

В. Л. Гейн¹, О. В. Бобровская¹, Т. Ф. Одегова¹, И. В. Крылова², О. Н. Гейн¹,
Е. Э. Сопова³, С. В. Гейн³

СИНТЕЗ, АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ И ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭТИЛ-1-(4-АМИНОСУЛЬФОНИЛФЕНИЛ)-5-АРИЛ-3-ГИДРОКСИ-2-ОКСО-3-ПИРРОЛИН-4-КАРБОКСИЛАТОВ

¹ ГБОУ ВПО "Пермская государственная фармацевтическая академия" Минздрава РФ, Россия, 614990, Пермь, ул. Полевая, 2; e-mail: geinvl48@mail.ru.

² ГБОУ ВПО "Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е. А. Вагнера", Пермь, Россия.

³ ГБОУ ВПО "Пермский государственный национальный исследовательский университет", Пермь, Россия

Трехкомпонентной реакцией натриевой соли диэтилоксалилацетата со смесью ароматического альдегида и 4-аминобензолсульфамида были синтезированы этил-1-(4-аминоссульфонилфенил)-5-арил-3-гидрокси-2-оксо-3-пирролин-4-карбоксилаты. Строение соединений установлено методами ИК, ЯМР ¹H спектроскопии, масс-спектрометрии, изучена антибактериальная и иммунобиологическая активность полученных соединений.

Ключевые слова: синтез; этил-1-(4-аминоссульфонилфенил)-5-арил-3-гидрокси-2-оксо-3-пирролин-4-карбоксилаты; антибактериальная и иммунобиологическая активность.

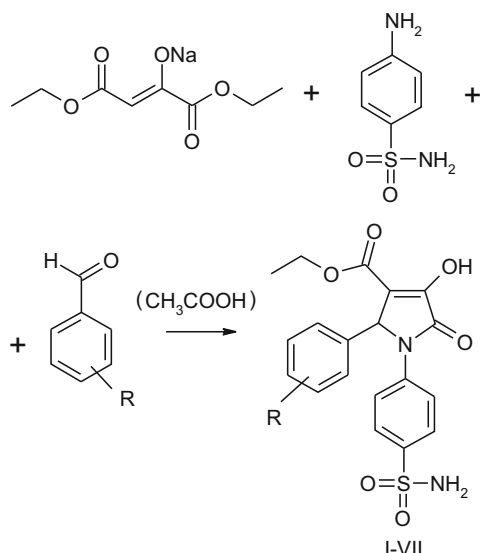
Известно, что 3-пирролин-2-оны входят в структуру различных лекарственных средств, проявляют противовирусную, антимикробную, противогрибковую и противораковую активность [1–4]. Ранее показано, что 1-(4-аминоссульфонилфенил)-5-арил-4-ацил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны обладают слабой антибактериальной активностью [5]. Для расширения ряда и изучения связи биологического действия со строением представляло интерес получить 1-(4-аминоссульфонилфенил)-5-арил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны, содержащие в положении 4 этоксикарбонильную группу, исследовать их антибактериальную и иммунобиологическую активность. Для осуществления этой цели был использован трехкомпонентный синтез с участием натриевой соли диэтилоксалилацетата, ароматического альдегида и 4-аминобензолсульфамида. Реакцию про-

водили при кипячении эквимолярных количеств исходных реагентов в среде ледяной уксусной кислоты. Установлено, что продуктами взаимодействия являются этил-1-(4-аминоссульфонилфенил)-5-арил-3-гидрокси-2-оксо-3-пирролин-4-карбоксилаты (I–VII).

Синтезированные соединения I–VII представляют собой белые или с желтоватым оттенком кристаллические вещества, растворимые в ДМФА, ДМСО, при нагревании — в ледяной уксусной кислоте, диоксане, этиловом спирте и не растворимые в воде. Физико-химические характеристики соединений I–VII приведены в табл. 1. Строение полученных соединений подтверждено данными ЯМР ¹H, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии.

В ИК-спектрах соединений I–VII наблюдаются полосы поглощения валентных колебаний NH₂-группы в области 3500–3280 см⁻¹, енольной гидроксильной группы при 3280–3200 см⁻¹, сложно-эфирной карбонильной группы при 1724–1712 см⁻¹, лактамной карбонильной группы при 1690–1672 см⁻¹, SO₂-группы в 2 интервалах 1380–1352 и 1164–1160 см⁻¹.

В спектрах ЯМР ¹H соединений I–VII присутствуют сигналы ароматических протонов и протонов сульфамидной группы в виде мультиплета в области 6,66–8,26 м.д., синглет метинового протона в положе-



R = 4-Br (I), 4-CH₃O (II), 4-Cl (III), 3,4-(CH₃O)₂ (IV), 3-NO₂ (V), 4-NO₂ (VI), 4-F (VII).

Таблица 1
Физико-химические характеристики соединений I–VII

Соединение	Выход, %	Т. пл., °С	Брутто-формула
I	77	155–157	C ₁₉ H ₁₇ BrN ₂ O ₆ S
II	80	188–190	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₇ S
III	79	165–167	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₂ O ₆ S
IV	68	138–140	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₈ S
V	61	219–221	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₈ S
VI	71	209–211	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₈ S
VII	82	198–200	C ₁₉ H ₁₇ FN ₂ O ₆ S

Спектральные характеристики соединений I – VII

Соединение	Спектр ИК, ν , см^{-1}					Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.					
	NH_2	ОН	C=O (сл.-эф.)	C=O (лакт.)	SO_2	Аг и SO_2NH_2 (м)	$\text{C}_{(5)}\text{H}$ (с)	ОН (уш.с)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ (г)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ (к)	Другие протоны
I	3500 3340	3248	1720	1680	1376 1160	7,19 – 7,77	6,09	11,60	1,09	3,96	-
II	3360	3272	1724	1685	1376 1164	6,66 – 7,77	6,02	11,20	1,09	3,96	3,61 (с) CH_3O
III	3480 3330	3240	1720	1680	1376 1160	6,99 – 7,77	6,10	11,40	1,09	3,96	-
IV	3336	3280	1712	1672	1376 1160	6,83 – 7,87	6,10	11,20	1,16	4,09	3,69 (с) CH_3O ; 3,72 (с) CH_3O
V	3360 3320	3220	1712	1690	1352 1164	7,20 – 8,26	6,33	11,80	1,08	3,96	-
VI	3336	3248	1712	1685	1380 1164	7,26 – 8,11	6,35	12,10	1,11	4,03	-
VII	3420 3280	3200	1712	1680	1376 1164	6,89 – 7,78	6,10	11,70	1,09	3,97	-

нии 5 гетероцикла при 6,02 – 6,35 м.д., уширенный синглет протона гидроксильной группы в положении 3 гетероцикла при 11,20 – 12,10 м.д., кроме того наблюдается триплет протонов $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ группы при 1,08 – 1,16 м.д., квадруплет протонов $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ группы при 3,96 – 4,09 м.д. Спектральные характеристики соединений приведены в табл. 2.

В масс-спектре соединения VI присутствует пик молекулярного иона $[\text{M}]^+$ с m/z 447 и пики фрагментных ионов, подтверждающие указанную структуру.

Данные спектров и положительная реакция со спиртовым раствором железа(III) хлорида свидетельствуют о том, что синтезированные соединения I – VII существуют в енольной форме.

Экспериментальная химическая часть

ИК-спектры записаны на приборе Specord M-80 в виде пасты в вазелиновом масле. Спектры ЯМР ^1H регистрировали на приборе Bruker AM-300 с рабочей частотой 300 МГц, растворитель — DMCO-d_6 , внутренний стандарт — ТМС. Масс-спектры получены на приборе Finnigan MAT INCOS-50 с энергией ионизации 70 эВ. Данные элементного анализа, полученные на приборе Perkin Elmer 2400, соответствуют вычисленным значениям. Температура плавления синтезированных соединений определена на приборе Melting Point M-565.

Таблица 3
Антибактериальная активность соединений I – VII

Соединение	МПК, мкг/мл	
	<i>St. aureus</i>	<i>E. coli</i>
I	500	500
II	250	125
III	н/а	н/а
IV	250	250
V	500	250
VI	250	125
VII	250	500
Стрептоцид	500	1000
Хлорамин Б	500	250
Фурацилин	250	125

Этил-1-(4-аминосульфониленил)-3-гидрокси-5-(3,4-диметоксифенил)-2-оксо-3-пирролин-4-карбоксилат (IV). К раствору 1,72 г (0,01 моль) 4-аминобензолсульфамида и 1,66 г (0,01 моль) 3,4-диметоксибензальдегида в 15 мл ледяной уксусной кислоты добавляют раствор 2,10 г (0,01 моль) натриевой соли диэтилоксалилацетата в 10 мл ледяной уксусной кислоты. Реакционную смесь кипятят в течение 5 мин. Выпавший при охлаждении осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из ледяной уксусной кислоты. Выход 3,14 г (68 %).

Соединения I – III, V – VII получают аналогично.

Экспериментальная биологическая часть

Изучена антибактериальная и иммунобиологическая активность этил-1-(4-аминосульфониленил)-5-арил-3-гидрокси-2-оксо-3-пирролин-4-карбоксилатов (I – VII).

Антибактериальную активность синтезированных соединений по отношению к эталонным штаммам ки-

Таблица 4
Изменение количества антителообразующих клеток (АОК) и клеточности селезенки

Соединение	Число ЯСК на орган ($\cdot 10^6$)	\log_{10} АОК на млн	\log_{10} АОК на орган
Контроль	$314,4 \pm 46,2$	$1,68 \pm 0,14$	$4,13 \pm 0,15$
I (100 мг/кг)	$242,1 \pm 40,7$	$1,83 \pm 0,16$	$4,15 \pm 0,12$
(10 мг/кг)	$301,8 \pm 41,9$	$2,06 \pm 0,11^*$	$4,51 \pm 0,09^*$
II (100 мг/кг)	$225,3 \pm 47,22$	$2,02 \pm 0,18$	$4,31 \pm 0,18$
(10 мг/кг)	$288,0 \pm 72,36$	$1,70 \pm 0,28$	$4,09 \pm 0,29$
III (100 мг/кг)	$296 \pm 95,47$	$1,51 \pm 0,31$	$3,89 \pm 0,44$
(10 мг/кг)	$211,68 \pm 66,49$	$1,95 \pm 0,34$	$4,20 \pm 0,39$
IV (100 мг/кг)	$262,93 \pm 35,52$	$1,86 \pm 0,32$	$4,27 \pm 0,35$
(10 мг/кг)	$248,16 \pm 48,47$	$2,23 \pm 0,26$	$4,59 \pm 0,25$
V (100 мг/кг)	$207,73 \pm 26,62$	$1,68 \pm 0,11$	$3,97 \pm 0,17$
(10 мг/кг)	$217,49 \pm 58,85$	$1,63 \pm 0,16$	$3,90 \pm 0,24$
VI (100 мг/кг)	$130,0 \pm 34,79^*$	$1,74 \pm 0,09$	$3,82 \pm 0,22$
(10 мг/кг)	$299,2 \pm 77,02$	$1,93 \pm 0,34$	$4,36 \pm 0,39$
VII (100 мг/кг)	$208,73 \pm 23,89$	$1,85 \pm 0,13$	$4,13 \pm 0,15$
(10 мг/кг)	$253,20 \pm 36,16$	$1,87 \pm 0,12$	$4,19 \pm 0,13$

* $p < 0,05$ по LSD — критерию Фишера в сравнении с контролем.

печной палочки *Escherichia coli* ATCC 25922 и золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-R определяли методом двукратных серийных разведений в мясопептонном бульоне при бактериальной нагрузке 250 тыс микробных единиц в 1 мл раствора [6]. За действующую дозу принимали минимальную подавляющую концентрацию (МПК) соединений — максимальное разведение, приводящее к полному подавлению развития бактериальных культур [7]. Бактериостатический эффект исследуемых соединений сравнивали с действием фурацилина и хлорамин Б, а также с действием стрептоцида. Результаты испытаний представлены в табл. 3.

Установлено, что изученные соединения обладают средней антибактериальной активностью в отношении обоих штаммов при МПК от 125 до 500 мкг/мл, одно соединение (III) неактивно по отношению к обоим штаммам тест-культур. Как видно из табл. 3, синтезированные соединения по антибактериальной активности не уступают препаратам сравнения фурацилину и хлорамину Б (соединения II, VI и соответственно V), а также незначительно превосходят стрептоцид. Несколько более высокая антибактериальная активность соединений II и VI в отношении *E. coli* объясняется, по-видимому, отрицательным индуктивным эффектом метокси- и нитрогруппы, что повышает кислотность енольного гидроксила.

Оценка иммунобиологической активности выполнена на 130 беспородных белых мышках-самцах средней массой 20 г. Животные содержались в условиях лабораторного вивария на стандартной диете (корма давались *ad libitum*). Все исследования проводили в соответствии с международным соглашением об экспериментах на животных [8]. Соединения вводили внутривентриально в дозах 10 и 100 мг/кг в виде взвеси в 2 % крахмальной слизи. В качестве контроля вводили 2 % крахмальную слизь. Через 1 ч животных всех групп иммунизировали эритроцитами барана в концентрации 10^8 внутривентриально. На 5 сут эксперимента оценивали количество ядросодержащих клеток

селезенки и определяли количество антителообразующих клеток методом локального гемолиза в геле агарозы [9]. Статистическую обработку проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа и LSD-критерия Фишера.

Установлено, что исследуемые соединения проявили низкую иммунобиологическую активность. Статистически достоверный эффект обнаружен у соединения I, которое при внутривентриальном введении в дозе 10 мг/кг приводило к увеличению абсолютного и относительного количества антителообразующих клеток в селезенке мышей (табл. 4), остальные соединения не вызывали статистически значимого изменения количества антителообразующих клеток в селезенке. Также установлено отсутствие влияния исследованных соединений на изменение количества ядросодержащих клеток селезенки мышей, за исключением соединения VI, которое в дозе 100 мг/кг приводило к снижению общего количества ядросодержащих клеток в селезенке (табл. 4).

ЛИТЕРАТУРА

1. M. L. Barreca, A. Rao, L. De Luca, et al., *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **44**, 1450 (2004).
2. N. Kolocouris, A. Kolocouris, G. B. Foscolos, et al., *J. Med. Chem.*, **39**, 3307 (1996).
3. T. Wunberg, J. Baumeister, U. Betz, et al., *Chem. Abstr.*, **139**, 395807 (2003).
4. S. Manta, D.-N. Gkaragkouni, E. Kaffesaki, et al., *Tetrahedron Let.*, **55**, 1873 – 1876 (2014).
5. В. Л. Гейн, Т. Ф. Одегова, К. А. Ткаченко и др., *Хим.-фарм. журн.*, **47**(7), 31 – 33 (2013).
6. Г. Н. Першин, *Методы экспериментальной химиотерапии*, Медицинская литература, Москва (1971), сс. 100, 109 – 117.
7. Л. С. Страчунский, Ю. Б. Белоусов, С. Н. Козлов (ред.), *Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии*, ЗАО “Боргес”, Москва (2002), сс. 17, 73 – 78.
8. EEC Council Directive 86 / 609, OJL 358, 1, December 12 (1987).
9. N. K. Jerne, A. A. Nordin, *Science*, **140**, No. 3365, 405 (1963).

Поступила 06.07.14

SYNTHESIS, ANTIBACTERIAL AND IMMUNOBIOLOGICAL ACTIVITY OF ETHYL-1-(4-AMINOSULFONYLPHENYL)-5-ARYL-3-HYDROXY-2-OXO-3-PYRROLINE-4-CARBOXYLATES

V. L. Gein¹, O. V. Bobrovskaya¹, T. F. Odegova¹, I. V. Krylova², O. N. Gein¹, E. E. Sopova³, and S. V. Gein³

¹ Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, 614990 Russia.

² Perm State Medical University, Perm, 614000 Russia.

³ Perm State University, Perm, 614990 Russia.

A series of ethyl-1-(4-aminosulfonylphenyl)-5-aryl-3-hydroxy-2-oxo-3-pyrroline-4-carboxylates were synthesized by three-component reaction of sodium salt of diethyl oxalylacetate with a mixture of aromatic aldehyde and 4-aminobenzolsulfamide. The proposed structures are confirmed by IR, ¹H NMR spectroscopy, and mass spectrometry. The antibacterial and immunobiological activity of the synthesized compounds was studied.

Keywords: synthesis; ethyl-1-(4-aminosulfonylphenyl)-5-aryl-3-hydroxy-2-oxo-3-pyrroline-4-carboxylates; antibacterial activity; immunobiological activity.