно]-5-арилфуран-3-онон (9а-д), 2-[[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксо-1-(2-(5-арил-3-оксофуран-2-илиден)гидразинил)этил]тио]этановых кислот (10а-г), 2-[[2-(2-(адамантан-1-ил)-2-оксо-1-ариламино)этил]гидразоно]-5-арилфуран-3-онон (11а-ж). При этом, фураноны ба,в при взаимодействии с анилином, 3-нитроанилином, 2,5-

диметиланилином, 3-хлоранилином способны образовать продукты присоединения 11а-ж. Однако, при действии 2- и 4-метоксианилина, 4-нитроанилина из реакционной среды выделены лишь ранее описанные 2-гидразоно-5-фенилфуран-3-оны (12). По-видимому, под действием двух сильных электроноакцепторных групп - дигидроиминофуранового цикла и группы AdCO резко увеличивается реакционная способность связи HC=N, что и определяет ход реакций:



9: R¹=H, R³=CH₃, R²=C₆H₅ (а), 4-CH₃OC₆H₄ (б), R³=C₂H₅, R²=C₆H₅ (в), 4-CH₃OC₆H₄ (г), R¹=Cl, R³=CH₃, R²=4-CH₃OC₆H₄ (д); **10:** R¹=H, R²=C₆H₅ (а), 4-CH₃C₆H₄ (б), 4-CH₃OC₆H₄ (в), R¹=Cl, R²=4-CH₃OC₆H₄ (г); **11:** R¹=C₆H₅, R²=C₆H₅ (а), 3-ClC₆H₄ (б) R¹=4-CH₃OC₆H₄, R²=C₆H₅ (в), 3-NO₂C₆H₄ (г), 2,5-(CH₃O)₂C₆H₃ (д), 2-ClC₆H₄ (е), 3-ClC₆H₄ (ж); **12:** R¹=C₆H₅ (з), 4-CH₃OC₆H₄ (и).

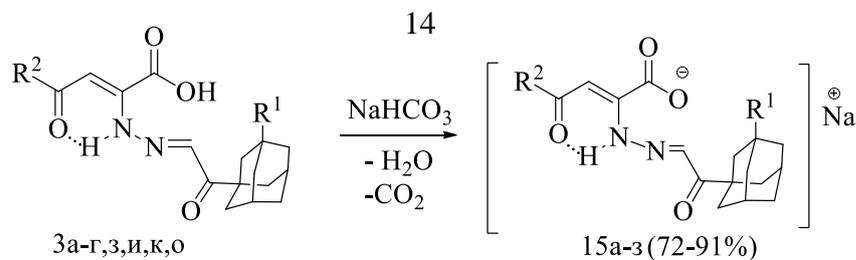
Эквимолекулярные количества фуран-3-онов ба-в с ароилкетеном (И₂), генерируемым в результате термолита 5-арилфуран-2,3-дионон, реагируют с образованием двух типов продуктов присоединения: 10-[2-(адамантан-1-ил-2-оксоэтилиден)амино]-6,7-диарил-1,6-диоксо-10-азаспиро[4.5]дека-2,7-диен-4,9-дионон (13а-е) и 2-(адамантан-1-карбонил)-6-арил-3-[(5-арил-3-оксофуранилиден)амино]-4Н-1,3-оксазин-4-онон (14а-в). При более длительном нагревании основным продуктом реакции является спиро соединение 13. Менее устойчивое соединение 14, ввиду обратимости процесса циклоприсоединения, элиминирует ароилкетен и переходит в стабильное производное 13:



13: R¹=C₆H₅, R²=C₆H₅ (а), 4-CH₃C₆H₄ (б), R¹=4-CH₃C₆H₄, R²=C₆H₅ (в), 4-CH₃C₆H₄ (г), R¹=4-CH₃OC₆H₄, R²=C₆H₅ (д), 4-CH₃OC₆H₄ (е); **14:** R¹=C₆H₅, R²=C₆H₅ (а), R¹=4-CH₃OC₆H₄, R²=C₆H₅ (б), 4-CH₃OC₆H₄ (в).

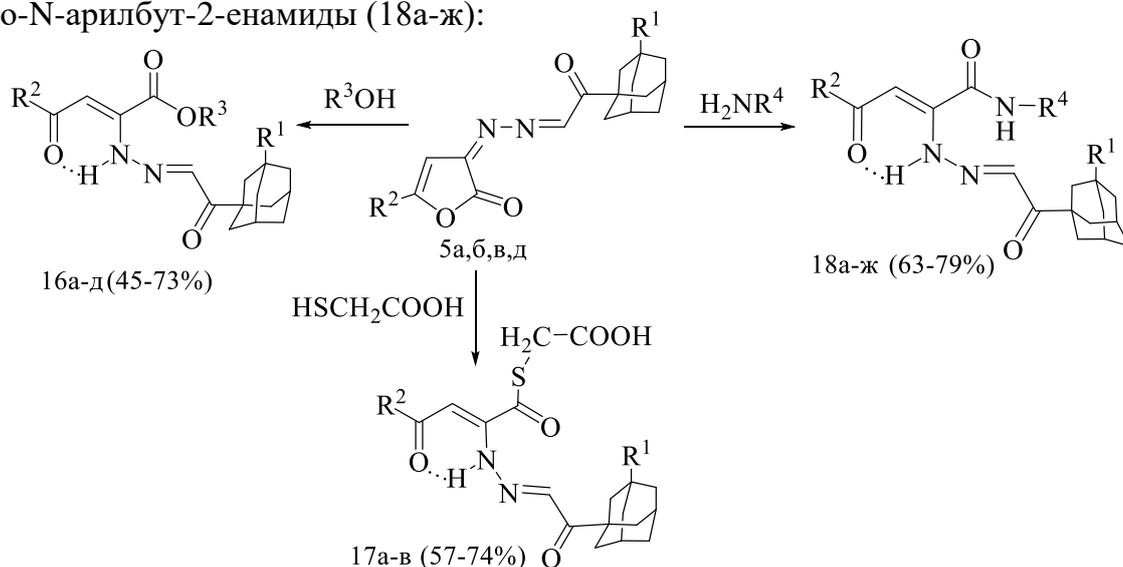
1.6. Химические превращения 2-[[2-(3-*R*-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразоно}-5-(гет)арилфуран-2(3Н)-онон

Фуран-2-оны 5а-е легко взаимодействуют с водой, в том числе с влагой воздуха, с образованием исходных кислот 3. С целью увеличения биологической доступности новых соединений, осуществлён синтез водорастворимых солей на основе реакции кислот 3 с эквимолекулярным количеством натрия гидрокарбоната:



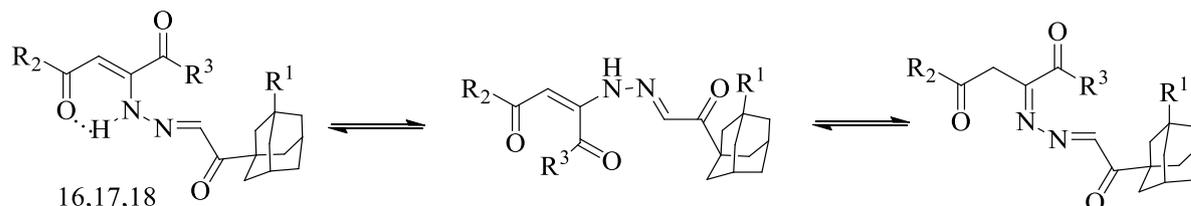
15: R¹=H, R²=C₆H₅ (а), 4-CH₃C₆H₄ (б), 4-CH₃OC₆H₄ (в), 2,4-(CH₃O)₂C₆H₃ (г), C₄H₃S (д), R¹=Cl, R²=C₆H₅ (е), 4-CH₃OC₆H₄ (ж), C₄H₃S (з). C₄H₃S=

Для сравнительного изучения химического поведения фуран-3-онов 6 и фуран-2-онов 5 нами впервые проведены реакции фуранонов 5 с метанолом, этанолом, тиогликолевой кислотой, ароматическими аминами, в результате чего выделены соответствующие алкил-2-{{2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразинил}-4-арил-4-оксобут-2-еноаты (16а-д), 2-{{2-[2-(3-R-адамантан-1-ил)оксоэтилиденгидразинил]-4-арил-4-оксобут-2-еноилтио}-этановые кислоты (17а-в) и 2-{{2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразинил}-4-арил-4-оксо-N-арилбут-2-енамиды (18а-ж):

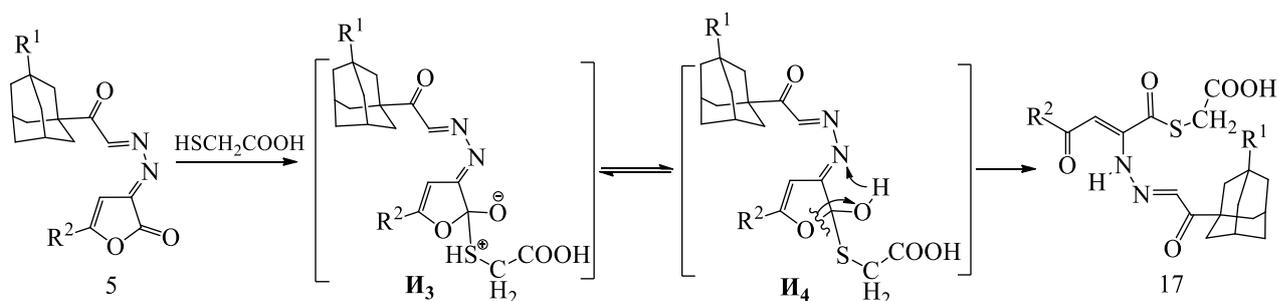


16: R¹=H, R³=CH₃, R²=C₆H₅ (а), 4-CH₃OC₆H₄ (б), C₄H₃O (в), R¹=Cl, R³=CH₃, R²=4-CH₃C₆H₄ (г), R³=C₂H₅, R²=4-CH₃OC₆H₄ (д); **17:** R¹=H, R²=C₆H₅ (а), 4-CH₃OC₆H₄ (б), R¹=Cl, R²=4-CH₃C₆H₄ (в); **18:** R¹=H, R²=C₆H₅, R⁴=C₆H₅ (а), 3-CH₃C₆H₄ (б), 3-ClC₆H₄ (в), R²=4-CH₃OC₆H₄, R⁴=C₆H₅ (г), R¹=Cl, R²=4-CH₃OC₆H₄, R⁴=C₆H₅ (д), 2-NO₂C₆H₄ (е), 3-CH₃C₆H₄ (ж). C₄H₃S= ; C₄H₃O=

Согласно данным ЯМР ¹H спектроскопии, соединения 16,17,18 в растворе ДМСО-d₆ как правило, имеют *Z*-кетоенгидразинную и *E*-кетоенгидразинную формы с преобладанием *Z*-изомера. Кроме того, обнаружена β-кетогидразонная форма у соединения 18в:



Образование соединений 17, по-видимому, происходит в результате первоначальной нуклеофильной атаки молекулы тиогликолевой кислоты по наиболее электроотрицательному атому углерода С² фуранона 5 с образованием промежуточного интермедиата **И₃** и последующим переносом протона ОН-группы интермедиата **И₄** на атом N, разрывом связи С-О, переходя в одну из форм производных кислот:



Образование соединений 16,18 происходит, по-видимому, по аналогичному механизму, предложенному для реакции родственных структур с OH- и NH-нуклеофилами. Таким образом, выделение продуктов раскрытия фуранового цикла является характерным для производных 3-гидразонофуран-2-онов 5.

2. Анализ результатов изучения биологической активности соединений на основе химических превращений 2(3)-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразонов 5-(гет)арилфуран-2,3-дионов

С помощью компьютерного прогнозирования биологической активности *in silico* по программе PASS нами выделены возможные перспективные направления фармакологических испытаний полученных веществ на ПМА, АА, ГА, противовирусное, спазмолитическое, иммуностимулирующее, жаропонижающее действие. В результате, 73 синтезированных соединения были подвергнуты биологическим испытаниям с целью поиска новых фармакологически активных веществ (см. рис. 1) на базе ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России и ПГНИУ, в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Москва, 2013).

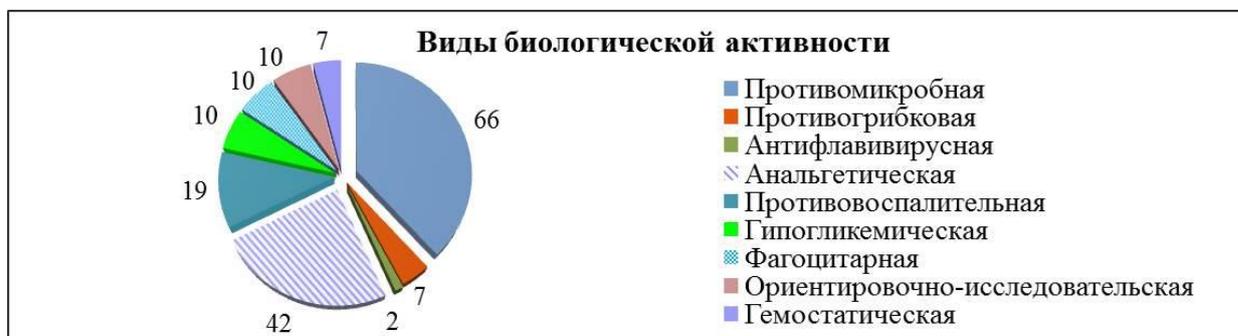


Рисунок 1. Количественные характеристики фармакологического скрининга.

2.1. Определение острой токсичности соединений

Острая токсичность изучена у представителей рядов 3,5,6,7,8,15,18. Установлено, что все исследованные производные обладают низкой острой токсичностью, высоким профилем безопасности, что позволяет отнести их к 4 и 5 классам опасности, согласно ГОСТу Р 53856-2010. В частности, высокоактивные соединения 3м и 15ж имеют показатели LD₅₀ в пределах 1600-1970 мг/кг и 3400-5600 мг/кг, соответственно.

2.2. Исследование противомикробной и противогрибковой активности

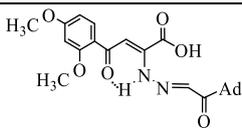
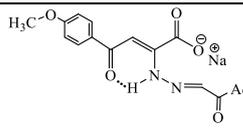
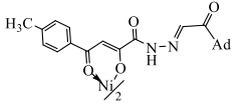
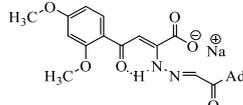
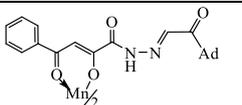
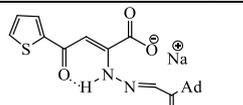
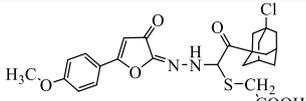
При анализе данных ПМА 66 веществ нами установлено, что практически все они обладают противомикробным действием. Наиболее активные соединения из рядов 3,8,10,15 представлены в табл. 1.

Выявлено, что среди рядов 3,5,6,7 лидирует соединение 3г, которое оказывает действие в отношении *E. coli* ATCC 25922 на уровне диоксидина и в 2 раза превышает его активность в отношении *St. aureus* ATCC 6538-Р. Активность никелевого хелата 8а превышает эффект хлоргексидина по отношению к *St. aureus* ATCC 6538-Р в 8 раз и к *E. coli* ATCC 25922 – в 2 раза. Марганцевые комплексы 8б, в менее активны. Химическая модификация кислот 3 в соли 15 способствует росту ПМА. Установлено, что наибольшее влияние в структуре соединений на проявление эффекта оказывает введение одной или двух электронодонорных групп в арильный радикал (у соединений 3г, 15в,г). Присутствие галогена в ядре адамантила не приводит к усилению действия. Замена фенильного радикала на тиенильный в 4 положении бутенового фрагмента (у соединения 15д) приводит к существенному увеличению ПМА.

Для семи соединений рядов 3,6,15,17 изучена противогрибковая активность. Установлено, что МИК этих веществ находится в пределах 500-1000 мкг/мл, и данные соединения неактивны.

Таблица 1

Противомикробное действие наиболее активных соединений

Соединение	МИК, мкг/мл		Соединение	МИК, мкг/мл	
	St. aureus / E. coli			St. aureus/ E. coli	
	3г	31/62		15в	31/125
	8а	15,5/62		15г	62/125
	8б	31/125		15д	31/125
	10г	125/125	Хлоргексидин		125/125
			Диоксидин		62/62

2.3. Антифлавивиральная активность

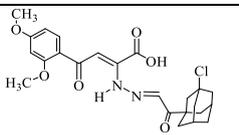
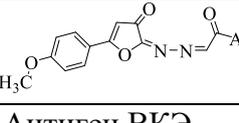
Для двух соединений (3м, бв), показавших при компьютерном прогнозировании потенциальное противовирусное действие, проведено изучение антифлавивиральной активности (см. табл. 2).

Установлено, что данные вещества активизировали специфический фагоцитоз, уменьшали экспрессию рецепторов, аффинных флавивиральному антигену и интерферону. Одновременно с этим, соединение 3м устраняло иммунодефицит, о чём свидетельствует восстановление уровня нейтрофилов, а также увеличение ФАН, ФИН и ФЧ. Таким образом, кислота 3м проявляет антифлавивиральную активность и по выраженности данного эффекта оно не уступает противоклещевому иммуноглобулину человека. Выявлено, что фуранон бв по аналогичным показателям действует достоверно ниже иммуноглобулина, но при этом выше, чем контрольная группа. Полученные результаты

свидетельствуют о перспективности поиска адамантилсодержащих соединений с данным видом активности в рядах производных 3,6.

Таблица 2

Антифлавивирусная активность соединений 3м и 6в

Соединение	Розеткообразующие лимфоциты, специфичные:		Фагоцитоз		
	к антигену, %	к интерферону, %	ФАН, %	ФИН, %	ФЧ
 3м	18,5±1,1 1***2***	22,3±1,1 1***2***	40,6±0,8 1***2***3***	0,11±0,03 2**	2,6±0,06 1**2**
 6в	29,5±1,3 1***3***	27,5±1,45 1***2***3**	28,7±1,45 1***2***3***	0,029±0,003 1**3***	1,025±0,1 1***2*3***
Антиген ВКЭ	31,5±1,4	38,0±1,36	19,3±1,3	0,035±0,001	1,85±0,2
Иммуноглобулин	16,5±0,5 1***2***	24,0±0,6 1**2**	51,3±1,45 2**	0,13±0,06 1*2**	2,5±0,1 1*2**
Контроль (инт.)	3,2±0,5	5,2±0,5	50,5±1,9	0,09±0,01	1,9±0,1

*=p< 0,05, **= p < 0,01, ***= p < 0,001, ¹ - по сравнению с контролем интактным, ² - по сравнению с ВКЭ, ³ - по сравнению с иммуноглобулином.

2.4. Анальгетическая активность

Анализ результатов исследования АА 42 представителей из рядов 3,5,6,7,9,10,13,16,18 показал, что все испытанные вещества проявляют активность с достоверно большим эффектом, чем метамизол натрия (см. рис. 2). В ряду фуран-3-онов 6 обнаружены соединения с высокой активностью на уровне диклофенака (6б,ж) и нимесулида (6ж). При этом введение дополнительного заместителя в 4 положение 5-фенилфуран-3-она существенно увеличивает активность (соединения 6е,ж). Продукты нуклеофильных превращений фуран-3-онов 6 – соединения из рядов 7,9,10 оказывают более слабое анальгетическое действие. Однако, в ряду спиросоединений 13 нами выявлены производные 13г и 13в, оказывающее АА на уровне или незначительно уступающую диклофенаку. Среди продуктов химических превращений фуран-2-онов 5: кислот 3, эфиров 16 и амидов 18 изучаемый эффект не достигает значения диклофенака. Таким образом, наиболее перспективными для дальнейшего поиска веществ с АА являются фуран-3-оны 6 и спиросоединения 13.

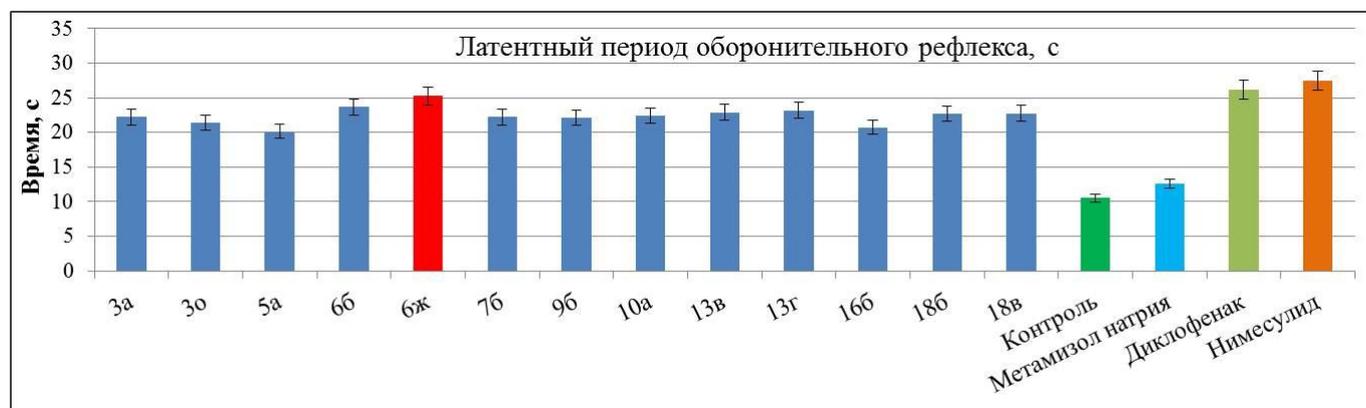


Рисунок 2. АА наиболее активных соединений, метамизола натрия, диклофенака и нимесулида.

2.5. Противовоспалительная активность

Установлено, что в ряду кислот 3 прослеживается зависимость увеличения эффекта при наличии электронодонорных групп в ароматическом заместителе (соединения 3б,в,о). Лидирует соединение 3б. Оно оказывает высокую ПВА, превышающую эффект диклофенака в дозе 10 мг/кг на 1 ч эксперимента, а на 3 ч и 5 ч ему не уступает. Замена на электроноакцептор в аналогичном положении у соединения 3д приводит к некоторому снижению действия. Выявлено, что наибольший вклад заместителя в каркасном ядре на проявление изучаемого действия наблюдается у соединения 3о с тиенильным фрагментом.

Среди фуран-3-онов 6 наиболее активно вещество 6г, имеющее атом брома в 4 положении арильного фрагмента, которое существенно превышает эффект диклофенака в аналогичной дозе. Наличие в структуре арильного фрагмента электронодонорного заместителя (у соединений 6в,з) несколько снижает активность, но она остаётся выше уровня диклофенака (10 мг/кг) в начале эксперимента. На пике воспаления и на 5 ч наблюдается общее снижение активности до уровня диклофенака в дозе 50 мг/кг, и ни одно соединение не превышает его эффекта в дозе 10 мг/кг. Гидразид 7г показал значение ПВА выше диклофенака в дозе 10 мг/кг только на 1 ч. Таким образом, поиск биологически активных соединений перспективен в рядах 3,6.

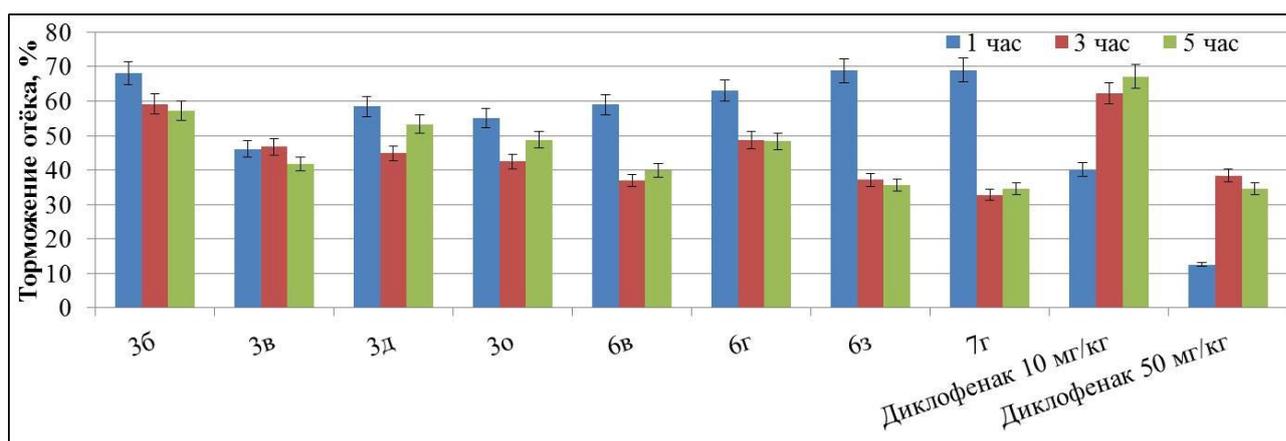


Рисунок 3. ПВА наиболее активных соединений и диклофенака.

2.6. Гипогликемическая активность

Среди 10 изученных соединений (3а,в,г,ж,к,л,м, 6а,в, 10в) ни одно не проявило статистически значимого гипогликемического эффекта. При этом выявлена достоверная гипергликемическая активность у кислот 3в,ж,м. По-видимому, полученный результат может быть связан со способностью исследуемых производных ингибировать действие инсулина на рецепторном уровне или с иммунным механизмом ответа на введение данных веществ.

2.7. Исследование фагоцитарной активности соединений и их влияние на реакцию антигенспецифического распознавания инсулина

Установлено, что все соединения, изученные также на ГА, тормозят специфическое реагирование лимфоцитов на инсулин, что, возможно, связано со снижением чувствительности рецепторов к инсулину (см. рис. 4). Последнее может привести к

развитию инсулинорезистентности и снижению гипогликемического действия данных веществ.

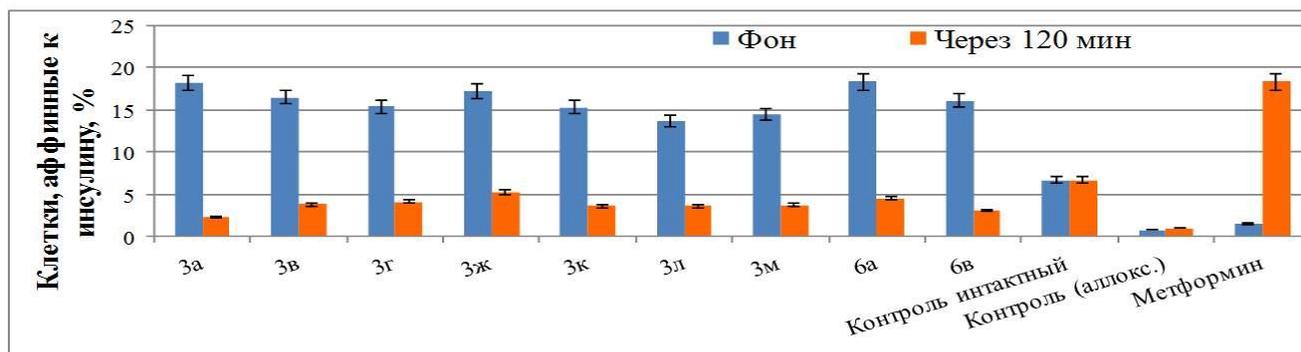


Рисунок 4. Влияние изученных соединений на чувствительность к рецепторам инсулина при АСД.

Для оценки воздействия изучаемых соединений на иммунитет клеточного типа определена функциональная активность фагоцитов в условиях АСД. Процент клеток, вступивших в фагоцитоз (см. рис. 5), увеличился, в среднем, в 7 раз, по сравнению с контролем (аллоксан), и в 1,5-2 раза, по сравнению с метформином. ФЧ также увеличилось по сравнению с контролем (аллоксан), в среднем, в 2 раза, и по сравнению с метформином – в 1,5 раза. Таким образом, активизировались процессы фагоцитоза, нарушенные при АСД, в частности, увеличились показатели ФИН и ФЧ. Это может служить некоторым объяснением полученных результатов изучения их ГА.

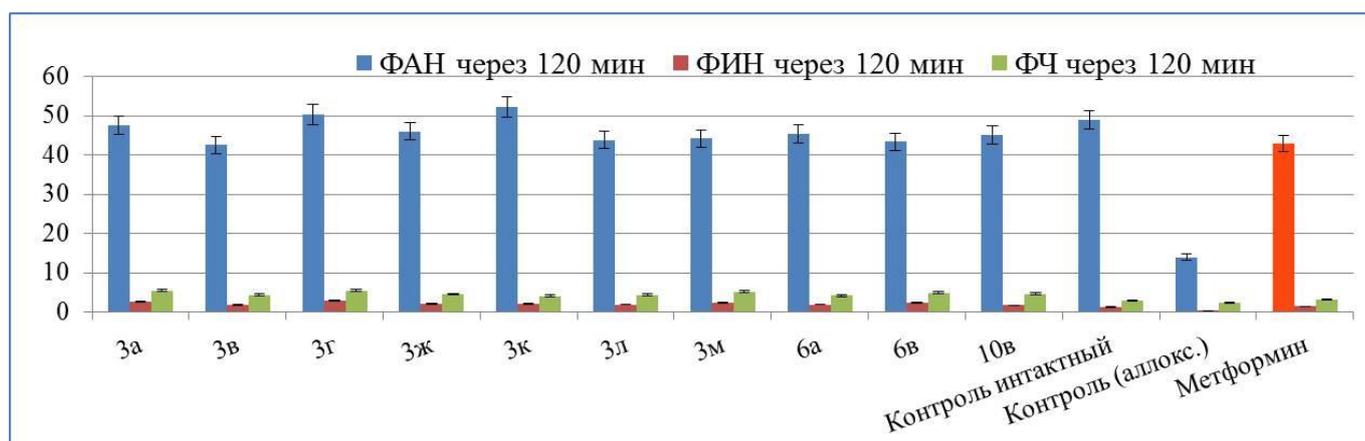


Рисунок 5. Действие изученных соединений на фагоцитарную активность нейтрофилов при АСД.

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

Для веществ 3а, в, г, ж, к, л, м, 6а, в, 10в и метформина проведён психофармакологический тест «открытое поле». Выявлено, что на фоне ярко выраженных характерных изменений показателей поведенческих реакций, снижения ориентировочной активности, происходит частичное восстановление исследовательских способностей у животных. Однако все исследуемые вещества, наряду с метформином, не оказали статистически значимого выраженного эффекта.

2.9. Изучение влияния соединений на свёртывающую систему крови

Установлено, что соединения 15г, д, ж проявляют выраженный гемостатический эффект, а вещества 15б, в – антикоагулянтное действие (см. рис. 6). Выявлено, что введение второй метоксигруппы в арильный радикал и замена атома хлора на атом водорода у

соединения 15г, а также замена арильного радикала на 2-тиенил у соединения 15д, приводит к снижению гемостатического действия до уровня этамзилата. При этом лидирует производное 15ж. Оно достоверно уменьшает время свёртывания цитратной крови и превышает по активности этамзилат в 2,5 раза. Таким образом, с учётом значений острой токсичности, соединение 15ж имеет определённые преимущества перед препаратом сравнения в отношении безопасности и эффективности, что делает перспективным его дальнейшее углублённое изучение.

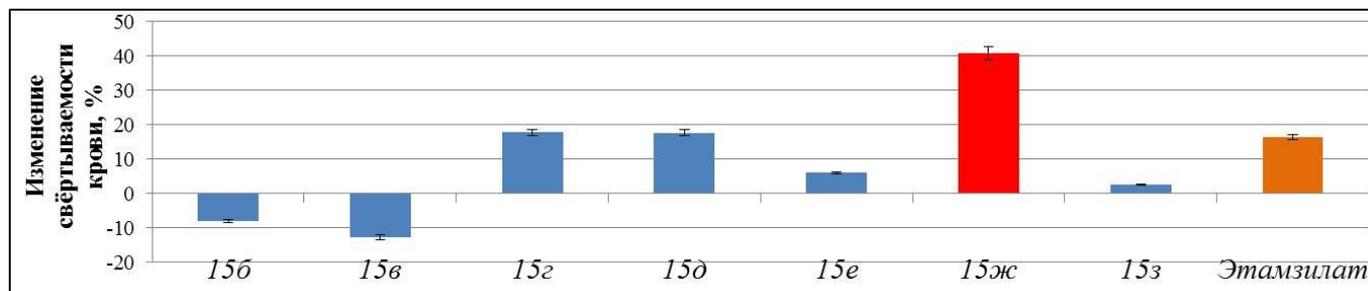


Рисунок 6. Гемостатическая активность соединений и этамзилата.

3. Методы определения подлинности и чистоты 4-(2,4-диметоксифенил)-2-{{2-(3-хлорадамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразинил}-4-оксобут-2-еновой кислоты (3м) и 4-(4-метоксифенил)-2-{{2-[2-оксо-(3-хлорадамантан-1-ил)этилиден}гидразинил]-4-оксобут-2-еноата натрия (15ж)

Для установления подлинности соединения 3м предлагается качественная реакция комплексообразования с солями меди (II) и железа (III) с образованием осадка голубого и красного цвета, соответственно. Ковалентно связанный хлор, после предварительного прокаливания вещества со смесью для спекания, можно доказывать по реакции осаждения серебра нитрата раствором в азотнокислой среде с образованием белого творожистого осадка.

Определение подлинности соли 15ж рекомендуется проводить с помощью качественной реакции комплексообразования с солями тяжёлых металлов с образованием соответствующих окрашенных осадков. Наличие иона натрия рекомендуется определять по реакции окрашивания пламени горелки в жёлтый цвет.

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного диссертационного исследования разработаны и усовершенствованы препаративные методы синтеза новых производных 2(3)-{{2-(3-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразино}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов и продуктов их химических превращений. Показано, что среди полученных соединений обнаружены вещества с выраженной противомикробной, антифлавивирусной, анальгетической, противовоспалительной и гемостатической активностью при низкой острой токсичности.

Приведённые ниже выводы позволяют конкретно оценить полученные в диссертационной работе данные, которые могут быть использованы при дальнейшей разработке новых отечественных лекарственных средств.

Выводы

1. Усовершенствован препаративный метод синтеза 2-{{2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2H)-онов на основе совмещения реакций Штаудингера и диаза-Виттига, который приводит к высокому выходу целевых продуктов с потенциальным биологическим действием. Получены новые 1-[3-хлор(бром)адамantan-1-ил]-2-(трифенилфосфоранилиденгидразоно)этаноны и их продукты с 4-(гет)арил-2,4-диоксобутановыми кислотами, обладающие антифлавивирусной активностью.

2. Показано, что при взаимодействии 2-{{2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2H)-онов с алифатическими спиртами, ароматическими аминами образуются продукты присоединения по активированной HC=N связи боковой цепи с сохранением фуранового цикла, в то время, как их кислотный гидролиз приводит к N-[2-(адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-енгидразидам. Гидразиды кислот в реакции с дихлоридами никеля, марганца, кобальта координируются металлом как бидентатные O-O лиганды и образуют комплексные соединения с высокой противомикробной активностью.

3. Впервые установлено различное направление атаки нуклеофильного реагента в реакции 2(3)-{{2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов с тиогликолевой кислотой с образованием, соответственно, 2-{{2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксо-1-(2-(5-арил-3-оксофуран-2-илиден)гидразинил)этил}тио}этановых кислот и 2-{{2-[2-(3-R-адамantan-1-ил)оксоэтилиденгидразинил]-4-арил-4-оксобут-2-еноилтио}этановых кислот.

4. Установлено, что 2-{{2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арил-фуран-3(2H)-оны в реакции с ароилкетеном, в зависимости от условий проведения эксперимента, образуют два типа циклических продуктов с выраженным анальгетическим действием.

5. Показано, что 3-{{2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арил-фуран-2(3H)-оны реагируют с водой, алифатическими спиртами, ароматическими аминами с образованием 4-(гет)арил-2-{{2-[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-оксобут-2-еновых кислот, их эфиров и амидов. Впервые получены водорастворимые 4-(гет)арил-2-{{2-[2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден]гидразинил}-4-оксобут-2-еноаты натрия, проявляющие высокую гемостатическую активность.

6. Установлено влияние электронодонорных заместителей в арильном радикале на увеличение противомикробного действия 2-{{2-(3-R-адамantan-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразинил}-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот, их натриевых солей, а также комплексного производного на основе никеля (II). При этом, в случае натриевых солей соответствующих кислот, дополнительное введение атома галогена в каркасное ядро адамантила приводит также к их высокой гемостатической активности. Выявлено, что увеличению анальгетического действия способствуют, помимо наличия электронодоноров

в арильном фрагменте 2-{{2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2H)-онов, дополнительные функциональные группы при атоме C⁴ фуранового цикла.

7. Для дальнейшего углублённого исследования предложены малотоксичные вещества: 2-{{2-(3-хлорадамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразинил}-4-(2,4-диметокси-фенил)-4-оксобут-2-еновая кислота, оказывающая антифлавивирусную активность на уровне иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита; 4-(4-метоксифенил)-2-{{2-[2-оксо-(3-хлорадамантан-1-ил)этилиден}гидразинил]-4-оксобут-2-еноат натрия, превосходящий по гемостатическому действию в 2,5 раза эффект этамзилата.

Рекомендации

Проведенное диссертационное исследование имеет научно-практическое значение для дальнейшего целенаправленного синтеза новых биологически активных соединений на основе химических превращений 2(3)-{{2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов с выходом на перспективные виды фармакологических эффектов, отвечающих современным требованиям.

Рекомендуется:

- использовать усовершенствованный метод синтеза 2-{{2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3-онов, позволяющий совместить реакции Штаудингера и диаза-Виттига, что приводит к более высоким выходам целевых веществ;
- внедрить разработанные методики синтеза, доказательства структуры и чистоты, а также полученные данные по исследованию биологической активности соединений на основе превращений 2(3)-{{2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиден}гидразоно}-5-(гет)арилфуран-3(2)-онов 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 антифлавивирусным и гемостатическим действием на основе 2-{{2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразинил}-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот и их натриевых солей.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ ПРЕДСТАВЛЕНО В РАБОТАХ

1. Пулина, Н.А. Синтез и изучение биологической активности замещённых 2-метилгидразоно-5-арил-2H-фуран-3-онов и продуктов их гидролиза / Н.А. Пулина, А.С. Кузнецов, Т.Ф. Одегова [и др.] // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии**. – 2013. – № 8. – С. 8-11.
2. 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 [и др.] // **Глобальный научный потенциал**. – 2013. – № 4. – С. 8-11.
3. Пулина, Н.А. Реакция диаза-Виттига трифенилфосфазинов на основе 3-R-адамантаноилдиазометана с 4,5-дизамещёнными фуран-2,3-диоами / Н.А. Пулина, А.С. Кузнецов, Н.Ю. Лисовенко [и др.] // **Журнал органической химии**. – 2014. – Т. 50, вып. 12. – С. 1802-1805. Версия: Pulina, N.A. Diaza-Wittig reaction of 4,5-disubstituted furan-2,3-diones with triphenylphosphazenes derived from 3-R-adamantanoyldiazomethane / N.A. Pulina, A.S. Kuznetsov,

N.Yu. Lisovenko [et al.] // **Russian Journal of Organic Chemistry**. – 2014. – Vol. 50, № 12. – P. 1783-1786.

4. Кожухарь, В.Ю. Исследование анальгетической активности новых соединений, содержащих фрагменты морфолина, пиперазина и адамантана / В.Ю. Кожухарь, А.С. Кузнецов, Н.А. Пулина [и др.] // **Современные проблемы науки и образования**. – 2015. – № 3; URL: www.science-education.ru/123-17523.

5. Пулина, Н.А. Химия иминофуранов IX. Синтез и циклизация (2Z)-2-((2Z)-2-[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксо-этилиденгидразинил]-4-(гет)арил-4-оксобут-2-еновых кислот / Н.А. Пулина, А.С. Кузнецов, А.Е. Рубцов // **Журнал органической химии**. – 2015. – Т. 51, вып. 7. – С. 986-990.

Версия: Pulina, N.A. Chemistry of iminofurans: IX. Synthesis and cyclization of (2Z)-2-((2Z)-2-[2-(3-R-adamantan-1-yl)-2-oxoethylidene]hydrazinyl]-4-(het)aryl-4-oxobut-2-enoic acids / N.A. Pulina, A.S. Kuznetsov, A.E. Rubtsov // **Russian Journal of Organic Chemistry**. – 2015. – Vol. 51, № 7. – P. 967-971.

6. Rubtsov, A.E. Synthesis, structure and chemical properties of N-substituted 2(3)-imino-2,3-dihydrofuran-3(2)-ones / A.E. Rubtsov, S.N. Shurov, E.R. Nasibullina, A.S. Kuznetsov [et al.] // 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. 180.

7. Kuznetsov, A.S. Synthesis 2- and 3-adamantanoylmethylenhydrazones 5-arylfuran-2,3-diones / A.S. Kuznetsov, A.E. Rubtsov, N.A. Pulina // International Symposium "Advanced science in organic chemistry". – Miskhor, 2010. – Book of Abstracts. – С. 114.

8. Кузнецов, А.С. Трифенилфосфазины адамантаноилдiazометана в реакции аза-Виттига / А.С. Кузнецов, Н.А. Пулина, А.Е. Рубцов [и др.] // Успехи синтеза и комплексообразования: мат. П всерос. науч. конф. – Москва, 2012. – С.153.

9. Кузнецов, А.С. Взаимодействие трифенилфосфазинов адамантаноилдiazометана с производными фуран-2,3-диона / А.С. Кузнецов, Н.А. Пулина, А.Е. Рубцов // Современные проблемы химической науки и образования: мат. Всерос. конф. – Чебоксары, 2012. – С. 111.

10. Чемадуров, Д.Г. Трифенилфосфазины адамантаноилдiazометана в реакции диаза-Виттига / Д.Г. Чемадуров, Н.Ю. Лисовенко, А.С. Кузнецов [и др.] // Техническая химия: от теории к практике: материалы III междунар. конф. – Пермь, 2012. – С. 321-323.

11. Гудилина, Н.А. Взаимодействие адамантаноилдiazометана с 5-арилфуран-2,3-дионами *one-pot* реакцией аза-Виттига / Н.А. Гудилина, А.С. Кузнецов, Н.А. Пулина [и др.] // Актуальные вопросы медицинской науки: материалы Рос. науч.-практ. конф. – Ярославль, 2013. – С. 216.

12. Пулина, Н.А. Взаимодействие 5-арилфуран-2,3-дионон и 2-адамантаноилметилгидразоно-5-арилфуран-3-онон в условиях термолита / Н.А. Пулина, А.С. Кузнецов, А.Е. Рубцов // Новые направления в химии гетероциклических соединений: материалы третьей междунар. науч. конф. – Пятигорск, 2013. – С. 258.

13. Кузнецов, А.С. Синтез и исследование противомикробной активности адамантаноилметилгидразонон производных ацилпировиноградных кислот / А.С. Кузнецов, Н.А. Пулина, В.В. Новикова [и др.] // Вестник Перм. гос. фарм. акад. – Пермь, 2013. – № 11. – С. 86-88.

14. Пулина, Н.А. Синтез биологически активных 2-[2-(3-R-адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразинил]-4-ацил-4-оксобут-2-еновых кислот / Н.А. Пулина, А.С. Кузнецов, А.Е. Рубцов [и др.] // Успехи синтеза и комплексообразования: материалы III Всерос. науч. конф. – Москва, 2014. – С. 264.

15. Кожухарь, В.Ю. Изучение гипогликемической активности новых соединений 2-R-4-ацил-4-оксобут-2-еновых кислот / В.Ю. Кожухарь, А.С. Кузнецов, А.И. Краснова [и др.] // Вестник Перм. гос. фарм. акад. – Пермь, 2014. – №12. – С. 79-80.
16. Гудилина, Н.А. Синтез и свойства адамантаноилметиленидразонов 4-ацил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых кислот и продуктов их превращений / Н.А. Гудилина, А.С. Кузнецов, Е.А. Непогодина [и др.] // Вестник Перм. гос. фарм. акад. – Пермь, 2014. – №12. – С. 108-109.
17. Кузнецов, А.С. Синтез и исследование противовоспалительной активности новых гидразонопроизводных 4-ацил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых кислот / А.С. Кузнецов, А.И. Краснова, Н.А. Пулина // Актуальные проблемы и достижения в медицине: сборник научных трудов междунар. науч.- практ. конф. – Самара, 2014. – С. 158-161.
18. Кожухарь, В.Ю. Синтез и изучение гипогликемической активности соединений на основе производных 4-ацил-2,4-диоксобутановых кислот // В.Ю. Кожухарь, А.С. Кузнецов, Н.А. Пулина [и др.] // Молодая фармация – потенциал будущего: материалы всерос. науч. конф. с междунар. участием. – Санкт-Петербург, 2014. – С. 97-99.
19. Кузнецов, А.С. 2-Адамантаноилметиленидразоно-5-арилфуран-3(2H)-оны в реакциях с нуклеофильными реагентами / А.С. Кузнецов, Н.А. Пулина, А.Е. Рубцов // Техническая химия: от теории к практике: материалы IV междунар. конф. – Пермь, 2014. – С. 126.
20. Собин, Ф.В. Разработка оптимальных параметров определения новых производных 4-(гет)арил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот в тонком слое сорбента / Ф.В. Собин, Н.А. Пулина, Л.А. Чекрышкина, А.С. Кузнецов [и др.] // Фармация и фармакология. – 2014. – Т. 6. – № 7. – С. 59-61.
21. Kuznetsov, A. Synthesis and studying of biological activity of 2-[2-(3-R-adamantane-1-yl)-2-oxoethylidenedrazino]-4-(het)aryl-4-oxobut-2-enoic acids / A. Kuznetsov, N. Pulina, A. Krasnova // 2nd Russian conference on medicinal chemistry MedChem 2015: Book of Abstracts. – Novosibirsk, 2015. - P. 257.
22. Кузнецов, А.С. Взаимодействие 3-[2-(адамантан-1-ил)-2-оксоэтилиденгидразоно]-5-арилфуран-2(3H)-онов с нуклеофильными реагентами / А.С. Кузнецов, Н.А. Пулина, А.Е. Рубцов // Международный конгресс “KOST-2015”. – Москва, 2015. – P. 456.
23. Кузнецов, А.С. Изучение антимикробной и противовирусной активности новых соединений адамантана на основе 5-(гет)арилфуран-2,3-дионо / А.С. Кузнецов, Н.А. Пулина, Т.А. Юшкова [и др.] // Человек и лекарство: тез. докл. XXIII Рос. Нац. Конгр.: М., 2016. – С. 188-189.
24. Pulina, N.A. Synthesis of biological activity heterocycle derivatives based on 4-(het)aryl-2,4-dioxobutanoic acids / N.A. Pulina, F.V. Sobin, K.V. Lipatnikov, A.S. Kuznetsov // Abstracts of paper the 9th Eurasian Meeting on Heterocyclic Chemistry. – Dombay, 2016. – P. 234.

Автор выражает благодарность научному сотруднику РИЦ «Фарматест» Е.Б. Бабушкиной за запись ИК-спектров, доценту кафедры природных и биологически активных соединений ПГНИУ А.Е. Рубцову за запись ЯМР ¹H-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 ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Л.Н. Марковой.