

А. В. Долженко¹, Н. В. Колотова¹, В. П. Котегов², Б. Я. Сыропятов¹,
М. В. Василюк², Г. В. Рудакова¹, В. В. Новикова¹, В. П. Фешин³

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ЗАМЕЩЕННЫХ МОНОАМИДОВ ТЕТРАХЛОРФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ

¹ Пермская государственная фармацевтическая академия;

² Пермская государственная медицинская академия;

³ Институт технической химии УрО РАН, Пермь

Производные тетрахлорфталамовой кислоты получены ацилированием различных первичных аминов тетрахлорфталаевым ангидридом в мягких условиях. Методом серийных разведений *in vitro* определена антибактериальная активность синтезированных соединений относительно *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Наиболее выраженное противомикробное действие проявил 2-гидроксифениламид тетрахлорфталаевой кислоты. Установлено также, что 4-антипириламид тетрахлорфталаевой кислоты обладает значительной притивовоспалительной активностью.

Моноамиды тетрахлорфталаевой кислоты (тетрахлорфталамовые кислоты) изучены в меньшей степени, чем их аналоги, не содержащие во фталильном фрагменте атомы галогена [1, 2]. Для моноамидов тетрахлорфталаевой кислоты характерно бактерицидное и фунгицидное действие по отношению к микроорганизмам, поражающим растения [3 – 10], в частности, весьма широкое применение в сельском хозяйстве Японии и ряда других стран находит пестицид теклофалам [11, 12].

Нами взаимодействием тетрахлорфталаевого ангидрида с соответствующими первичными аминами при комнатной температуре по описанному ранее методу [13 – 15] получены моноамиды тетрахлорфталаевой кислоты (I – XVII) (см. схему). Строение полученных

соединений подтверждено спектральными данными (табл. 1) и сравнением с известными амидами тетрахлорфталаевой кислоты [13 – 15].

4-Антипириламиды дикарбоновых кислот проявляют выраженную противовоспалительную активность [16], что послужило основанием для изучения этого вида действия у 4-антипириламида тетрахлорфталаевой кислоты (XII). Следует также отметить высокую вероятность проявления этой активности для соединения XII согласно прогнозу биологической активности с помощью программы PASS [17] (см. табл. 2).

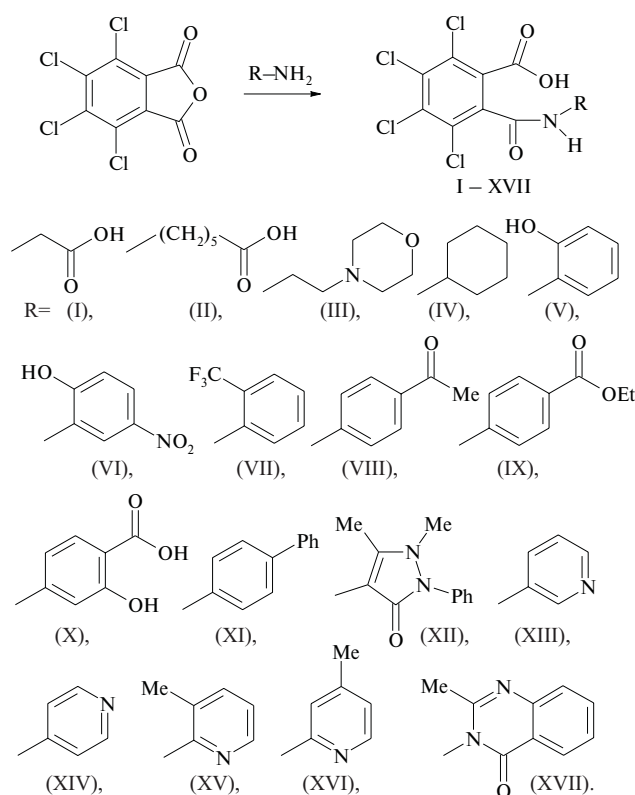
Экспериментальная химическая часть

Спектры ¹H ЯМР синтезированных соединений записаны на приборах РЯ-2310 (рабочая частота 60 МГц) и BS-567A (100 МГц) в растворе ДМСО-d₆, внутренний стандарт — ГМДС или ТМС. Ход реакций и чистоту соединений контролировали ТСХ (восходящее элюирование) на пластинах Silufol UV-254® в системе ацетон – этилацетат – эфир, 1 : 1 : 1, детектирование проводили парами йода [18]. Физико-химические и спектральные характеристики полученных соединений представлены в табл. 1.

Данные элементного анализа полученных веществ соответствуют значениям, вычисленным по брутто-формулам.

Тетрахлорфталаилглицин (I). К раствору 0,75 г (10 ммоль) глицина в 10 мл диоксана добавляют при перемешивании раствор 2,86 г (10 ммоль) тетрахлорфталаевого ангидрида в 40 мл диоксана. Растворитель упаривают, остаток перекристаллизовывают из 70 % этанола.

2-N-Морфолилэтиламин (III) и циклогексил-амид (IV) тетрахлорфталаевой кислоты. К раствору 1,30 г (10 ммоль) 2-N-морфолилэтиламина или 0,99 г (10 ммоль) циклогексиламина в 20 мл этилацетата добавляют при перемешивании раствор 2,86 г (10 ммоль) тетрахлорфталаевого ангидрида в 40 – 50 мл этилацетата. Через 2 ч выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола (амид IV) или смеси этанол – этилацетат, 1 : 1 (соединение III).



Физико-химические характеристики замещенных моноамидов тетрахлорфталевой кислоты (I, III, IV, VII – XII, XVII)

Соединение	Выход, %	Тпл., °С	Брутто-формула	Спектры ¹ H ЯМР (ДМСО-d ₆), δ, м.д.
I	95	305 – 306	C ₁₀ H ₅ Cl ₄ NO ₅	4,32 с (2H, CH ₂), 7,02 уш. сигнал (1H, CONH)
III	88	160 – 161	C ₁₄ H ₁₄ Cl ₄ N ₂ O ₄	2,85 м (4H, CH ₂ -CH ₂), 3,58 м (4H, CH ₂ -N-CH ₂), 4,18 м (4H, CH ₂ -O-CH ₂), 10,05 уш. сигнал (1H, CONH), 12,55 уш. сигнал (1H, COOH)
IV	90	233 – 235	C ₁₄ H ₁₃ Cl ₄ NO ₃	0,85 – 2,22 м (11H, C ₆ H ₁₁), 8,32 уш. сигнал (1H, CONH)
VII	87	264 – 265	C ₁₅ H ₆ Cl ₄ F ₃ NO ₃	7,49 – 7,92 м (4H, C ₆ H ₄), 11,54 уш. сигнал (1H, CONH)
VIII	69	241 – 242	C ₁₆ H ₉ Cl ₄ NO ₄	3,52 с (3H, COMe), 7,85 – 8,18 м (4H, C ₆ H ₄), 11,12 уш. сигнал (1H, CONH)
IX	86	245 – 247	C ₁₇ H ₁₁ Cl ₄ NO ₅	1,28 т (3H, Me), 4,32 кв (2H, CH ₂), 7,62 – 8,15 м (4H, C ₆ H ₄), 11,15 с (1H, CONH), 13,82 уш. сигнал (1H, COOH)
X	94	335 – 337	C ₁₅ H ₇ Cl ₄ NO ₆	6,93 д (1H, C ^{Ar} -H), 7,38 д (1H, C ^{Ar} -H), 7,71 с (1H, C ^{Ar} -H), 9,38 с (1H, ArOH), 10,45 уш. сигнал (1H, CONH)
XI	72	230 – 232	C ₂₀ H ₁₁ Cl ₄ NO ₃	6,52 – 7,85 м (9H, C ₆ H ₄ -Ph), 10,95 уш. сигнал (1H, CONH)
XII	89	294 – 295	C ₁₉ H ₁₃ Cl ₄ N ₃ O ₄	2,25 с (3H, C-Me), 3,28 с (3H, N-Me), 7,25 – 7,71 м (5H, Ph), 8,75 уш. сигнал (1H, CONH)
XVII	65	250 – 252	C ₁₇ H ₉ Cl ₄ N ₃ O ₄	2,62 с (3H, Me), 7,25 – 7,92 м (4H, C ₆ H ₄), 9,88 уш. сигнал (1H, CONH)

Ариламидаы тетрахлорфталевой кислоты (VII – IX, XI). К раствору 10 ммоль соответствующего амина в 30 – 40 мл этилацетата (при получении соединений VII – IX) или 40 мл диоксана (соединение XII) добавляют при перемешивании раствор 2,86 г (10 ммоль) тетрахлорфталевого ангидрида в 40 – 50 мл этилацетата (VIII, IX) или 40 – 50 мл диоксана (VII, XI). Через 2 – 6 ч выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола (амид IX), диоксана (VIII) или смесей этанол – диоксан, 1 : 1 (VII), этанол – ДМСО, 10 : 1 (XI).

3-Гидрокси-4-карбоксофениламид тетрахлорфталевой кислоты (X). К раствору 1,53 г (10 ммоль) *n*-аминосолициловой кислоты в 30 мл этилацетата добавляют при перемешивании раствор 2,86 г (10 ммоль) тетрахлорфталевого ангидрида в 40 мл этилацетата. Растворитель упаривают, остаток перекристаллизовывают из диоксана.

4-Антипириламид (XII) и 2-метил-4-оксо-3-хиназолиламид (XVII) тетрахлорфталевой кислоты. К раствору 2,02 г (10 ммоль) 4-аминоантипирина или 1,75 г (10 ммоль) 3-амино-2-метил-4-хиназолон в 40 мл этилацетата добавляют при перемешивании раствор 2,86 г (10 ммоль) тетрахлорфталевого ангидрида в 40 – 50 мл этилацетата. Через 2 – 4 ч выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола.

Таблица 2

Противовоспалительная активность 4-антипириламида тетрахлорфталевой кислоты (XII)

Соединение	Результаты прогноза противовоспалительного эффекта PASS		Прирост отека стопы по сравнению с исходным объемом, %		Торможение отека стопы по сравнению с контролем, %	
	Pa	Pi	через 3 ч	через 5 ч	через 3 ч	через 5 ч
XII	0,758	0,009	24,9 ± 7,3*	31,3 ± 6,7*	58,4	53,8
Ортофен	27,7 ± 5,0*	23,8 ± 6,0*	53,8	64,9
Контроль	—	—	60,0 ± 5,7	67,8 ± 8,2	—	—

* $p < 0,01$ по сравнению с контролем.

... — прогноз активности не проводился.

Синтез амидов тетрахлорфталевой кислоты (II, V, VI, XIII – XVI), их физико-химические и спектральные данные описаны нами ранее в работах [13 – 15].

Экспериментальная биологическая часть

Противомикробную активность по отношению к эталонным штаммам кишечной палочки *Escherichia coli* ATCC 25922 и золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P определяли стандартным

Таблица 3

Бактериостатическая активность замещенных моноамидов тетрахлорфталевой кислоты (I – XVII)

Соединение	Результаты предсказания противомикробной активности PASS		Минимальная ингибирующая концентрация (МИК), мкг/мл	
	Pa	Pi	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P
I	—	—	1000	1000
II	—	—	1000	1000
III	—	—	1000	1000
IV	—	—	1000	1000
V	0,169	0,126	125	62
VI	0,196	0,096	1000	1000
VII	—	—	1000	1000
VIII	—	—	1000	500
IX	—	—	1000	1000
X	0,159	0,141	1000	1000
XI	—	—	1000	1000
XII	—	—	>1000	1000
XIII	—	—	125	250
XIV	—	—	500	1000
XV	—	—	1000	1000
XVI	—	—	1000	>1000
XVII	—	—	1000	1000
Этакридина лактат	2000	500
Диоксидин*	62,5 – 1000	3,9 – 62,5

- отсутствие активности в спектре прогноза для соединения при Pa > Pi

... прогноз активности не проводился

* Указаны пределы колебаний МИК [20]

методом серийных разведений в мясепептонном бульоне [19]. Действие соединений оценивали по минимальной ингибирующей концентрации (МИК) веществ — максимальному разведению, приводящему к полному подавлению развития бактериальных тест-культур. Бактериостатический эффект соединений сравнивали с активностью этакридина лактата и диоксидина [20].

Противовоспалительное действие 4-антипириламида тетрахлорфталевой кислоты (XII) исследовали на белых нелинейных крысах массой 180–220 г на модели каррагенинового отека [21]. Соединение вводили внутривенно в дозе 50 мг/кг в виде водной суспензии, стабилизированной Твином-80, за 1 ч до введения каррагенина. Крысам контрольной серии вводили эквивалентное количество раствора твина. В качестве препарата сравнения использовали ортофен, который вводили в дозе 25 мг/кг в аналогичных условиях. Объем лап животных измеряли онкометрически до и через 3 и 5 ч после введения флоггена. Эффект оценивали по уменьшению прироста отека лап по сравнению с контрольной группой. Во всех сериях эксперимента использовали по 5 животных.

Для прогнозирования спектра потенциальной биологической активности синтезированных соединений применяли компьютерную программу PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) [17], позволяющую определить вероятность наличия активности (P_a) и вероятность ее отсутствия (P_i) у вещества по структурной формуле. В качестве критерия оценки потенциального противомикробного эффекта соединений была выбрана вероятность проявления/отсутствия антибактериальной (противовоспалительной) активности при $P_a > P_i$ (табл. 3).

Результаты исследования противомикробного действия полученных соединений и данные прогноза для них представлены в табл. 3. Среди изученных веществ наибольшую бактериостатическую активность по отношению к обоим тест-штаммам проявил 2-гидрокси-фениламид тетрахлорфталевой кислоты (V). Это соединение превосходит по противомикробной активности этакридина лактат, приближаясь по своему действию к диоксиду. Остальные соединения проявляют слабую противомикробную активность.

Полученные результаты, в основном, согласуются с данными прогноза противомикробного действия с помощью программы PASS, согласно которым вероят-

ность наличия антибактериальной активности для исследованных соединений не превышала 19,6% (амид VI), а в подавляющем большинстве случаев была меньше вероятности отсутствия эффекта.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Долженко, В. О. Козьминых, Н. В. Колотова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **37** (7), 7–9 (2003).
2. А. В. Долженко, Н. В. Колотова, В. О. Козьминых и др., *Хим.-фарм. журн.*, **37**(1), 21–23 (2003).
3. Пат. Германии 3220883 (1983); *Chem. Abstr.*, 100: 138761 (1984).
4. Пат. Японии 57183751 (1982); *Chem. Abstr.*, 99: 5380 (1983).
5. Пат. Европейский 43487 (1982); *Chem. Abstr.*, 96: 180996 (1982).
6. Пат. Европейский 43488 (1982); *Chem. Abstr.*, 96: 180995 (1982).
7. Пат. Германии 2932689 (1981); *Chem. Abstr.*, 94: 191967 (1981).
8. Пат. Японии 50116640 (1975); *Chem. Abstr.*, 84: 13499 (1976).
9. Пат. Японии 50002736 (1975); *Chem. Abstr.*, 83: 38797 (1975).
10. Пат. Японии 48026213 (1973); *Chem. Abstr.*, 81: 10444 (1974).
11. К. Nakagami and T. Honda, *Nippon Noyaku Gakkaishi*, **6**(3), 377–385 (1981).
12. Y. Takahashi, *Jpn. Pest. Inf.*, **46**, 25–30 (1985).
13. Н. В. Колотова, В. О. Козьминых, А. В. Долженко и др., *Хим.-фарм. журн.*, **35**(3), 26–30 (2001).
14. А. В. Долженко, Н. В. Колотова, В. О. Козьминых и др., *Хим.-фарм. журн.*, **37**(4), 24–26 (2003).
15. А. В. Долженко, Б. Я. Сыропятов, В. О. Козьминых и др., *Хим.-фарм. журн.*, **37**(8), 12–13 (2003).
16. А. В. Долженко, Н. В. Колотова, В. О. Козьминых и др., *Хим.-фарм. журн.*, **37**(3), 42–44 (2003).
17. V. Poroikov and D. Filimonov, in: *Rational Approaches to Drug Design*, H.-D. Holtje and W. Sippl (eds.), Prous Science, Barcelona (2001), pp. 403–407.
18. Ю. Кирхнер, *Тонкослойная хроматография*, Т. 1, Мир, Москва (1981), сс. 129, 218.
19. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Фисенко В. П. (ред.), ИИА “Ремедиум”, Москва (2000), сс. 264–273.
20. Е. Н. Падейская, *Инф. антимикроб. терап.*, **3**(5), 150–155 (2001).
21. Ф. П. Тринус, Б. М. Клебанов, В. И. Кондратюк, *Методические рекомендации по экспериментальному изучению нестероидных противовоспалительных фармакологических веществ*, МЗ СССР, Москва (1983).

Поступила 29.04.04

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SUBSTITUTED MONOAMIDES OF TETRACHLOROPHTHALIC ACID

A. V. Dolzhenko¹, N. V. Kolotova¹, V. P. Kotegov², B. Ya. Syropyatov¹, M. V. Vasilyuk², G. V. Rudakova², V. V. Novikova¹, and V. P. Feshin³

¹ Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

² Perm State Medical Academy, Perm, Russia

³ Institute of Technical Chemistry, Ural Division, Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

A series of tetrachlorophthalic acid derivatives were prepared by acylating primary amines with tetrachlorophthalic anhydride under mild conditions. Antibacterial activity of the synthesized compounds with respect to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was studied *in vitro* by the serial dilution technique. The most pronounced antimicrobial effect in the series of compounds tested was observed for 2-hydroxyphenylamide of tetrachlorophthalic acid; 4-antipyrilamide of tetrachlorophthalic acid also showed a significant antiinflammatory activity.