

И. В. Украинец, Л. А. Петрушова, Н. Л. Березнякова

ВЛИЯНИЕ БРОМИРОВАНИЯ МЕТИЛОВОГО ЭФИРА 1-АЛЛИЛ-4-ГИДРОКСИ-2,2-ДИОКСО-1*H*-2λ⁶,1-БЕНЗОТИАЗИН-3- КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

С помощью рентгеноструктурного анализа установлено, что, в отличие от близких по строению алкил-1-аллил-4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохиолин-3-карбоксилатов, взаимодействие метилового эфира 1-аллил-4-гидрокси-2,2-диоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотиазин-3-карбоновой кислоты с молекулярным бромом в среде ледяной уксусной кислоты представляет собой не гетероциклизацию, а классическое присоединение брома к ненасыщенной аллильной связи. Фармакологические испытания показали, что в случае сложных эфиров удаление из 1-*N*-алкильного фрагмента двойной связи сопровождается спадом анальгетической активности.

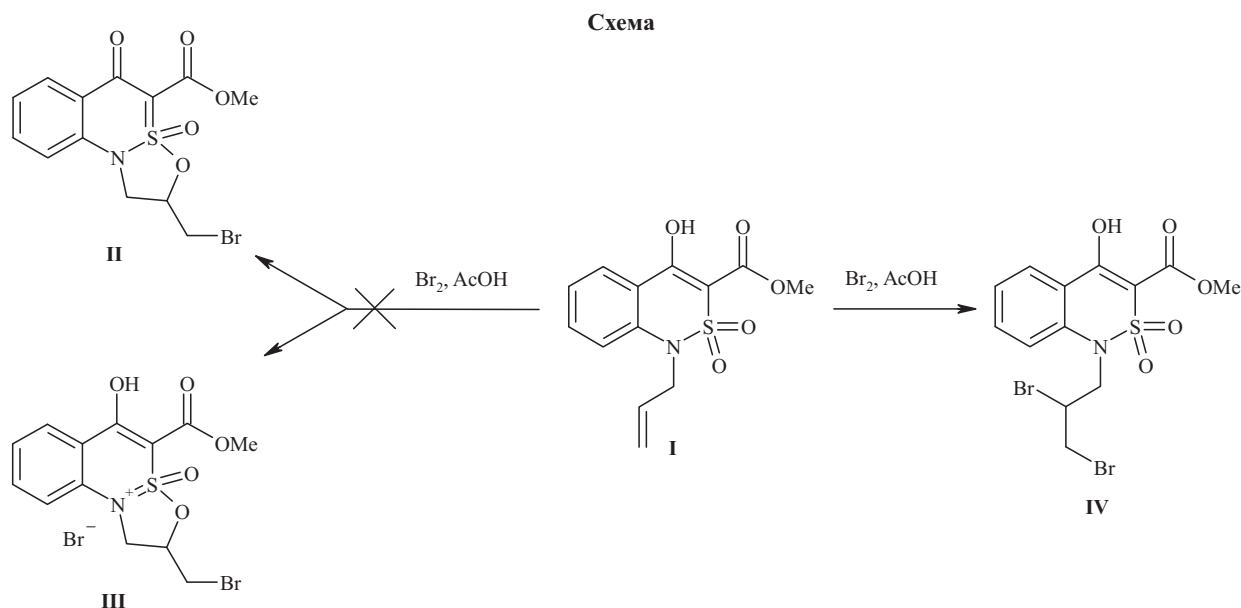
Ключевые слова: бромирование; 4-гидрокси-2,1-бензотиазины; синтез; анальгетическая активность.

Хорошо известная в органической и аналитической химии реакция обесцвечивания молекулярного брома при его взаимодействии с двойной аллильной связью может протекать различными путями и приводить к образованию продуктов разных типов. Так, в классическом варианте она представляет собой суммарное присоединение брома к ненасыщенной связи [1]. Однако в некоторых случаях эта реакция проходит совершенно иначе, сопровождаясь чрезвычайно легким и эффективным формированием новых 5-, 6- и даже 7-членных гетероциклов [2 – 5]. Понятно, что для этого у подвергающейся бромированию молекулы обязательно должны быть определенные структурные предпосылки. Как правило, это циклические соединения, имеющие *орто*-расположенные аллильную (или аналогичную ей) и карбонильную группировки. В качестве наглядного примера таких веществ можно привести 1-*N*-аллилзамещенные хиолин-2-оны, бромирование

которых, малочувствительное к заместителям в других положениях хиолонового ядра, всегда проходит, в первую очередь, как галогенциклизация и фактически является препаративным методом получения многочисленных 2-бромометил-1,2-дигидрооксазоло[3,2-*a*]-хиолинов [6 – 10].

Принимая во внимание этот факт, а также близкое структурное сходство с эфирами 4-*R*-2-оксо-1,2-дигидрохиолин-3-карбоновых кислот, при бромировании метил-1-аллил-4-гидрокси-2,2-диоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотиазин-3-карбоксилата (I) в зависимости от его способности к оксо-гидрокситаутомерии можно ожидать образования 5-оксо- (II) или 5-гидрокси- (III) трициклических продуктов (схема)

Не следует однако забывать, что иногда даже при наличии, казалось бы, всех необходимых для циклизации критериев, формирование нового цикла не происходит [11, 12]. Надежно предугадывать истинное на-



правление таких реакций, а, значит, и эффективно использовать их для целенаправленной химической модификации тех или иных производных пока не удается. Другими словами, продуктом бромирования эфира I вполне может оказаться и 1-*N*-дибромпропильное производное IV. Каким окажется результат в действительности мы и попытались выяснить в данном исследовании.

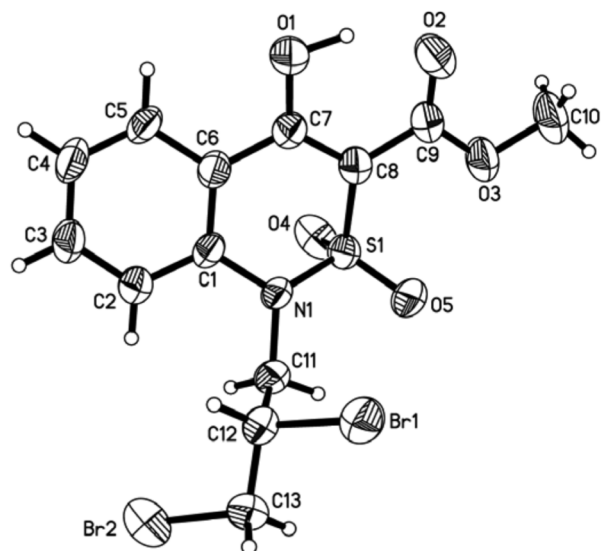
Как и ожидалось, бромирование метилового эфира 1-аллил-4-гидрокси-2,2-диоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотиазин-3-карбоновой кислоты (I) молекулярным бромом в среде ледяной уксусной кислоты проходит легко и быстро — бурая окраска брома исчезает практически мгновенно после смешивания эквимольных количеств реагентов.

Экспериментальная химическая часть

Спектр ЯМР ¹H регистрировали на спектрометре Varian Mercury-VX-200 (США), рабочая частота 200 МГц, растворитель ДМСО-d₆, внутренний стандарт тетраметилсилан. Элементный анализ проводили на микроанализаторе EuroVector EA-3000 (Великобритания). Данные элементного анализа соответствуют вычисленным. Температуру плавления определяли в капилляре на цифровом анализаторе точки плавления SMP10 Stuart (Великобритания). Исходный метиловый эфир I получали по известной методике [13].

Метиловый эфир 1-(2,3-дибромпропил)-4-гидрокси-2,2-диоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотиазин-3-карбоновой кислоты (IV). К раствору 2,95 г (0,01 моль) 1-аллил-замещенного эфира (I) в 10 мл ледяной уксусной кислоты при интенсивном перемешивании прибавляют раствор 0,52 мл (0,01 моль) молекулярного брома в 5 мл того же растворителя. Бурая окраска брома при этом сразу исчезает. Разбавляют реакционную смесь холодной водой. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают холодной водой, сушат. Выход 3,96 г (87 %). Т. пл. 123 – 125 °С (диэтиловый эфир). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д., (J, Гц): 13,21 (с, 1H, OH); 8,01 (д, 1H, J = 8,0, H-5); 7,76 (т, 1H, J = 7,7, H-7); 7,63 (д, 1H, J = 8,3, H-8); 7,41 (т, 1H, J = 7,6, H-6); 4,60 – 4,35 (м, 3H, NCH₂CHBr); 3,95 (д, 2H, J = 4,0, CH₂Br); 3,88 (с, 3H, OMe). C₁₃H₁₃Br₂NO₅S.

Установить строение образовавшегося при бромировании эфира I продукта с помощью спектроскопии ЯМР оказалось не так просто, как может показаться на первый взгляд. Дело в том, что все альтернативные структуры — II, III и IV — содержат совершенно одинаковые спиновые системы. Следовательно, решить возникшую аналитическую задачу с помощью только лишь обычных спектров ЯМР, записанных на ядрах ¹H, не представляется возможным. В принципе, для этого можно использовать двумерную спектроскопию ЯМР (НМQC и НМВС), хорошо зарекомендовавшую себя при решении аналогичной проблемы [12]. Однако практически воспользоваться этими специальными приемами ЯМР помешало крайне неудачное совпадение резонансных частот, в данном случае важных для



Строение молекулы эфира IV в представлении атомов эллипсоидами тепловых колебаний с 50 % вероятностью.

структурных отнесений протонов NCH₂-группы, и соседствующего с ней CHBr-фрагмента.

Строение полученного продукта все же было определено, чему способствовало формирование при его очистке подходящих для рентгеноструктурного исследования монокристаллов. В результате однозначно установлено, что в отличие от 2-карбонильных аналогов бромирование метилового эфира 1-аллил-4-гидрокси-2,2-диоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотиазин-3-карбоновой кислоты (I) галогенциклизацией не сопровождается, а проходит как обычное присоединение брома к аллильной связи.

Дигидротиазиновый гетероцикл полученного при этом метилового эфира 1-(2,3-дибромпропил)-4-гидрокси-2,2-диоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотиазин-3-карбоновой кислоты (IV) находится в конформации, промежуточной между “твист-ванной” и “софой” (параметры складчатости [14]: S = 0,64; Θ = 51,8°; Ψ = 23,4°). Отклонения атомов S(1) и C(8) от среднеквадратичной плоскости остальных атомов цикла составляют 0,89 и 0,28 Å соответственно (см. рисунок). Атом азота имеет пирамидальную конфигурацию — сумма центрированных на нем валентных углов составляет 353°. Сложноэфирный заместитель копланарен эндоциклической двойной связи C(7)-C(9) (торсионный угол C(7)-C(8)-C(9)-O(2) равен 4,2(8)°, чему способствует образование сильной внутримолекулярной водородной связи O(1)-H...O(2): H...O 1,61 Å, O-H...O 148°. Следует отметить, что образование указанной водородной связи не приводит к перераспределению электронной плотности во фрагменте O(1)-C(7)-C(8)-C(9)-O(2), обычно наблюдающемуся у структурно схожих 4-гидроксихинолин-2-онов. Заместитель при атоме азота расположен таким образом, что связь C(12)-C(13) находится в -*sc*-конформации относительно связи C(1)-N(1) и антиперипланарна связи N(1)-C(11) — торсионные углы C(1)-N(1)-C(11)-C(12)

– 75,2(5)°; N(1)–C(11)–C(12)–C(13) 174,1(3)°. Атомы брома находятся в *транс*-положении друг относительно друга: торсионный угол Br(1)–C(12)–C(13)–Br(2) достигает 171,1(2)°. При этом в данном заместителе обнаружен укороченный контакт Н(11a)...Br(2) 2,83 Å (сумма вандерваальсовых радиусов 3,14 Å [15]).

Достаточно сильное стерическое отталкивание между дибромпропильным фрагментом и атомами бензотиазинового ядра [укороченные внутримолекулярные контакты: Н(2)...C(11) 2,55 Å (2,87 Å), Н(2)...Н(11a) 2,12 Å (2,34 Å), Н(11a)...C(2) 2,65 Å (2,87 Å), Н(11b)...О(5) 2,37 Å (2,46 Å) и Н(12)...C(2) 2,75 Å (2,87 Å)] приводит к удлинению связи C(1)–N(1) до 1,413(4) Å по сравнению с ее средним значением 1,371 Å [16]. Кроме того, в кристалле эфира IV обнаружено и межмолекулярное С–Н...π взаимодействие C(11)–Н(11a)...C(3)' (1 – x, 2 – y, – z) 2,81 Å.

Рентгеноструктурное исследование соединения IV. Кристаллы дибромзамещенного эфира IV (C₁₃H₁₃Br₂NO₅S, M 455,12) триклинные (диэтиловый эфир), при 20 °С *a* = 8,384(1); *b* = 9,145(1); *c* = 11,246(2) Å; α = 68,13(1)°; β = 89,11(1)°; γ = 87,14(1)°; *V* = 799,3(2) Å³; Mr = 455,12; *Z* = 2; пространственная группа P1̄; *d*_{выч} = 1,891 г/см³; μ(MoK_α) = 1,891 мм⁻¹; F(000) = 448. Параметры элементарной ячейки и интенсивности 7947 отражений (4635 независимых, *R*_{int} = 0,042) измерены на дифрактометре Xcalibur-3 (MoK_α излучение, CCD-детектор, графитовый монохроматор, ω-сканирование, 2Θ_{макс} = 60°).

Структура расшифрована прямым методом по комплексу программ SHELXTL [17]. Поглощение учтено полуэмпирическим методом по результатам мульти-сканирования, *T*_{min} = 0,422, *T*_{max} = 0,903. Положения атомов водорода выявлены из разностного синтеза электронной плотности и уточнены по модели “наездника” с *U*_{изо} = *nU*_{экви} (*n* = 1,5 для метильной группы и *n* = 1,2 для остальных атомов водорода). Атом водорода, участвующий в образовании водородной связи, уточнен в изотропном приближении. Структура уточнена по F² полноматричным методом наименьших квадратов в анизотропном приближении для неводородных атомов до *wR*₂ = 0,134 по 4591 отражению (*R*₁ = 0,056 по 2521 отражению с *F* > 4σ (*F*), *S* = 0,932).

Анальгетическая активность эфира IV и препаратов сравнения

| Соединение | Латентный период через 1 ч после введения соединений, с | Изменение длительности латентного периода по сравнению с контролем, % |
|------------|---|---|
| IV | 3,53 ± 0,13* | + 12,6 |
| I | 5,37 ± 0,18** | + 71,1 |
| Мелоксикам | 4,91 ± 0,17** | + 56,3 |
| Пироксикам | 3,96 ± 0,15** | + 26,1 |
| Контроль | 3,14 ± 0,14 | – |

* Различия достоверны при *p* < 0,05 по сравнению с эфиром I;

** различия достоверны при *p* < 0,05 по сравнению с контролем.

Полная кристаллографическая информация по эфиру IV депонирована в Кембриджском банке структурных данных, депонент № CCDC 982396.

Экспериментальная биологическая часть

Как было показано нами ранее, исходный метиловый эфир I обладает высокой анальгетической активностью [13]. Отсюда вполне закономерным представляется изучение обезболивающих свойств и продукта его бромирования — эфира IV. Испытания проведены на белых нелинейных половозрелых крысах-самцах массой 180 – 200 г в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей и Закона Украины № 3447-IV “О защите животных от жестокого поведения” (2006). На протяжении всего исследования подопытные животные содержались на стандартном рационе со свободным доступом к воде и пище.

Анальгетическую активность эфира IV изучали на стандартной модели термического раздражения кончика хвоста белых крыс (tail-immersion), позволяющей судить о центральном влиянии на ноцицептивную систему [18]. При погружении кончика хвоста в нагретую до 54 °С водяную баню определяли латентный период отдргивания хвоста, выраженный в секундах. Анальгетический эффект (в %) оценивали по величине латентного периода через 1 ч после введения исследуемых веществ. Для получения статистически достоверных результатов (принят уровень значимости доверительного интервала *p* ≤ 0,05) в тестировании эфира IV, препаратов сравнения и в контроле было задействовано по 7 подопытных животных. Исследуемое вещество и близкие по строению препараты сравнения пироксикам (Jenapharm, ФРГ) и мелоксикам (Boehringer Ingelheim, ФРГ) вводили перорально в виде стабилизированных твином-80 тонких водных суспензий в дозе 20 мг/кг. Животные контрольной группы получали эквивалентное количество воды и твина-80.

Приведенные в таблице экспериментальные данные свидетельствуют о том, что дибромзамещенный эфир IV проявляет всего лишь слабовыраженный обезболивающий эффект и значительно уступает в активности исходному эфиру I, показавшему способность продлевать латентный период на 71,1 % по сравнению с контролем [13]. Поскольку и другие алкил-1-*R*-4-гидрокси-2,2-диоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотиазин-3-карбоксилаты с обычными алкильными заместителями при атоме азота значимой анальгетической активности не обнаружили [13], то очевидно двойную аллильную связь можно считать одним из важных структурных элементов-фармакофоров, обеспечивающих взаимодействие с биологической мишенью.

И хотя осуществленный нами переход 1-*N*-аллил → 1-*N*-дибромпропил как метод улучшения фармакологических свойств метиловых эфиров 4-гидрокси-2,2-диоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотиазин-3-карбоновых

кислот себя не оправдал, тем не менее установленная способность 1-*N*-аллилзамещенных 2,1-бензотиазинов превращаться при бромировании именно в 1-*N*-(2,3-дибромопропильные) производные может оказаться полезной для химической модификации многочисленных *N*-*R*-амидов указанных кислот или же послужить основой новых перспективных в фармакологическом отношении превращений с участием реакционноспособных атомов брома.

ЛИТЕРАТУРА

1. П. Сайкс, *Механизмы реакций в органической химии*, Химия, Москва (1991), сс. 197 – 205.
2. В. Н. Брицун, А. Н. Есипенко, В. И. Станинец, М. О. Лозинский, *Химия гетероцикл. соедин.*, № 7, 1114 – 1115 (2005).
3. T. Hu, M. Shen, Q. Chen, and C. Li, *Org. Let.*, **8**(12), 2647 – 2650 (2006).
4. M. D'hooghe, J. Baele, J. Contreras, et al., *Tetrahedron Let.*, **49**(42), 6039 – 6042 (2008).
5. F. A. Carey and R. J. Sundberg, *Advanced Organic Chemistry. Part B: Reactions and Synthesis*, 5th ed., Springer, New York (2007), pp. 289 – 365.
6. I. V. Ukrainets, L. V. Sidorenko, O. V. Gorokhova, et al., *Chem. Heterocycl. Comp.*, **43**(5), 617 – 628 (2007).
7. I. V. Ukrainets, N. L. Bereznyakova, O. V. Gorokhova, et al., *Chem. Heterocycl. Comp.*, **43**(8), 1001 – 1007 (2007).
8. I. V. Ukrainets, N. L. Bereznyakova, V. A. Parshikov and A. V. Turov, *Chem. Heterocycl. Comp.*, **43**(10), 1269 – 1274 (2007).
9. I. V. Ukrainets, Liu Yangyang, N. L. Bereznyakova and A. V. Turov, *Chem. Heterocycl. Comp.*, **45**(10), 1235 – 1240 (2009).
10. I. V. Ukrainets, E. V. Mospanova, N. A. Jaradat, et al., *Chem. Heterocycl. Comp.*, **48**(9), 1347 – 1356 (2012).
11. I. V. Ukrainets, N. L. Bereznyakova, O. V. Gorokhova and S. V. Shishkina, *Chem. Heterocycl. Comp.*, **45**(10), 1241 – 1247 (2009).
12. I. V. Ukrainets, E. V. Mospanova, A. V. Turov and V. A. Parshikov, *Chem. Heterocycl. Comp.*, **47**(6), 731 – 736 (2011).
13. I. V. Ukrainets, L. A. Petrushova and S. P. Dzyubenko, *Chem. Heterocycl. Comp.*, **49**(9), 1378 – 1383 (2013).
14. N. S. Zefirov, V. A. Palyulin, and E. E. Dashevskaya, *J. Phys. Org. Chem.*, **3**(3), 147 – 154 (1990).
15. Ю. В. Зефирова, *Кристаллография*, **42**(5), 936 – 958 (1997).
16. H.-B. Burgi and J. D. Dunitz, *Structure Correlation*, Vol. 2, VCH, Weinheim (1994), pp. 741 – 784.
17. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.*, **A64**, 112 – 122 (2008).
18. H. G. Vogel (ed.), *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*, 3rd ed., Springer, Berlin (2008), pp. 1011 – 1013.

Поступила 24.01.14

EFFECT OF BROMINATION ON THE PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF METHYL-1-ALLYL-4-HYDROXY-2,2-DIOXO-1*H*-2λ⁶,1-BENZOTHIAZINE-3-CARBOXYLATE

I. V. Ukrainets, L. A. Petrushova, N. L. Bereznyakova

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

With the aid of x-ray diffraction analysis, it has been established that, unlike alkyl-1-allyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylates possessing close structures, the interaction of methyl ester of 1-allyl-4-hydroxy-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxylic acid with molecular bromine in glacial acetic acid does not result in heterocyclization, but leads to a classical addition of bromine to the unsaturated allyl bond. The pharmacological screening showed that, in the case of esters, removal of the double bond from 1-*N*-alkyl fragment is accompanied by a decrease in the analgesic activity.

Keywords: bromination; 4-hydroxy-2,1-benzothiazines; synthesis; analgesic activity.