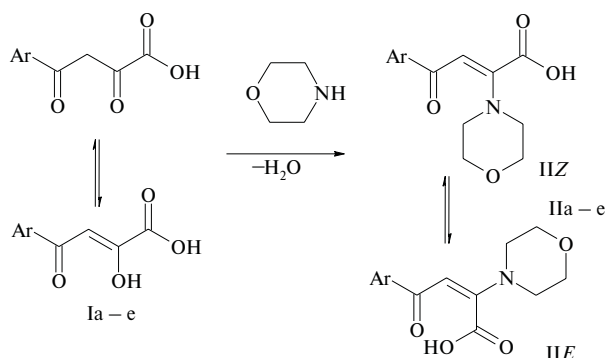


В. О. Козьминых, А. О. Беляев, Е. Н. Козьминых,
Р. Р. Махмудов, Т. Ф. Одегова

СИНТЕЗ, ПРОТИВОМИКРОБНАЯ И АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 4-АРИЛ-2-N-МОРФОЛИНО-4-ОКСО-2-БУТЕНОВЫХ КИСЛОТ

Пермская государственная фармацевтическая академия

Известно, что ароилпировиноградные кислоты (I) в мягких условиях присоединяют амины по карбонильной группе в положении C², образуя замещенные 2-амино-4-арил-4-оксо-2-бутеновые кислоты [1–7]. Ранее было установлено, что 2-циклогексиламино-, некоторые 2-ариламино-, и 2-гетериламино- 4-арил-4-оксо-2-бутеновые кислоты проявляют умеренную противомикробную [6] и анальгетическую активность [6, 7]. С целью дальнейшего поиска биологически активных веществ среди 2-аминозамещенных 4-оксо-2-бутеновых кислот нами получены 4-арил-2-N-морфолино-4-оксо-2-бутеновые кислоты (IIa–e) реакцией ароилпировиноградных кислот (Ia–e) с морфолином [8]. Соединения IIa–e представляют собой бесцветные кристаллические вещества, растворимые в ДМСО, труднорастворимые в спирте, бензоле и не растворимые в воде.



I, II: Ar = C₆H₅(a), 4-CH₃C₆H₄(б), 3,4-(CH₃O)₂C₆H₃(в), 4-BrC₆H₄(г), 4-ClC₆H₄(д), 4-FC₆H₄(е)

Физико-химические характеристики кислот II приведены в табл. 1. Строение соединений II подтверждено ИК и ЯМР ¹H спектрами (табл. 2).

В ИК-спектрах соединений II присутствует полоса валентных колебаний карбоксильной группы в области 1699–1712 см⁻¹ и полосы поглощения в области 1533–1661 см⁻¹, характерные для сопряженной карбонильной группы C⁴=O и двойной связи C²=C³.

Таблица 1
Физико-химические характеристики 4-арил-2-N-морфолино-4-оксо-2-бутеновых кислот (IIa–e)

Соединение	Ar	Выход, %	Т.пл., °С (разл.)	Молек. масса	Брутто-формула
IIa	C ₆ H ₅	76	106–107	261,27	C ₁₄ H ₁₅ NO ₄
IIб	4-CH ₃ C ₆ H ₄	73	121–123	275,30	C ₁₅ H ₁₇ NO ₄
IIв	3,4-(CH ₃ O) ₂ C ₆ H ₃	81	155–156	321,32	C ₁₆ H ₁₉ NO ₆
IIг	4-BrC ₆ H ₄	72	122–123	340,17	C ₁₄ H ₁₄ BrNO ₄
IIд	4-ClC ₆ H ₄	83	115–116	295,72	C ₁₄ H ₁₄ ClNO ₃
IIе	4-FC ₆ H ₄	80	125–126	279,26	C ₁₄ H ₁₄ FNO ₃

В спектрах ЯМР ¹H кислот II наряду с маркерным сигналом метинового протона C³H Z-изомера (IIZ) при 5,71–5,87 м.д. присутствует также синглет метинового протона C³H, соответствующий E-изомеру (IIE), при 6,07–6,73 м.д. (табл. 2). Такие данные хорошо согласуются с известными сведениями об образовании геометрических изомеров в реакциях ароилпировиноградных кислот с ариламинами [1, 3, 7]. Соотношение Z/E-изомеров в растворах соединений IIa–e и константы равновесия приведены в табл. 3.

Экспериментальная химическая часть

ИК-спектры соединений II записаны на спектрометрах UR-20 и Specord M80 в пасте вазелинового масла. Спектры ЯМР ¹H получены на приборе WP-80SY (80 МГц) в растворах ДМСО-d₆, внутренний стандарт — ТМС. Индивидуальность соединений подтверждена с помощью метода ТСХ на пластинках Silufol UV-254[®] в системе бензол–эфир–ацетон, 10:9:1, проявляли йодом. Исходные реагенты — ароилпировиноградные кислоты Ia–e получены конденсацией Клайзена соответствующих арилметилкетонов с диэтилоксалатом в присутствии избытка метилата натрия [9, 10].

4-Арил-2-N-морфолино-4-оксо-2-бутеновые кислоты (IIa–e). К раствору 0,01 моль кислоты I в 10 мл хлороформа прибавляют 0,01 моль морфолина, смесь

Таблица 2
Спектральные характеристики 4-арил-2-N-морфолино-4-оксо-2-бутеновых кислот (IIa–e)

Соединение	Спектры ЯМР ¹ H, δ, м.д., (ДМСО-d ₆)	ИК-спектр, ν, см ⁻¹
IIa	2,72–4,11 (гр. с, 8H, C ₄ H ₈ NO); 5,75 (с, 1H, CH, IIZ); 6,73 (с, 1H, CH, IIE); 7,23–8,19 (м, 5H, C ₆ H ₅); 8,24 (с, 1H, NH).	1712 (COOH), 1548–1639 (C ⁴ =O, C ² =C ³), 1460, 1362
IIб	2,29 (с, 3H, CH ₃); 2,76–4,08 (гр. с, 8H, C ₄ H ₈ NO); 5,87 (с, 1H, CH, IIZ); 6,33 (с, 1H, CH, IIE); 7,23–8,19 (м, 4H, C ₆ H ₄).	1708 (COOH), 1538–1634 (C ⁴ =O, C ² =C ³), 1460, 1368
IIв	2,74–4,12 (гр. с, 8H, C ₄ H ₈ NO); 3,75 (с, 3H, CH ₃ O); 3,77 (с, 3H, CH ₃ O); 5,82 (с, 1H, CH, IIZ); 6,46 (с, 1H, CH, IIE); 6,82–7,64 (м, 3H, C ₆ H ₃); 8,21 (с, 1H, NH).	1703 (COOH), 1550–1649 (C ⁴ =O, C ² =C ³), 1460, 1361
IIг	2,81–4,14 (гр. с, 8H, C ₄ H ₈ NO); 5,83 (с, 1H, CH, IIZ); 6,19 (с, 1H, CH, IIE); 7,48–8,12 (м, 4H, C ₆ H ₄); 8,87 (с, 1H, NH).	1702 (COOH), 1549–1649 (C ⁴ =O, C ² =C ³), 1462, 1360
IIд	2,67–4,12 (гр. с, 8H, C ₄ H ₈ NO); 5,71 (с, 1H, CH, IIZ); 6,07 (с, 1H, CH, IIE); 7,11–8,21 (м, 4H, C ₆ H ₄).	1703 (COOH), 1540–1641 (C ⁴ =O, C ² =C ³), 1460, 1362
IIе	2,79–4,13 (гр. с, 8H, C ₄ H ₈ NO); 5,86 (с, 1H, CH, IIZ); 6,23 (с, 1H, CH, IIE); 7,77–8,19 (м, 4H, C ₆ H ₄).	1699 (COOH), 1533–1651 (C ⁴ =O, C ² =C ³), 1463, 1370

Таблица 3
Соотношение *E*-/*Z*-изомеров в растворах 4-арил-2-*N*-морфолино-4-оксо-2-бутеновых кислот (IIa – e)

Соединение	Содержание изомеров, %		Константа равновесия (<i>E</i> -/ <i>Z</i> -)
	(<i>E</i> -)	(<i>Z</i> -)	
IIa	65	35	1,86
IIб	43	57	0,75
IIв	43	57	0,75
IIг	67	33	2,03
IIд	95	5	19,00
IIе	55	45	1,22

Таблица 4
Противомикробная активность 4-арил-2-*N*-морфолино-4-оксо-2-бутеновых кислот (IIa – e)

Соединение	МИК, мкг/мл	
	<i>Escherichia coli</i> M ₁₇	<i>Staphylococcus aureus</i> P-209
IIa	1000	1000
IIб	1000	1000
IIв	500	1000
IIг	не активно	не активно
IIд	250	250
IIе	не активно	не активно
Оксалиниевая кислота*	0,5 – 16	12,5 – 256
Налидиксовая кислота*	0,5 – 8	12,5 – 256
Флумеквин*	0,5 – 16	12,5 – 256

* Указаны пределы колебаний МИК

оставляют на 2 – 3 ч, выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола.

Экспериментальная фармакологическая часть

Противомикробную активность соединений II по отношению к эталонным штаммам кишечной палочки *Escherichia coli* M₁₇ и золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* P-209 определяли стандартным методом двукратных серийных разведений в мясопептонном бульоне при бактериальной нагрузке от 250000 до 5000000 микробных единиц в 1 мл раствора [11]. За действующую дозу принимали минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) соединений — максимальное разведение, приводящее к полному подавлению развития бактериальных тест-культур. Бактериостатический эффект исследуемых соединений сравнивали с действием оксолиниевой и налидиксовой кислот, а также флумеквина [12, 13].

Анальгетическую активность кислот II изучали на беспородных белых мышах массой 18 – 22 г методом термического раздражения “горячая пластинка” [14]. Соединения вводили внутрибрюшинно в виде взвеси в 2 % крахмальной слизи в дозе 50 мг/кг за 30 мин до помещения животных на нагретую до 53,5 °С металлическую пластинку. Показателем болевой чувствительности служила длительность пребывания животного на горячей пластинке до момента облизывания задних лапок в с. В качестве препарата сравнения использовали ортофен в дозе 10 мг/кг.

ЛД₅₀ изученных соединений превышает 1000 мг/кг, что свидетельствует об их малой острой токсичности.

Таблица 5
Анальгетическая активность 4-арил-2-*N*-морфолино-4-оксо-2-бутеновых кислот (IIa – e)

Соединение	Время пребывания на горячей пластинке, с
IIa	20,60 ± 2,00 (<i>p</i> < 0,05)
IIб	20,90 ± 0,58 (<i>p</i> < 0,01)
IIв	19,08 ± 3,84 (<i>p</i> < 0,05)
IIг	26,82 ± 6,54 (<i>p</i> < 0,01)
IIд	19,08 ± 3,86 (<i>p</i> < 0,05)
IIе	15,23 ± 1,57 (<i>p</i> < 0,1)
Контроль (2 % крахмальная слизь)	10,10 ± 0,29
Ортофен	26,20 ± 0,00 (<i>p</i> < 0,01)

Острую токсичность (ЛД₅₀) соединений [10] при внутрибрюшинном введении крахмальной слизи в виде взвеси в 2 % определяли на белых мышах массой 18 – 22 г крахмальной слизи [11].

Установлено, что большинство испытанных кислот II обладает слабым противомикробным эффектом (табл. 4).

Для всех исследованных соединений II характерна анальгетическая активность, зависящая от заместителей в бензольном кольце. Наиболее активной является кислота IIг (имеющая атом брома в бензольном кольце), эффект которой сопоставим с таковым ортофена (табл. 5).

Таким образом, проведенные испытания свидетельствуют о перспективности дальнейшего поиска соединений, обладающих анальгетическим действием, среди 2-*N*-морфолино-4-оксо-2-бутеновых кислот.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Н. Шапетько, С. А. Хатипов, Ю. С. Андрейчиков и др., *Ж. общей химии*, **55**(3), 661 – 667 (1985).
2. А. П. Козлов, В. В. Рябова, Ю. С. Андрейчиков, *Ж. орган. химии*, **23**(8), 1665 – 1670 (1987).
3. А. П. Козлов, *Автореф. дис. доктора хим. наук*, Саратов (1996).
4. А. П. Козлов, В. В. Рябова, Г. А. Козлова и др., *Ж. орган. химии*, **33**(3), 406 – 412 (1997).
5. А. П. Козлов, В. В. Рябова, Г. А. Козлова и др., *Ж. орган. химии*, **33**(3), 413 – 417 (1997).
6. А. Е. Рубцов, Р. Р. Махмудов, Н. В. Ковыляева, В. В. Залесов, *Труды Международной науч. конф. “Перспективы развития естественных наук в высшей школе”*, т. 1, Пермский гос. ун-т, Пермь (2001), с. 171.
7. Е. Н. Козьминых, А. О. Беляев, В. О. Козьминых и др., *Хим.-фарм. журн.*, **36**(11), 8 – 11 (2002).
8. А. О. Беляев, *Сборник тез. докл межрегион. конф. “Аспирантские чтения-2002”*, Самарский гос. мед. ун-т, Самара (2002), сс. 26 – 27.
9. Ю. С. Андрейчиков, *Методы синтеза биологически активных гетероциклических соединений*, Пермский гос. ун-т, Пермь (1989) сс. 1 – 23.
10. О. А. Софьина, Н. М. Игидов, Е. Н. Козьминых и др., *Ж. орган. химии*, **37**(7), 1067 – 1075 (2001).
11. Г. Н. Першин, *Методы экспериментальной химиотерапии*, Изд-во Медицинской литературы, Москва (1971), сс. 100, 109 – 117.
12. Р. Г. Глушков, И. Б. Левшин, Н. Б. Марченко и др., *Хим.-фарм. журн.*, **18**(9), 1048 – 1064 (1984).
13. Г. А. Мокрушина, В. Н. Чарушин, О. Н. Чупахин, *Хим.-фарм. журн.*, **29**(9), 5 – 19 (1995).
14. Н. Б. Эдди, Д. Леймбах, *Фармакол. и токсикол.*, № 4, 311 – 315 (1960).

Поступила 07.04.03.