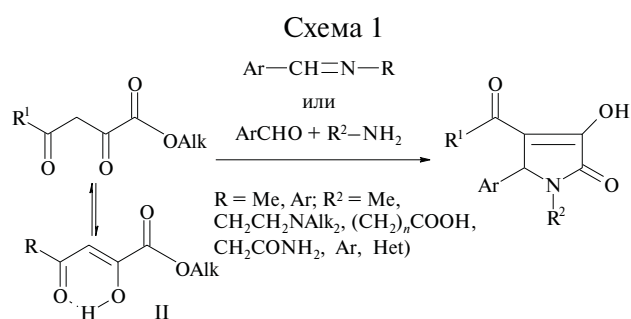


В. О. Козьминых, Н. М. Игидов, С. С. Зыкова, В. Э. Колла, Н. С. Шуклина,  
Т. Ф. Одегова

## СИНТЕЗ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 3-ГИДРОКСИ-1,5-ДИАРИЛ-4-ПИВАЛОИЛ-2,5-ДИГИДРО-2-ПИРРОЛОНОВ

Пермская государственная фармацевтическая академия

1,5-Дизамещенные 4-ацетил- и 4-ароил-3-гидрокси-2,5-дигидро-2-пирролоны (I), полученные реакцией эфиров ацилпировиноградных кислот (II) с бензилиденаминами или со смесью ароматических альдегидов и аминов (схема 1) [1 – 7], обладают противомикробной [4 – 7], противовирусной [3], анальгетической [4] и ноотропной активностью [4, 6] при низкой токсичности [4].

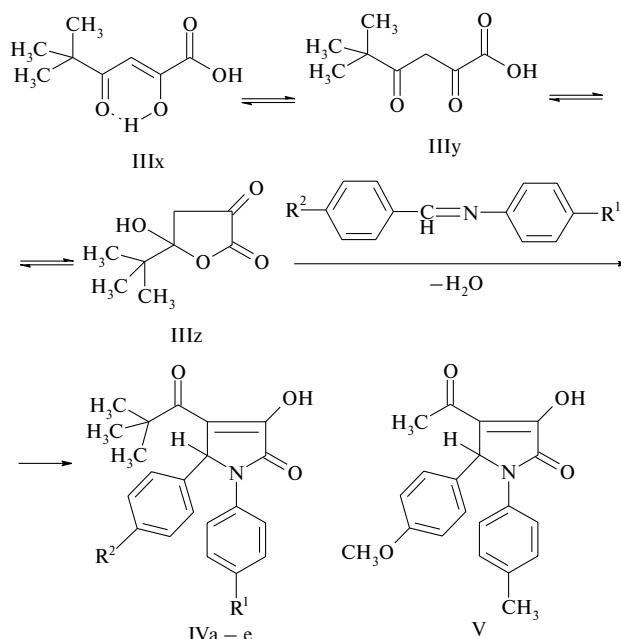


В реакции бензоилпировиноградной кислоты со смесью ароматических альдегидов и аминов протекает несколько конкурирующих реакций, в результате были выделены не только замещенные 4-бензоил-3-гидрокси-2,5-дигидро-2-пирролоны (I: R<sup>1</sup> = Ph), но и амиды бензоилпировиноградной кислоты и соответствующие 2-ариламино-4-оксо-4-фенил-2-бутеновые кислоты [8].

Нами установлено, что пивалоилпировиноградная кислота (III), представленная в растворе двумя цепными оксотаутомерами (IIIx), (IIIy) и минорной кольчатой формой (IIIz) [9], легко реагирует с арилиденаминами при кратковременном кипячении смеси реагентов в этаноле, образуя с удовлетворительным выходом 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидро-2-пирролоны (IVa – e) (схема 2). До наших исследований [10, 11] сведения о взаимодействии пивалоилпировиноградной кислоты (III) с арилиденаминами отсутствовали, а 4-пивалоилпроизводные 3-гидрокси-2,5-дигидро-2-пирролонов не были известны.

Строение соединений IV подтверждено спектральными данными (табл. 1) и сравнением с модельным 4-ацетил-3-гидрокси-5-*n*-метоксифенил-1-*n*-толил-2,5-дигидро-2-пирролоном (V), полученным известным методом [1, 3] реакцией метилового эфира ацилпировиноградной кислоты с *n*-метоксибензилиден-*n*-толиламином. Физико-химические характеристики пирролонов IV и V приведены в табл. 1.

Схема 2



| Соединение | R <sup>1</sup>    | R <sup>2</sup>    |
|------------|-------------------|-------------------|
| IVa        | H                 | H                 |
| IVб        | H                 | CH <sub>3</sub> O |
| IVв        | CH <sub>3</sub>   | CH <sub>3</sub> O |
| IVг        | CH <sub>3</sub>   | NO <sub>2</sub>   |
| IVд        | CH <sub>3</sub> O | Br                |
| IVе        | NO <sub>2</sub>   | NO <sub>2</sub>   |

В спектрах ЯМР <sup>1</sup>H соединений IV и V, снятых в ДМСО-d<sub>6</sub> (табл. 1), сигнал маркерного метинового протона δ C<sup>5</sup>N находится в области 5,83 – 6,39 м.д., и его положение хорошо согласуется с литературными данными [2 – 7]. Отметим, что при добавлении к раствору соединений в ДМСО-d<sub>6</sub> трифторуксусной кислоты положение сигналов протонов в спектрах практически не изменяется. В спектрах большинства пирролонов нам не удалось обнаружить енольную гидроксильную группу C<sup>3</sup>OH, только в спектре соединения IVa имеется уширенный сигнал гидроксила при 12,02 м.д. Однако присутствие енольного гидроксила подтверждается характерной красно-коричневой окраской, которую соединения IVa – e и V дают с 10 % спиртовым раствором хлорида железа(III).

Полученные соединения IV обладают выраженной бактериостатической активностью (табл. 2), а также противоопухолевым и ноотропным (табл. 3) действием.

Авторы выражают признательность фирме Maubridge Chemical Company (Англия) за помощь в записи и интерпретации некоторых ИК и ЯМР спектров.

ИК-спектры соединений IV записаны на спектрометрах UR-20 и Phillips Analytical PU9716 IR в вазелиновом масле. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H получены на приборах РЯ-2310 (рабочая частота 60 МГц) и Bruker AC-300 (300 МГц) в растворах дейтерохлороформа и ДМСО-d<sub>6</sub>, внутренний стандарт - ГМДС или ТМС. Спектр ЯМР <sup>13</sup>C пирролона IVв записан на спектрометре JEOL EX90A FT-NMR (частота по углероду 22,30 МГц) в растворе ДМСО-d<sub>6</sub>. Масс-спектры пирролонов IVв и IVг записаны на спектрометре MS-30 фирмы Kratos (Англия) в режиме прямого ввода образца в ионный источник (ЭУ), ток эмиссии 1000 мА, ионизирующее напряжение 70 эВ, температура испарителя 100 – 150 °С. Индивидуальность соединений подтверждена с помощью метода ТСХ на пластинках Silufol UV-254® в системе бензол – эфир – ацетон (10:9:1), проявляли парами йода. Пивалоилпировиноградную кислоту (III) получали конденсацией Клайзена пинаколины с диэтилоксалатом в присутствии метилата натрия по методу [9]. Метилловый эфир ацетилпировиноградной кислоты получали по методу [12]. Физико-химические и спектральные характеристики синтезированных соединений IV и V представлены в табл. 1, некоторые из них также приведены в тексте экспериментальной химической части. Данные элементного анализа синтезированных соединений IV и V соответствуют вычисленным значениям по брутто-формулам.

**3-Гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидро-2-пирролоны (IVa-e).** К раствору 0,34 г (2 ммоль) пивалоилпировиноградной кислоты (III) в 20 мл этанола добавляют при перемешивании раствор 2 ммоль соответствующего основания Шиффа в 10 – 30 мл этанола и смесь кипятят 3 – 10 мин. Растворитель испаряют, остаток перекристаллизовывают из бензола, толуола или смеси бензол – гексан, 1 : 1.

**3-Гидрокси-5-п-метоксифенил-4-пивалоил-1-п-толил-2,5-дигидро-2-пирролон (IVв).** Выход 0,40 г (54 %). Т. пл. 230 – 231 °С. ИК-спектр,  $\nu_{\max}$ , см<sup>-1</sup>: 3118 (C<sup>3</sup>OH), 1683 (C<sup>2</sup>=O), 1632 (*t*-Bu-C=O), 1607, 1584, 1507, 1455, 1440, 1372, 1326, 1303, 1292, 1270, 1241, 1222, 1198, 1185, 1174, 1155, 1132, 1120, 1038, 1005, 916, 863, 826. Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, ДМСО-d<sub>6</sub>,  $\delta$ , м.д.: 20,0 (4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 24,8 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C]; 37,5 – 42,5 (ДМСО, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C); 55,3 (4-CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 61,5 (C<sup>5</sup>); 113,2; 120,3; 122,7; 128,4; 129,0; 133,5; 134,4; 158,2 (атомы С в Аг и С<sup>4</sup>); 146,8 (C<sup>3</sup>OH); 164,5 (C<sup>2</sup>=O); 200,3 [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-C=O]. Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн.}}$ , %), приведены пики с  $I_{\text{отн.}} > 5\%$ : 380 (6) [M + 1]<sup>+</sup>, 379 (17) [M]<sup>+</sup>, 323 (17), 322 (54) [M-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C]<sup>+</sup>, 321 (27) [M-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-H]<sup>+</sup>, 320 (57), 296 (5), 295 (22), 294 (41) [M-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-CO]<sup>+</sup>, 266 (10) [M-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-2CO]<sup>+</sup>, 264 (6), 244 (5), 229 (8), 225 (18), 224 (100) [4-CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-C≡N-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>-4]<sup>+</sup>, 211 (23), 205 (30), 193 (7), 181 (18), 178 (9), 162 (6), 161 (38), 160 (5), 159 (15), 148 (7), 140 (6), 133 (8) [4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-N=C=O]<sup>+</sup>, 132 (9), 131 (27), 118 (12), 92 (6), 91 (58) [4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 89 (13), 85 (9), 83 (14), 77 (31). C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>4</sub>.

**3-Гидрокси-5-п-нитрофенил-4-пивалоил-1-п-толил-2,5-дигидро-2-пирролон (IVг).** Выход 0,65 г (82 %). Т. пл. 243 – 244 °С. Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн.}}$ , %), приведены пики с  $I_{\text{отн.}} > 5\%$ : 395 (5) [M + 1]<sup>+</sup>, 394 (19) [M]<sup>+</sup>, 338 (8), 337 (38) [M-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C]<sup>+</sup>, 310 (6), 309 (37) [M-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-CO]<sup>+</sup>, 263 (5), 176 (8), 134 (10), 133 (6) [4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-N=C=O]<sup>+</sup>, 132 (7), 130 (8), 118 (9), 104 (6), 102 (8), 101 (5), 92 (40), 91 (100) [4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 89 (10), 77 (16), 69 (5), 65 (28), 63 (12), 57 (82) [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C]<sup>+</sup>, 51 (15), 41 (69). C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

**4-Ацетил-3-гидрокси-5-п-метоксифенил-1-п-толил-2,5-дигидро-2-пирролон (V).** К раствору 0,49 г (3,4 ммоль) метилового эфира ацетилпировиноградной кислоты в 30 мл этанола добавляют при перемешивании раствор 0,77 г (3,4 ммоль) *n*-метоксибензилден-*n*-толиламина в 20 мл этанола. Через сутки рас-

Таблица 1

Физико-химические характеристики 4-ацил-3-гидрокси-1,5-диарил-2,5-дигидро-2-пирролонов IVa – e и V

| Соединение | Выход, % | Т пл., °С (растворитель)           | Брутто-формула (молек. масса)  | Спектры ЯМР <sup>1</sup> H (ДМСО-d <sub>6</sub> ), $\delta$ , м.д.  |
|------------|----------|------------------------------------|--|---|
| IVa        | 68       | 233 – 234 (толуол)                 | C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub> (335,40)               | 1,08 (с, 9H, 3CH <sub>3</sub> в <i>t</i> -Bu), 6,07 (с, 1H, C <sup>5</sup> H), 7,07 – 7,56 (м, 10H, 2C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ), 12,02 (уш. с, 1H, OH)   |
| IVб        | 55       | 190 – 191 (бензол)                 | C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub> (365,43)               | 1,04 (с, 9H, 3CH <sub>3</sub> в <i>t</i> -Bu), 3,56 (с, 3H, CH <sub>3</sub> O), 5,96 (с, 1H, C <sup>5</sup> H), 6,57 – 7,57 (м, 9H, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )   |
| IVв        | 54       | 230 – 231 (толуол)                 | C <sub>23</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub> (379,46)               | 1,09 (с, 9H, 3CH <sub>3</sub> в <i>t</i> -Bu), 2,20 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3,61 (с, 3H, CH <sub>3</sub> O), 5,98 (с, 1H, C <sup>5</sup> H), 6,70 – 7,43 (м, 8H, 2C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ), 1,12 (с, 9H, 3CH <sub>3</sub> в <i>t</i> -Bu), 2,23 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3,68 (с, 3H, CH <sub>3</sub> O), 5,87 (с, 1H, C <sup>5</sup> H), 6,68 – 7,40 (м, 8H, 2C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )* |
| IVг        | 82       | 243 – 244 (бензол)                 | C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (394,43) | 1,13 (с, 9H, 3CH <sub>3</sub> в <i>t</i> -Bu), 2,19 (с, 3H, CH <sub>3</sub> ), 6,03 (с, 1H, C <sup>5</sup> H), 6,96 – 8,12 (м, 8H, 2C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )   |
| IVд        | 45       | 227 – 228 (бензол – гексан, 1 : 1) | C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> BrNO <sub>4</sub> (444,33)             | 1,07 (с, 9H, 3CH <sub>3</sub> в <i>t</i> -Bu), 3,64 (с, 3H, CH <sub>3</sub> O), 6,00 (с, 1H, C <sup>5</sup> H), 6,75 – 7,47 (м, 8H, 2C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )  |
| IVe        | 71       | 226 – 227 (бензол)                 | C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub> (425,39) | 1,07 (с, 9H, 3CH <sub>3</sub> в <i>t</i> -Bu), 6,39 (с, 1H, C <sup>5</sup> H), 7,53 – 8,26 (м, 8H, 2C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )   |
| V          | 67       | 168 – 169 (толуол)                 | C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub> (337,37)               | 2,25 (с, 3H, CH <sub>3</sub> в 4-CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ), 2,34 (с, 3H, CH <sub>3</sub> в CH <sub>3</sub> COС <sup>4</sup> ), 3,68 (с, 3H, CH <sub>3</sub> O), 5,83 (с, 1H, C <sup>5</sup> H), 6,70 – 7,45 (м, 8H, 2C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )  |

\* Спектр снят в дейтерохлороформе

Таблица 2  
Бактериостатическая активность 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидро-2-пирролонов IVa – e

| Соединение/препарат   | Минимальная ингибирующая концентрация МИК, мкг/мл |                                    |
|-----------------------|---|------------------------------------|
|                       | <i>Escherichia coli</i> M <sub>17</sub>           | <i>Staphylococcus aureus</i> P-209 |
| IVa                   | 125   | 62                                 |
| IVб                   | 1000  | 1000                               |
| IVв                   | 125   | 125                                |
| IVг                   | 15,6  | 7,8                                |
| IVд                   | 31  | 15,6                               |
| IVe                   | 250   | 250                                |
| Этакридин             | 2000  | 500                                |
| 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

творитель испаряют, остаток перекристаллизовывают из толуола. Выход 0,77 г (67 %). Т. пл. 168 – 169 °С. C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>.

#### Экспериментальная биологическая часть

Изучена противомикробная, противоопухолевая и ноотропная активность синтезированных пирролонов.

Противомикробную активность соединений по отношению к эталонным штаммам кишечной палочки *Escherichia coli* M<sub>17</sub> и золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* P-209 определяли стандартным методом двукратных серийных разведений в мясопептонном бульоне при бактериальной нагрузке от 250 тыс. до 5 млн микробных единиц в 1 мл раствора [13]. 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 этакридина, оксалиниевой и налидиксовой кислот, а также флумеквина.

Исследование противоопухолевой активности соединений IV проводили в Национальном Институте по изучению рака в США (National Cancer Institute, Bethesda, Maryland, USA) [14]. Испытания проводили *in vitro* на трех экспериментальных культурах опухолей: легких — серия клеток NCI-H460, молочной железы — серия MCF7 и центральной нервной системы — серия SF-268. Подробная стандартизованная методика исследования приведена в оригинальных работах [14, 15]. Соединения вводили в концентрации 1,00 · 10<sup>-4</sup> М, эффект оценивали по величине процента роста (ПР) клеток опухоли [14, 15]. Сопоставление результатов с активностью известных препаратов не проводили, поскольку активные концентрации противоопухолевых средств (например, аналогов адриамицина, а также таксола и галихондрина) всегда воспроизводятся в различных сериях эксперимента [15].

Таблица 3  
Антиамнестическое действие соединений IV по влиянию на условную реакцию пассивного избегания у крыс

| Соединение/препарат | 1-й день            |                                     |  | 2-й день            |                                     |  |
|---------------------|---------------------|-------------------------------------|--|---------------------|-------------------------------------|--|
|                     | Латентный период, с | Время нахождения в темном отсеке, с | Количество крыс, зашедших в темный отсек, %* | Латентный период, с | Время нахождения в темном отсеке, с | Количество крыс, зашедших в темный отсек, %* |
| IVa                 | 9,2                 | 170,8                               | 100  | 55,2                | 124,8                               | 80   |
| IVг                 | 13,6                | 166,4                               | 100  | 80,2                | 93,8                                | 60   |
| Контроль            | 16,0                | 164,0                               | 100  | 42,9                | 137,1                               | 100  |
| Пирацетам           | 18,3                | 161,7                               | 100  | 148,5               | 41,2                                | 40   |

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контролем

Ноотропную (антиамнестическую) активность синтезированных пирролонов IV изучали по методу психогенной амнезии [16]. Каждое соединение испытывали на 5 белых крысах – самцах массой 180 – 200 г. Контрольная группа и группа сравнения препаратом пирацетамом состояли также из 5 животных. Исследуемые соединения вводили внутривентриально крысам в 2 % крахмальной слизи в дозе 50 мг/кг. Контрольной группе животных вводили также 2 % крахмальную слизь. Определяли способность соединений устранять амнезию, а также увеличивать время латентного периода и влиять на количество животных, зашедших в темный отсек экспериментальной камеры. Время введения соединений до определения периода нахождения животного в светлом и темном отсеках составляло 3 мин.

Установлено, что испытанные соединения IV обладают различной противомикробной активностью при МИК от 7,8 до 1000 мкг/мл (табл. 2). Наиболее выраженный бактериостатический эффект обнаружен у 3-гидрокси-5-*n*-нитрофенил-4-пивалоил-1-*n*-толил-2,5-дигидро-2-пирролона IVг, который активен как по отношению к штаммам кишечной палочки (МИК 15,6 мкг/мл), так и золотистого стафилококка (МИК 7,8 мкг/мл).

Соединения IV обладают также противоопухолевой активностью. Наибольший противоопухолевый эффект обнаружен у пирролона IVг, который активен на культурах опухолей легких (ПР –45 %) и центральной нервной системы (ПР –33 %).

Среди изученных соединений только соединение IVг обладает слабым антиамнестическим действием, о чем свидетельствует некоторое уменьшение количества крыс, зашедших в темный отсек экспериментальной камеры, и сокращение времени их нахождения в этом отсеке (табл. 3). Вместе с тем, соединение IVг значительно уступает по активности пирацетаму.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. В. Л. Гейн, Ю. С. Андрейчиков, *Химия пятичленных 2,3-диоксогетероциклов*, Изд-во Пермского гос. ун-та, Пермь (1994), сс. 166 – 188.

2. Ю. С. Андрейчиков, В. Л. Гейн, И. Н. Аникина, *Ж. орган. химии*, **22**(8), 1749 – 1756 (1986).
3. В. Л. Гейн, Е. В. Шумиловских, Ю. С. Андрейчиков и др., *Хим.-фарм. журн.*, **25**(12), 37 – 40 (1991).
4. В. Л. Гейн, Л. Ф. Гейн, Н. Ю. Порсева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **31**(5), 33 – 36 (1997).
5. В. Л. Гейн, С. Г. Питиримова, Э. В. Воронина и др., *Хим.-фарм. журн.*, **31**(11), 35 – 36 (1997).
6. В. Л. Гейн, Л. Ф. Гейн, Н. Ю. Порсева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **32**(9), 23 – 25 (1998).
7. В. Л. Гейн, Н. Н. Касимова, Э. В. Воронина, Л. Ф. Гейн, *Хим.-фарм. журн.*, **35**(3), 31 – 34 (2001).
8. Э. Н. Безматерных, *Автореф. дис. канд. хим. наук*, Пермь (2000).
9. В. О. Козьминых, Н. М. Игидов, Е. С. Березина и др., *Изв. Акад. Наук, Сер. хим.*, № 9, 1564 – 1568 (2000).
10. С. С. Ширинкина, Н. М. Игидов, В. О. Козьминых, *80 Лет фармацевтическому образованию и науке на Урале: итоги и перспективы. Материалы юбилейной межвузовской науч.-практ. конф.*, Изд-во Пермского гос. технич. ун-та, Пермь (1998), сс. 62 – 63.
11. С. С. Ширинкина, Н. М. Игидов, Е. С. Березина, В. О. Козьминых, *Актуальные проблемы фармацевтической науки и образования: итоги и перспективы*, Изд-во Пермской гос. фармацевтической академии, Пермь (2000), с. 82.
12. E. E. Royals, *J. Am. Chem. Soc.*, **67**, 1508 – 1509 (1945).
13. Г. Н. Першин, *Методы экспериментальной химиотерапии*, Изд-во медицинской литературы, Москва (1971), сс. 100, 109 – 117.
14. M. R. Grever, S. A. Schepartz, B. A. Chabner, *Seminars in Oncology*, **19**(6), 622 – 638 (1992).
15. P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, et al., *J. Nat. Cancer Inst.*, **82**, 1107 – 1112 (1990).
16. Л. В. Лоскутова, Р. Ю. Ильюченко, *Фармакол. и токсикол.*, **48**(4), 34 – 38 (1985).

Поступила 04.10.2001