

А. А. Спасов¹, В. С. Лобасенко², В. А. Косолапов¹, Д. А. Бабков¹,
В. А. Кузнецова¹, О. Ю. Майка¹, Ю. В. Попов², Т. К. Корчагина²

СИНТЕЗ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 3-ФЕНОКСИБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ

¹ Волгоградский государственный медицинский университет, Россия, Волгоград;

* e-mail: vad-ak@mail.ru

² Волгоградский государственный технический университет, Россия, Волгоград.

Осуществлен синтез и изучена фармакологическая активность производных 3-феноксибензойной кислоты. Установлено, что для некоторых соединений, в частности 2-цианопропил-2-ового эфира 3-феноксибензойной кислоты характерна пролифератор пероксисом γ агонистическая активность, способность активировать глюкокиназу, а также способность снижать гликирование белков. Изученные вещества не влияли на активность дипептидилпептидазы-4.

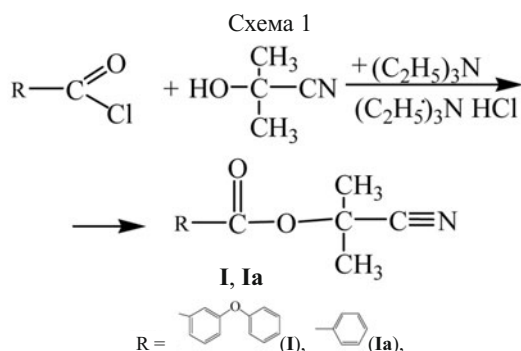
Ключевые слова: синтез; производные 3-феноксибензойной кислоты; ППАР- γ ; глюкокиназа; ДПП-4; гликирование белков.

Широкий спектр применения соединений, содержащих дифенилоксидный фрагмент, обусловлен особенностями их строения и свойств [1].

Соединения этого ряда обладают высоким индексом биологической активности, среди них найдены высокоэффективные антиоксиданты, малотоксичные противовоспалительные нестероидные средства, антиаллергические, иммуномодулирующие, кардиологические и антимикробные препараты.

У замещенных гидразонов обнаружена спазмолитическая активность, гипотензивное действие, активность в отношении лейкемии, саркомы и других злокачественных новообразований [2]. Их используют также для лечения шизофрении, проказы и других заболеваний [3].

Перспективным представилось провести синтез и изучить активность производных 3-феноксибензойной кислоты в отношении мишеней развития сахарного диабета, таких как ядерные рецепторы, активируемые пероксисомным пролифератором (PPAR- γ), АМФ-активируемая киназа (АМПК), а также их антигликирующие свойства.



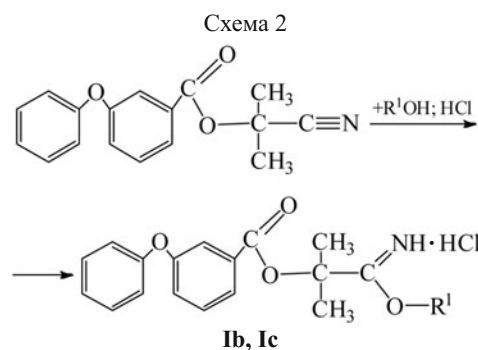
Для синтеза 2-цианопропил-2-ового эфира 3-феноксибензойной кислоты (**I**) и 2-цианопропил-2-ового эфира бензойной кислоты (**Ia**) было осуществлено взаимодействие хлорангидрида 3-феноксибензойной кислоты и хлористого бензоила с ацетонциангидри-

ном в среде абсолютного диэтилового эфира и присутствии триэтиламина в качестве акцептора хлористого водорода (схема 1).

Синтез проводили при комнатной температуре (20 – 25 °С) и интенсивном перемешивании в течение 1 ч. После смешивания исходных реагентов уже через 1 ч достигается количественный выход солянокислого триэтиламина. Выход нитрилов 90 – 95 %.

Ароматические нитрилы при взаимодействии со спиртами и хлористым водородом образуют гидрохлориды имидатов в условиях реакции Пиннера.

Взаимодействием 2-цианопропил-2-ового эфира 3-феноксибензойной кислоты с алифатическими спиртами и хлористым водородом (схема 2) были получены гидрохлориды этил- и изопропилимидата 2-метил-2-(3-феноксибензоат)пропионовой кислоты (**Ib**, **Ic**).

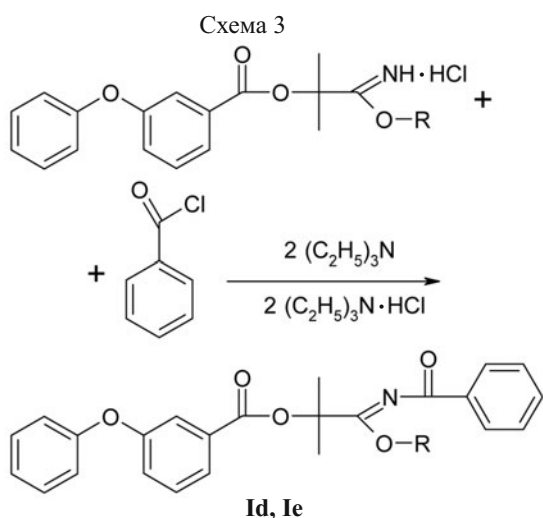


$\text{R}' = \text{C}_2\text{H}_5$ (**Ib**); $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (**Ic**).

Реакцию проводили при температуре 0 – 5 °С в эквимолярном соотношении реагентов в течение 1 – 2 ч при перемешивании. Об окончании реакции судили по привесу реакционной массы и ее кристаллизации. Выход 94 – 95 %.

Для синтеза этилового и бутилового эфиров N-(бензоил)-2-метил-2-(3-феноксибензоат)пропиокарбоксимидовой кислоты (**Id**, **Ie**) осуществлено ацилирование гидрохлоридов имидатов 2-(3-феноксибензоат)пропио-

новой кислоты хлорангидридом бензойной кислоты (схема 3).



R = C₂H₅ (Id); C₄H₉ (Ie).

Для получения эфиров N-замещенной 3-феноксифенилкарбоксимидовой кислоты (**If**, **IIa – IIf**) нами было осуществлено последовательное гидрохлорирование 3-феноксифенилкарбоксамидов в условиях реакции Пиннера и ацилирование полученных гидрохлоридов имидатов хлорангидридами карбоновых кислот (схема 4).

В качестве акцептора хлористого водорода использовали триэтиламин. Реакции проводили при мольном соотношении реагентов и двукратном избытке триэтиламина в среде абсолютного 1,4-диоксана при температуре 60 – 65 °С в течение 2 ч.

Экспериментальная химическая часть

ИК-спектры (ν , см⁻¹) жидких веществ регистрировали в тонком слое (пленка), твердых веществ — в вазелиновом масле на приборах “SPECORD” М 82 (Германия), “PERKIN-ELMER” (США).

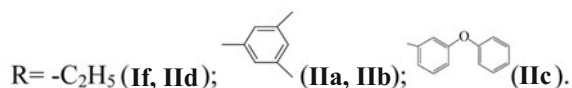
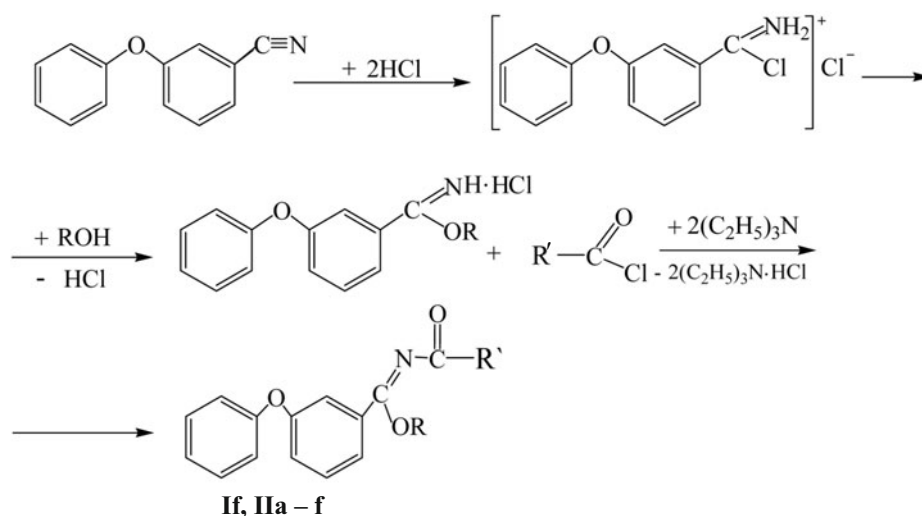
Спектры ¹H ЯМР (δ , м.д.) регистрировали на приборе “VarianMercury 300BB” (США) (рабочая частота 300 МГц) в ДМСО-d₆, внутренний стандарт — гексаметилдисилоксан.

Хроматомакс-спектры получены на приборе “Varian MAT-11” (США) при ионизирующем напряжении 70 эВ и токе эмиссии катода 240 мкА. Система впуска — непосредственный ввод образца в ионизационную камеру.

Строение полученных соединений устанавливали с помощью элементного анализа, ИК- и ¹H ЯМР-спектроскопии, результаты представлены в табл. 1.

2-Цианопропил-2-овый эфир 3-феноксифенилкарбоксамидовой кислоты (I). В трехгорлый реактор, снабженный механической мешалкой, обратным холодильником, помещают 10,00 г (46,2 ммоль) хлорангидрида 3-феноксифенилкарбоксамидовой кислоты в абсолютном диэтиловом эфире, к которому добавляют по каплям (55,4 ммоль) 5,60 г триэтиламина в абсолютном диэтиловом эфире. Далее к реакционной массе прикапывают (55,4 ммоль) 4,71 г ацетонциангидрина в абсолютном диэтиловом эфире. Синтез проводят при температуре 20 – 25 °С в течение 1 ч. Осадок гидрохлорида триэтиламина отделяют на фильтре, из фильтрата отгоняют растворитель сначала атмосферной перегонкой, а затем в вакууме. Соединение очищают вакуумной перегонкой. Выход 11,10 г (95 %). $T_{кип}$ 190 – 192 °С (2 мм рт. ст.) Масс-спектр, m/z : 281 [M⁺]: 50 (12 %), 77 (15 %), 115,2

Схема 4



(17 %), 169 (35 %), 197 (53 %), 214 (25 %), 281 (100 %). $C_{17}H_{15}O_3N$.

2-Цианопропил-2-овый эфир бензойной кислоты (Ia). В трехгорлый реактор, снабженный механической мешалкой, обратным холодильником, помещают 10,00 г (70,7 ммоль) хлорангидрида бензойной кислоты в абсолютном диэтиловом эфире, к которому добавляют по каплям (70,7 ммоль) 7,15 г триэтиламина в абсолютном диэтиловом эфире. Далее к реакционной массе прикапывают (70,7 ммоль) 6,00 г ацетонциангидрина в абсолютном диэтиловом эфире. Синтез проводят при температуре 20 – 25 °С в течение 1 ч. Осадок гидрохлорида триэтиламина отделяют на фильтре, из фильтрата отгоняют растворитель сначала атмосферной перегонкой, а затем в вакууме. Соединение очищают вакуумной перегонкой. Выход 11,10 г (90 %). $T_{кип} = 180 - 185$ °С (2 мм рт. ст.) Масс-спектр, m/z : 189 [M^+]: 30 (10 %), 71 (13 %), 98,3 (20 %), 123 (31 %), 165 (55 %), 174 (22 %), 189 (100 %). $C_{11}H_{11}O_2N$.

Гидрохлорид этилимидата 2-метил-2-(3-феноксibenзоат)пропионовой кислоты (Ib). Во взвешенный реактор загружают 6,00 г (20,9 ммоль) 2-метил-2-(3-феноксibenзоат)пропионитрила и 0,96 г (20,9 ммоль) абсолютного этанола. Реакционную массу при охлаждении на ледяной бане до 0 – 5 °С насыщают сухим хлористым водородом при перемешивании в течение 1 – 1,5 ч. Об окончании реакции судят по привесу реакционной массы и ее кристаллизации. Затем реакционную массу оставляют на ночь при температуре 5 °С. Выход 8,10 г (94 %). $C_{19}H_{22}O_4NCl$.

Гидрохлорид изопропилимидата 2-метил-2-(3-феноксibenзоат)пропионовой кислоты (Ic). Во взвешенный реактор загружают 6,00 г (20,9 ммоль) 2-метил-2-(3-феноксibenзоат)пропионитрила и 1,25 г (20,9 ммоль) абсолютного изопропанола. Реакционную массу при охлаждении на ледяной бане до 0 – 5 °С насыщают сухим хлористым водородом при перемешивании в течение 1 – 1,5 ч. Об окончании реакции судят по привесу реакционной массы и ее кристаллизации. Затем реакционную массу оставляют на ночь при температуре 5 °С. Выход 8,40 г (94 %). $C_{20}H_{24}O_4NCl$.

Этиловый эфир N-(бензоил)-2-(3-феноксibenзоат)пропиокарбоксимидовой кислоты (Id). В четырехгорлый реактор, снабженный механической мешалкой, термометром и обратным холодильником, помещают 5,00 г (14,2 ммоль) гидрохлорида этилового эфира 2-(3-феноксibenзоат)пропиокарбоксоимидовой кислоты в абсолютном диоксане. При перемешивании и охлаждении на ледяной бане до 5 – 10 °С по каплям добавляют 2,87 г (28,4 ммоль) триэтиламина в абсолютном диоксане, а затем прикапывают 1,99 г (14,2 моль) хлористого бензоила в абсолютном диоксане. После этого реакционную массу перемешивают 30 мин при комнатной температуре и затем выдерживают при 60 – 65 °С в течение 2 ч. Осадок гидрохлорида триэтиламина отделяют на фильтре, из фильтрата отгоняют растворитель сначала атмосферной перегонкой, а затем в вакууме. По мере удаления растворителя реак-

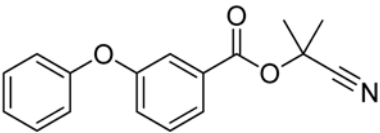
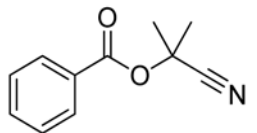
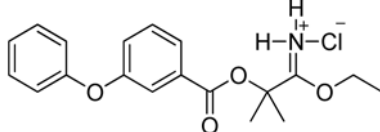
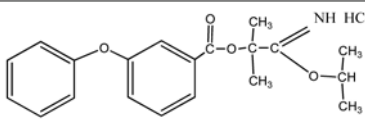
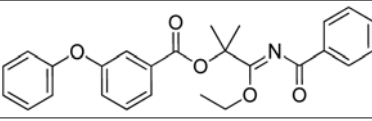
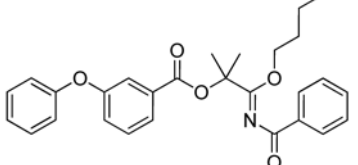
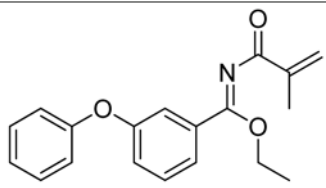
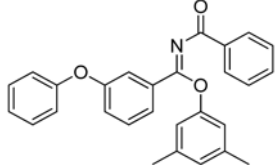
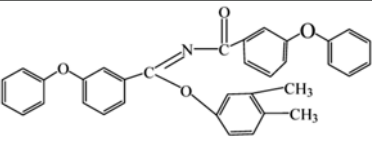
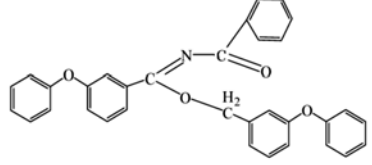
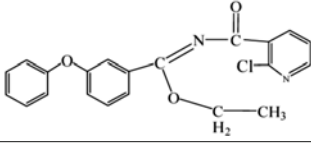
ционная масса кристаллизуется. Полученное вещество очищают перекристаллизацией из абсолютного диэтилового эфира. Выход 4,80 г (85 %). $C_{26}H_{26}O_5N$.

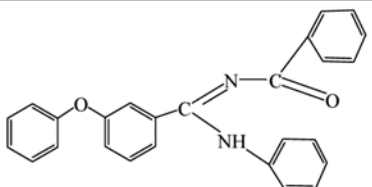
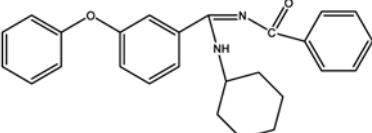
Бутиловый эфир N-(бензоил)-2-(3-феноксibenзоат)пропиокарбоксимидовой кислоты (Ie). В четырехгорлый реактор, снабженный механической мешалкой, термометром и обратным холодильником, помещают 5,00 г (13,2 ммоль) гидрохлорида 2-цианопропил-2-ового эфира 3-феноксibenзойной кислоты в абсолютном диоксане. При перемешивании и охлаждении на ледяной бане до 5 – 10 °С по каплям добавляют 2,67 г (26,4 ммоль) триэтиламина в абсолютном диоксане, а затем прикапывают 1,85 г (13,2 ммоль) хлористого бензоила в абсолютном диоксане. После этого реакционную массу перемешивают 30 мин при комнатной температуре и затем выдерживают при 60 – 65 °С в течение 2 ч. Осадок гидрохлорида триэтиламина отделяют на фильтре, из фильтрата отгоняют растворитель сначала атмосферной перегонкой, а затем в вакууме. По мере удаления растворителя реакционная масса кристаллизуется. Полученное вещество очищают перекристаллизацией из абсолютного диэтилового эфира. Выход 82 %. $C_{28}H_{29}O_5N$.

Этиловый эфир N-(метакроил)-3-феноксifenилкарбоксимидовой кислоты (If). В четырехгорлый реактор, снабженный механической мешалкой, термометром и обратным холодильником, помещают 5,00 г (24,3 ммоль) гидрохлорида этилимидата 3-феноксibenзойной кислоты в абсолютном диоксане. При перемешивании и охлаждении на ледяной бане до 5 – 10 °С по каплям добавляют 4,92 г (48,6 ммоль) триэтиламина в абсолютном диоксане, а затем прикапывают 2,54 г (24,3 ммоль) хлорангидрида метакриловой кислоты в абсолютном диоксане. После этого реакционную массу перемешивают 30 мин при комнатной температуре и затем выдерживают при 60 – 65 °С в течение 2 ч. Осадок гидрохлорида триэтиламина отделяют на фильтре, из фильтрата отгоняют растворитель сначала атмосферной перегонкой, а затем в вакууме. По мере удаления растворителя реакционная масса кристаллизуется. Полученное вещество очищают перекристаллизацией из абсолютного четыреххлористого углерода. Выход 4,60 г (82 %). $C_{19}H_{19}O_3N$.

3,5-Диметилфениловый эфир N-(бензоил)-3-феноксifenилкарбоксимидовой кислоты (IIa). В четырехгорлый реактор, снабженный механической мешалкой, термометром и обратным холодильником, помещают 5,00 г (14,3 ммоль) гидрохлорида 3,5-диметилфенилимидата 3-феноксibenзойной кислоты в абсолютном диоксане. При перемешивании и охлаждении на ледяной бане до 5 – 10 °С прикапывают 2,89 г (28,6 ммоль) триэтиламина в абсолютном диоксане, а затем добавляют 2,00 г (14,3 ммоль) хлористого бензоила в абсолютном диоксане. После этого реакционную массу перемешивают 30 мин при комнатной температуре и затем выдерживают при 60 – 65 °С в течение 2 ч. Осадок гидрохлорида триэтиламина отделяют на фильтре, из фильтрата отгоня-

Структуры, ИК и ¹H ЯМР спектры синтезированных соединений

№	Соединение	Спектр ЯМР ¹ H, δ, м.д.	ИК-спектр, ν, см ⁻¹
I		1,85 (6H, с, CH ₃), 6,56 – 7,69 (9H, м, C ₆ H ₅ OC ₆ H ₄)	1600 – 700 (Ar), 2224 (C≡N), 2938 (CH), 1287 (CH ₃), 1732 (C=O)
Ia		1,72 (6H, с, CH ₃), 6,4 – 6,8 (5H, м, C ₆ H ₅)	1600 – 700 (Ar), 2224 (C≡N), 2938 (CH), 1287 (CH ₃), 1732 (C=O)
Ib		11,1 (с, 1H, HCl), 6,94 – 7,21 (м, 9H, м, C ₆ H ₅ OC ₆ H ₄), 1,2 с (6H, CH ₃), 1,4 – 1,5 (м, 3H, CH ₃), 4,1 – 4,3 (м, 2H, CH ₂)	1630 (C=N), 1294 – 970 (C-O-C), 3400, 1830 – 1690 (N-H)
Ic		10,8 (с, 1H, HCl), 6,94 – 7,21 (м, 9H, м, C ₆ H ₅ OC ₆ H ₄), 6,90 – 7,08 (м, 1H, NH), 1,27 – 1,36 (м, 3H, CH ₃), 4,26 (м, 2H, CH ₂)	1650 (C=N), 1300 – 980 (C-O-C), 3450, 3490, 1810 – 1690 (N-H)
Id		1,05 – 1,37 (9H, м, CH ₃), 4,25 – 4,27 (2H, д, CH ₂), 6,89 – 7,56 (14H, м, C ₆ H ₅ OC ₆ H ₄ , C ₆ H ₅)	1702 (C=O), 1648 (C=N), 1246 – 1072 (C-O-C)
Ie		1,09 – 1,14 (9H, м, CH ₃), 2,38 – 2,51 (м, 2H, CH ₂), 3,01 – 3,05 (м, 2H, CH ₂), 3,23 – 3,37 (т, 2H, CH ₂), 6,67 – 7,98 (14H, м, C ₆ H ₅ OC ₆ H ₄ , C ₆ H ₅)	1750 (C=O), 1678 (C=N), 1266 – 1350 (C-O-C)
If		0,83 – 1,20 (6H, м, 2CH ₃), 2,22 – 3,15 (2H, м, CH ₂), 5,13 (2H, с, =CH ₂), 6,78 – 7,76 (9H, м, C ₆ H ₅ OC ₆ H ₄)	1732 (C=O), 1650 (C=N), 1620 (C=C), 1072 – 1246 (C-O-C)
IIa		1,89 (6H, с, 2CH ₃), 6,68 – 7,32 (17H, м, C ₆ H ₅ OC ₆ H ₄ , C ₆ H ₅ , C ₆ H ₅)	1689 (C=O), 1654 (C=N), 1246 – 1272 (C-O-C)
IIb		1,83 (6H, с, 2CH ₃), 6,95 – 7,78 (21H, м, C ₆ H ₅ OC ₆ H ₄ , C ₆ H ₅ OC ₆ H ₄ , C ₆ H ₅)	1716 (C=O), 1653 (C=N), 1041 – 1072 (C-O-C)
IIc		2,92 (2H, с, CH ₂), 6,9 – 7,8 (23H, м, C ₆ H ₅ OC ₆ H ₄ , C ₆ H ₅ OC ₆ H ₄ , C ₆ H ₅)	1748 – 1760 (C=O), 1660 (C=N), 1235 – 1326 (C-O-C)
IIд		0,98 – 1,13 (3H, т, 2CH ₃), 2,22 – 3,13 (2H, м, CH ₂), 6,91 – 7,87 (9H, м, C ₆ H ₅ OC ₆ H ₄), (3H, м, C ₃ H ₃ NCl)	1780 – 1793 (C=O), 1660 – 1640 (C=C), 1648 (C=N), 1246 – 1072 (C-O-C), 1800 – 1770 (C-Cl)

№	Соединение	Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.	ИК-спектр, ν , см^{-1}
IIe		6,82 – 7,76 (м, 19H, Ar), 3,61 (с, 1H, NH)	1290 – 1072 (C-O-C), 1648 (C=N), 1702 (C=O), 3430 – 3394, 1204 (N-H, C-N)
IIф		6,89 – 7,82 (м, 14H, Ar), 4,17 (с, 1H, NH), 2,62 – 2,73 (м, 1H, CH), 1,42 – 1,72 (м, 6H, CH ₂), 1,1 – 1,2 (м, 4H, CH ₂)	1290 – 1100 (C-O-C), 1634 (C=N), 1780 – 1670 (C=O), 1360 – 1000 (C-N), 3430 – 3394 (N-H)

ют растворитель сначала атмосферной перегонкой, а затем в вакууме. По мере удаления растворителя реакционная масса кристаллизуется. Полученное вещество очищают перекристаллизацией из абсолютного четыреххлористого углерода. Выход 83 %. $\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N}$.

3,4-Диметилфениловый эфир N-(3-феноксифенил)-3-феноксифенилкарбоксимидовой кислоты (IIб). В четырехгорлый реактор, снабженный механической мешалкой, термометром и обратным холодильником, помещают 5,00 г (14,3 ммоль) гидрохлорида 3,4-диметилфенилимидата 3-феноксифенилкарбоксимидовой кислоты в абсолютном диоксане. При перемешивании и охлаждении на ледяной бане до 5 – 10 °C прикапывают 2,89 г (28,6 ммоль) триэтиламина в абсолютном диоксане, а затем добавляют 3,32 г (14,3 ммоль) хлористого 3-феноксифенила в абсолютном диоксане. После этого реакционную массу перемешивают 30 мин при комнатной температуре и затем выдерживают при

60 – 65 °C в течение 2 ч. Осадок гидрохлорида триэтиламина отделяют на фильтре, из фильтрата отгоняют растворитель сначала атмосферной перегонкой, а затем в вакууме. По мере удаления растворителя реакционная масса кристаллизуется. Полученное вещество очищают перекристаллизацией из абсолютного четыреххлористого углерода. Выход 88 %. $\text{C}_{34}\text{H}_{27}\text{O}_4\text{N}$.

3-Феноксифениловый эфир N-(бензоил)-3-феноксифенилкарбоксимидовой кислоты (IIс). В четырехгорлый реактор, снабженный механической мешалкой, термометром и обратным холодильником, помещают 5,00 г (11,6 ммоль) гидрохлорида 3-феноксифенилимидата 3-феноксифенилкарбоксимидовой кислоты в абсолютном диоксане. При перемешивании и охлаждении на ледяной бане до 5 – 10 °C прикапывают 2,89 г (28,6 ммоль) триэтиламина в абсолютном диоксане, а затем добавляют 2,00 г (14,3 ммоль) хлористого бензоила в абс. диоксане. После этого реакционную массу

Таблица 2

PPAR γ -агонистическая, глюкокиназная, ДПП-4-ингибирующая и антигликирующая активность соединений Ia – f, Па – ф

Соединение	Активация PPAR γ , 10^{-5} М, %	Активация глюкокиназы, 10^{-4} М, % ($M \pm m$)	Ингибирование ДПП-4, 10^{-4} М, % ($M \pm m$)	Антигликирующая активность, 10^{-3} М, % ($M \pm m$)
I	44,6 \pm 4,32*	21,77 \pm 0,52*	- 6,1 \pm 1,33**	29,10 \pm 2,98*
Ia	0,5 \pm 0,02**	3,42 \pm 0,39**	0,65 \pm 2,63**	- 20,32 \pm 5,08
Ib	0,3 \pm 0,01**	6,13 \pm 0,89**	- 4,49 \pm 2,74**	- 24,88 \pm 6,82
Ic	0,6 \pm 0,02**	2,24 \pm 1,69**	- 3,69 \pm 1,96**	- 35,84 \pm 12,58
Id	- 0,1 \pm 0,02**	3,06 \pm 1,31**	5,42 \pm 1,14**	2,34 \pm 8,20
Ie	0,1 \pm 0,01**	- 0,72 \pm 1,55**	- 5,11 \pm 1,06**	...
If	- 0,1 \pm 0,02**	6,4 \pm 2,00**	- 1,67 \pm 2,08**	- 2,63 \pm 0,02
Па	...	0,53 \pm 0,91	- 8,09 \pm 2,29**	- 1,55 \pm 2,78
Pb	...	24,27 \pm 2,04*	- 36,7 \pm 5,82**	13,37 \pm 2,14
Pc	...	- 0,75 \pm 1,41	0,46 \pm 3,37**	- 18,22 \pm 7,58
Pd	...	0,99 \pm 1,41	4,38 \pm 3,37**	8,89 \pm 6,00
Pe	...	1,74 \pm 0,73	- 2,41 \pm 2,8**	- 11,71 \pm 6,93
Pf	...	1,63 \pm 1,82	- 13,84 \pm 2,63**	- 10,61 \pm 0,34
Пиоглитазон	68,9 \pm 8,58*
MBX-2982	...	67,76 \pm 0,87*
Вилдаглиптин	98,69 \pm 0,42*	...
Аминогуанидин	57,83 \pm 0,58*

* Данные статистически значимы (T) по отношению к контролю ($p < 0,05$);

** данные статистически значимы (T) по отношению к препарату сравнения ($p < 0,05$);

... вещество не изучалось.

перемешивают 30 мин при комнатной температуре и затем выдерживают при 60 – 65 °С в течение 2 ч. Осадок гидрохлорида триэтиламина отделяют на фильтре, из фильтрата отгоняют растворитель сначала атмосферной перегонкой, а затем в вакууме. По мере удаления растворителя реакционная масса кристаллизуется. Полученное вещество очищают перекристаллизацией из абсолютного четыреххлористого углерода. Выход 84 %. $C_{33}H_{25}O_4N$.

Этиловый эфир N-(хлорникотиноил)-3-феноксибензилкарбоксамидовой кислоты (IIд). В четырехгорлый реактор, снабженный механической мешалкой, термометром и обратным холодильником, помещают 5,00 г (24,3 ммоль) гидрохлорида этилимидата 3-феноксибензойной кислоты в абсолютном диоксане. При перемешивании и охлаждении на ледяной бане до 5 – 10 °С по каплям добавляют 4,92 г (48,6 ммоль) триэтиламина в абсолютном диоксане, а затем прикапывают 4,28 г (24,3 ммоль) 2-хлорникотиноилхлорида в абсолютном диоксане. После этого реакционную массу перемешивают 30-мин при комнатной температуре и затем выдерживают при 60 – 65 °С в течение 2 ч. Осадок гидрохлорида триэтиламина отделяют на фильтре, из фильтрата отгоняют растворитель сначала атмосферной перегонкой, а затем в вакууме. По мере удаления растворителя реакционная масса кристаллизуется. Полученное вещество очищают перекристаллизацией из абсолютного четыреххлористого углерода. Выход 87 %. $C_{21}H_{17}O_3N_2Cl$.

N-Бензоил-N'-фенил-3-феноксибензамидин (IIе). В реактор помещают 4,80 г (14 ммоль) N-бензоилзамещенного этилимидата 3-феноксибензойной кислоты в абсолютном бензоле. При перемешивании и охлаждении на водяной бане до 15 – 20 °С по каплям прибавляют 5,44 г (17 ммоль) анилина. Затем реакционную массу выдерживают при 75 – 80 °С в течение 2 ч. После отгонки растворителя масса закристаллизовывается. Полученный продукт очищают перекристаллизацией из абсолютного четыреххлористого углерода. Выход 80 %. $T_{пл}$ 127 – 128 °С. $C_{26}H_{23}O_2N_2$.

N-Бензоил-N'-циклогексил-3-феноксибензамидин (IIф). В реактор помещают 5,00 г (13 ммоль) этилового эфира N-(бензоил)-3-феноксибензилкарбоксамидовой кислоты в абсолютном бензоле. При перемешивании и охлаждении на водяной бане до 15 – 20 °С по каплям прибавляют 5,60 г (17 ммоль) циклогексиламина. Затем реакционную массу выдерживают при 75 – 80 °С в течение 2 ч. После отгонки растворителя масса закристаллизовывается. Полученный продукт очищают перекристаллизацией из абсолютного четыреххлористого углерода. Выход 85 %. $T_{пл}$ 115 – 120 °С. $C_{26}H_{25}O_2N_2$.

Экспериментальная фармакологическая часть

Вещества и препарат сравнения пиоглитазон изучали в концентрации 10^{-5} М в тесте изучения активации рецепторов, активируемых пролифератором перокси-сом γ [PPAR γ] *in vitro* (Eurofins Cerer, Франция) по ме-

тоду [4]. Агонистическую активность веществ рассчитывали по отношению к действию контрольного агониста.

Активность глюкокиназы (ГК) *in vitro*. Активность ГК человеческой печени рекомбинантная, экспрессированная в *E. coli* (Sigma #SRP6045, США), определяли посредством сопряженной реакции образования глюкозо-6-фосфата с генерацией НАДН с помощью глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ *L. mesenteroides*, 550 – 1100 ЕД/мг, Sigma #G2921, США). Анализ проводили при 37 °С в 96-луночном прозрачном полистиреновом планшете с плоским дном (Costar 9018, США) в конечном инкубируемом объеме 210 мкл. Инкубационная смесь содержала: 25 мМ HEPES (pH 7,2), 25 мМ KCl, 5 мМ D-глюкозы, 1 мМ АТФ, 1,8 мМ NAD, 2 мМ MgCl₂, 1 мМ DTT, тестируемое соединение или 5 % ДМСО, 1,8 ЕД/мл Г6ФДГ и 2 мкг/мл ГК. Тестируемые соединения вносили в 5 % ДМСО и предварительно инкубировали с ГК в термостатируемом шейкере PST-60HL (Biosan, Латвия) в течение 10 мин до достижения температурного равновесия, а затем инициировали реакцию введением 10 мкл раствора D-глюкозы [5]. За меру активности ГК принимали повышение оптической плотности при длине волны 340 нм в течение 20 мин инкубирования после начала реакции. Измерения проводили с помощью микропланшетного ридера Infinite M₂₀₀ PRO (Tecan, Австрия). В качестве положительного контроля использовали экспериментальный активатор глюкокиназы MBX-2982 [6].

Активность дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4) *in vitro*. Для оценки ингибиторной активности соединений в отношении дипептидилпептидазы-4 вносили 40 мкл плазмы крови здоровых добровольцев в 50 мкл 0,1 М трис-HCl буферного раствора (pH 8,0). В полученную смесь добавляли 10 мкл раствора исследуемого вещества заданной концентрации в трис-буферном растворе и преинкубировали при 37 °С в течение 5 мин. Затем вносили в реакционную смесь 100 мкл 1 мМ раствора субстрата дипептидилпептидазы-4 Гли-Про-*n*-нитроанилида (Sigma, США). Инкубировали при 37 °С в течение 15 мин и регистрировали образование *n*-нитроанилина по величине оптической плотности при длине волны 405 нм [7], используя микропланшетный ридер Infinite M200 PRO (Tecan, Австрия). В качестве положительного контроля использовали вилдаглиптин (Sigma, США) [8].

Антигликирующую активность соединений *in vitro* определяли по методу [9]. Реакцию гликирования белков моделировали в реакционной смеси, содержащей глюкозу (500 мМ), бычий сывороточный альбумин (БСА) (1 мг/мл), растворенные в фосфатном буферном растворе (pH 7,4). Вещества растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) (Fisher Scientific, США). В экспериментальные образцы добавляли растворы изучаемых веществ в конечной концентрации 1 мМ, в контрольные образцы — ДМСО в эквивалентном объеме. В качестве препарата сравнения использовали аминокуганидин. Образцы инкубировали при температуре

60 °C в течение 1 сут. По истечении срока инкубации на спектрофлуориметре MPF-400 (Hitachi, Япония) при длине волны возбуждения 370 нм и испускания 440 нм проводили определение специфической флуоресценции гликированного БСА. Антигликирующую активность веществ рассчитывали по отношению к показателю флуоресценции контрольных образцов.

Данные обрабатывали статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента (*T*).

Результаты и их обсуждение

Результаты проведенных экспериментальных исследований приведены в табл. 2.

Было установлено, что среди производных 3-феноксибензойной кислоты наиболее высокую PPAR γ -агонистическую активность проявило соединение **I**, активирующее данный вид ядерных рецепторов на 44,6 % ($p < 0,05$). При этом активность препарата сравнения пиоглитазона была несколько выше, однако статистической разницы между действием вещества **I** и пиоглитазона не было. Остальные вещества активности в отношении PPAR γ не продемонстрировали.

Способность активировать ГК была выявлена у соединений **I** и **IIb**, которые повышали активность данного фермента на 21,8 и 24,3 %, соответственно ($p < 0,05$), уступая при этом эталонному соединению MBX-2982 (67,7 %, $p < 0,05$). Остальные изученные производные 3-феноксибензойной кислоты в отношении ГК были неактивны.

Из изученных веществ ни одно не обладало способностью ингибировать активность дипептидилпептидазы-4.

Было показано, что соединение **I** оказывает умеренное антигликирующее действие, статистически значи-

мо ингибируя флуоресценцию гликированного БСА на 29,1 %, уступая при этом препарату сравнения аминокуганидину. Среди остальных веществ соединение **IIb** имело тенденцию снижать гликирование, тогда как оставшиеся соединения антигликирующих свойств не проявляли.

Суммируя полученные данные, можно заключить, что среди синтезированных производных 3-феноксибензойной кислоты наиболее перспективным для дальнейшего изучения является 2-цианопропил-2-овый эфир 3-феноксибензойной кислоты (соединение **I**).

Исследования проведены за счет средств гранта Российского научного фонда (проект № 14-25-00139).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ю. В. Попов, Т. К. Корчагина, В. С. Лобасенко, *Синтез, реакции и области применения*, ВолгГТУ, Волгоград (2015).
2. Н. О. Салдабол, *Пути синтеза и изыскания противоопухолевых препаратов*, Сб. науч. тр., Медгиз, Москва (1962), с. 186.
3. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Т. 1 – 2, Новая Волна, Москва (2001).
4. W. Yang, C. Rachez, L. P. Freedman, et al., *Mol. Cell. Biol.*, **20**(21), 8008 – 8017 (2000).
5. D. Salt, *Sigma quality control test procedure Enzymatic Assay of glucokinase (EC 2.7.1.2) Principle*, pp. 7 – 10.
6. T. Ohishi, S. Yoshida, *Expert Opin. Investig. Drugs*, **21**(3), 321 – 328 (2012).
7. V. Matheeußen, A.-M. Lambeir, W. Junggraithmayr, et al., *Clin. Chim. Acta*, **413**(3 – 4), 456 – 462 (2012).
8. F. X. Pi-Sunyer, A. Schweizer, D. Mills, et al., *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **76**(1), 132 – 138 (2007).
9. A. Jedsadayamata, *Naresuan Univer. J.*, **13**(2), 35 – 41 (2005).

Поступила 30.11.16

SYNTHESIS AND PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF 3-PHENOXYBENZOIC ACID DERIVATIVES

A. A. Spasov^{1*}, V. S. Lobosenko², V. A. Kosolapov¹, D. A. Babkov¹, V. A. Kuznetsova¹, O. Yu. Maika¹, Yu. V. Popov², and T. K. Korchagina²

¹ Volgograd State Medical University, Volgograd, 400131 Russia

² Volgograd State Technical University, Volgograd, 400005 Russia

* e-mail: vad-ak@mail.ru

We have synthesized a series of 3-phenoxybenzoic acid derivatives and studied their pharmacological properties. It is established that some of the synthesized substances (in particular, 2-cyanoprop-2-yl-3-phenoxybenzoic acid ester) exhibit PPAR γ agonist activity and are capable of activating glucokinase and inhibiting protein glycation. At the same time, the investigated substances did not influence the activity of dipeptidyl peptidase DPP-4.

Keywords: synthesis; 3-phenoxybenzoic acid derivatives; peroxisome proliferator activated receptor gamma; glucokinase; DPP-4; protein glycation.