

*В. Л. Гейн, Н. Н. Касимова, А. Л. Мусеев, М. А. Шептуха,
Б. Я. Сыропятов, Н. Г. Исмаилова, Э. В. Воронина, О. И. Иваненко*

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 5-АРИЛ-4-АЦИЛ-3-ГИДРОКСИ-1-(2-ГИДРОКСИЭТИЛАМИНОЭТИЛ)- 3-ПИРРОЛИН-2-ОНОВ

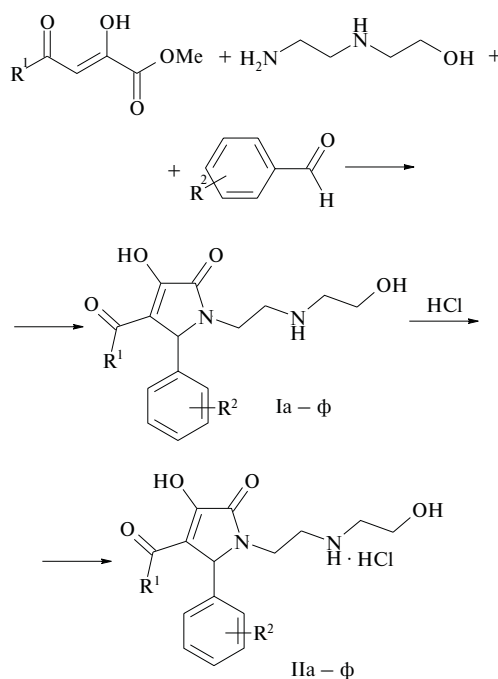
Пермская государственная фармацевтическая академия

Реакцией метиловых эфиров ацилпировиноградных кислот со смесью ароматического альдегида и N-гидроксиэтилэтилендиамина синтезированы 5-арил-4-ацил-3-гидрокси-1-(2-гидроксиэтиламиноэтил)-3-пирролин-2-оны (I), из которых получены гидрохлориды (II). Изучена антимикробная активность соединений I, а также влияние соединений I и II на свертывающую систему крови. Исследованные вещества обладают выраженным антикоагулянтным или гемостатическим действием.

Ранее было показано, что 4,5-дизамещенные 3-гидрокси-3-пирролин-2-оны обладают различными видами биологической активности: антимикробной [1], противовоспалительной [2], анальгетической [3], ноотропной [4], противовирусной [5], а также антиагрегантной [6]. На основании литературных данных можно сделать вывод о зависимости активности соединений от структуры заместителя в положении 1 гетероцикла. В то же время соединения с аминоалкильным заместителем, и в том числе их влияние на свертывающую систему крови, недостаточно изучены. В связи с этим представляло интерес синтезировать новые соединения, содержащие в положении 1 гетероцикла алкиламиноалкильный остаток, и исследовать их биологическую активность.

С этой целью нами была изучена трехкомпонентная реакция метиловых эфиров ацилпировиноградных кислот со смесью ароматических альдегидов и N-гидроксиэтилэтилендиамина. Проведенные исследования позволили установить, что при взаимодействии эквимольных количеств указанных реагентов в диоксане при комнатной температуре образуются 5-арил-4-ацил-3-гидрокси-1-(2-гидроксиэтиламиноэтил)-3-пирролин-2-оны (Ia – ф).

С целью улучшения растворимости в воде соединения IIa – в были получены в форме гидрохлоридов. Синтезированные соединения I и II представляют собой бесцветные кристаллические вещества, растворимые в воде, этаноле, диметилсульфоксиде, диметилформамиде. В ИК-спектрах соединений Ia – ф наблюдаются полосы поглощения, обусловленные валентными колебаниями карбонильной ($1613 - 1658 \text{ см}^{-1}$) и кето-лактамой ($1660 - 1718 \text{ см}^{-1}$) групп и полосы поглощения енольной гидроксильной группы, вторичной аминогруппы и спиртовой группы боковой цепи в области $3100 - 3490 \text{ см}^{-1}$. Три последних полосы уширены в результате обменных процессов, вследствие чего для большинства соединений наблюдается лишь одна или две полосы вместо трех.



$R^1 = \text{Me}$ (Ia – и), Ph (Iк – ф), 4- FC_6H_4 (IIa – в); $R^2 = 2\text{-F}$ (Ia), H (IIa, Iк), 3-F (Iб, л), 2-Cl (Iв, м), 4-Cl (Iв, м), 4-Cl (Iн), 2,4- Cl_2 (Iг, о), 4-Br (Iд, п), 4-MeO (Iе, т), 2-MeO (Iр), 3-MeO (Iс), 2,4-(MeO) $_2$ (Iж, у), 2,5-(MeO) $_2$ (Iз), 4-COOMe (Iф), 4-Et (IIб), 4-Me (II, IIв).

В ПМР-спектрах соединений Ia – ф присутствуют мультиплеты протонов метиленовых групп в положениях 1 (в области 2,60 – 3,90 м. д.), 2 и 4 (в области 2,93 – 3,18 м. д.) и 5 (3,60 – 3,88 м. д.) боковой цепи, синглет метинового протона в положении 5 гетероцикла при 5,09 – 5,84 м. д., уширенные сигналы протонов спиртовой группы боковой цепи (при 5,07 – 5,20 м. д.) и протона вторичной аминогруппы совместно с протоном енольной гидроксильной группы в положении 3 гетероцикла (при 8,30 – 9,52 м. д.; данные протоны, по-видимому, находятся в обмене), а также группа ли-

Спектральные данные соединений I и II

Соединение	R ¹	R ²	ИК-спектр, cm^{-1}						ПМР-спектр, δ , м.д.													
			OH, NH (⁻ NH ₂)	C ³ OH	CON	CO	C ³ OH, NH (⁺ NH ₂)	ArCO	Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	C ¹ H ₂		Остальные протоны						
														H _A	H _B							
Ia	Me	2-F	3410 3360	3160	1710	1652	9,48 уш.с.	7,21 (1H, кВ, C _(м) H) 7,05 (2H, т, C _(о) H, C _(н) H) 6,99 (1H, м, C _(о) H)	ArCO	Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	3,24 м 3,03 м 3,13 м	3,77 м	2,71 м	2,12 (3H, с, MeCO)				
Iб	Me	3-F	3430	3140	1707	1645	–	7,24 (1H, кВ, C _(н) H) 6,99 (1H, д, C _(о) H) 6,94 (1H, д, C _(о) H) 6,89 (1H, т, C _(о) H)		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	3,31 м 3,07 м 3,18 м	3,76 м	2,80 м	2,13 (3H, с, MeCO)				
Iв	Me	2-Cl	3400	3200	1710, 1690	1640	9,42 уш.с.	7,36 (1H, д, C _(м) H) 7,18 (2H, м) 6,85 (1H, д, C _(о) H)		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	3,29 м 3,04 м 3,14 м	3,79 м	2,60 м	2,12 (3H, с, MeCO)				
Iг	Me	2,4-Cl ₂	3400	3250	1708, 1680	1642	–	7,38 (1H, с, C _(м) H) 7,15 (1H, д, C _(м) H) 6,85 (1H, д, C _(о) H)		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	3,07 м 3,15 м	3,90 м	2,62 м	2,13 (3H, с, MeCO)				
Iд	Me	4-Br	3360 3300	3190	1698	1625	–	7,36 (2H, д, C _(м) H) 7,12 (2H, д, C _(о) H)		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	3,33 м 3,04 м 3,18 м	3,74 м	2,77 м	2,11 (3H, с, MeCO)				
Iе	Me	4-MeO		3340		1685, 1673				Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂								
Iж	Me	2,4- (MeO) ₂					8,08			Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	3,05 м 3,17 м	3,79 м	2,69 м	2,13 (3H, с, MeCO) 3,75 (3H, с, 2,4-(MeO) ₂)				
Iз	Me	2,5- (MeO) ₂		3290		1670	1615, 1630	8,30		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	6,72 (1H, м, C _(м) H) 6,51 (1H, с, C _(о) H) 6,39 (1H, д, C _(м) H)	3,81 м	3,05 м	3,76 м	2,61 м	2,11 (3H, с, MeCO) 3,69 и 3,71 (6H, с, 2,5-(MeO) ₂)		
Iи	Me	4-Me		3325		1708, 1680	1658, 1625	9,52 уш.с.		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	7,04 (2H, д, C _(о) H) 6,99 (2H, д, C _(м) H)	5,09 с	5,20 уш.с.	3,71 м	3,27 м 2,99 м 3,10 м	3,60 м	2,70 м	2,07 (3H, с, MeCO) 2,24 (3H, с, 4-Me)
Iк	Ph	H	3480 3250	3180	1689	1640	–	7,72 (2H, д) 7,25 (4H, кВ)		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	7,31 (3H, м) 7,18 (1H, т)	5,32 с	–	3,64 м	2,98 м 3,01 м	3,72 м	2,88 м	
Iл	Ph	3-F	3400 3240	3160	1691	1650	–	7,73 (2H, д) 7,28 (4H, м) 7,11 (2H, м)		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	6,97 (1H, т)	5,33 с	5,10 уш.с.	3,63 м	2,98 м 3,04 м	3,75 м	2,90 м	
Iм	Ph	2-Cl	3400 3340	3160	1690	1629, 1613	8,80 уш.с.	7,76 (2H, д) 7,38 (1H, д) 7,28 (3H, м)		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	6,18 (3H, м)	5,84 с	5,08 уш.с.	3,63 м	2,98 м 3,08 м	3,73 м	2,86 м	
Iн	Ph	4-Cl	3260	3100	1691	1649	8,80 уш.с.	7,72 (2H, д) 7,27 (7H, м)		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂		5,30 с	5,12 уш.с.	3,64 м	2,99 м 3,02 м	3,71 м	2,93 м	
Iо	Ph	2,4-Cl ₂	3340	3100	1684	1629, 1613	8,77 уш.с.	7,77 (2H, д) 7,29 (3H, м)		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	7,46 (1H, с) 7,13 (2H, м)	5,77 с	5,07 уш.с.	3,64 м	2,99 м 3,10 м	3,71 м	2,90 м	
Iп	Ph	4-Br	3490 3340	3210	1690	1633	8,80 уш.с.	7,73 (2H, д) 7,32 (1H, т)		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	7,37 (2H, д) 7,26 (4H, т)	5,30 с	–	3,64 м	2,99 м 3,03 м	3,71 м	2,93 м	
Iр	Ph	2-MeO	3430 3310	3100	1695	1644	–	7,73 (2H, д) C _(о) H) 7,32 (1H, т, C _(м) H) 7,26 (2H, т, C _(о) H)		Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	7,15 (1H, м, C _(м) H) 7,18 (1H, м, C _(м) H) 6,98 (1H, д, C _(о) H) 6,82 (1H, т, C _(м) H)	5,79 с	–	3,63 м	2,95 м 3,06 м	3,73 м	2,78 м	3,88 (3H, с, 2-MeO)

Соединение	R ¹	R ²	ИК-спектр, ν , cm^{-1}						ПМР-спектр, δ , м.д.								
			OH, NH ($^+\text{NH}_2$)	C ³ OH	CON	CO	C ³ OH, NH ($^+\text{NH}_2$)	ArCO	Ar	C ⁵ H	OH	C ⁵ H ₂	C ² H ₂ NC ⁴ H ₂	C ¹ H ₂ H _A H _B		Остальные протоны	
Ic	Ph	3-MeO	–	3130	1690, 1676	1629, 1613	8,60 уш.с.	7,77 (2H, д, C _(o) H) 7,30 (1H, т, C _(m) H) 7,25 (2H, т, C _(o) H)	7,17 (1H, т, C _(o) H) 6,86 (1H, д, C _(o) H) 6,88 (1H, с, C _(o) H) 6,75 (1H, д, C _(m) H)	5,29 с	5,13 уш.с	3,62 м	2,97 м, 3,03 м	3,73 м	2,89 м	3,74 (3H, с, 3-MeO)	
It	Ph	4-MeO	3248	3100	1680	1642	8,80 уш.с.	7,69 (2H, д) 7,27 (3H, м)	7,18 (2H, д, C _(o) H) 6,78 (2H, д, C _(m) H)	5,26 с	–	3,60 м	2,97 м	3,68 м	2,88 м	3,69 (3H, с, 4-MeO)	
Iy	Ph	2,4-(MeO) ₂	3250	3140	1690	1640, 1631	8,80 уш.с.	7,72 (2H, д, C _(o) H) 7,32 (1H, т, C _(m) H) 7,26 (2H, т, C _(o) H)	7,03 (1H, м, C _(o) H) 6,51 (1H, с, C _(m) H) 6,37 (1H, д, C _(o) H)	5,69 с	5,18 уш.с	3,62 м	2,93 м, 3,05 м	3,71 м	2,79 м	3,72 и 3,85 (6H, с, 2,4-(MeO) ₂)	
Iф	Ph	4-COO-Me	3410	3160	1679, 1692, 1730 (COO Me)	1629, 1615	8,66 уш.с.	7,42 (2H, д, C _(o) H) 7,31 (1H, т, C _(m) H) 7,26 (2H, т, C _(o) H)	7,85 (2H, д, C _(o) H) 7,71 (2H, д, C _(o) H)	5,36 с	5,17 уш.с	3,61 м	2,97 м, 3,01 м	3,73 м	2,85 м	3,82 (3H, с, MeO)	
IIa	4-F C ₆ H ₄	H	3390	3110	1690, 1660	1620	8,88 уш.с. 11,94 уш.с.	7,78 (2H, м), 7,32 (6H, м)		5,61 с	5,30 уш.с	3,65 т	3,12 м, 3,00 м	3,92 м	2,92 м		
IIб	4-F C ₆ H ₄	4-EtO	3400, 3300	3140	1685	1633	8,81 уш.с. 11,83 уш.с.	7,79 (2H, м), 7,28 (4H, м) 6,86 (2H, д)		5,54 с	5,29 уш.с	3,65 т	3,10 м, 3,00 м	3,89 м	2,92 м	3,97 (2H, кв, 4-EtO) 1,28 (3H, т, 4-EtO)	
IIв	4-F C ₆ H ₄	4-Me	3410	3100	1718	1639	8,85 уш.с. 11,82 уш.с.	7,78 (2H, м), 7,14 (2H, д)		5,56 с	5,29 уш.с	3,65 т	3,11 м, 3,00 м	3,91 м	2,92 м	2,25 (3H, с, 4-Me)	

ний ароматических протонов в области 6,18 – 7,85 м. д.

Соединения IIa – в имеют аналогичные спектры. Особенностью является наличие двух отдельных сигналов протонированной вторичной аминогруппы (при 8,81 – 8,85 м. д.) и енольной гидроксильной группы (при 11,82 – 11,94 м. д.). Данные ИК- и ПМР-спектров приведены в табл. 1.

В масс-спектрах соединений IIв, ж, о, п имеется пик молекулярного иона и пики фрагментных ионов, подтверждающие указанную структуру. Все синтезированные соединения I и II дают положительную реакцию на енольную гидроксильную группу, что наряду со спектральными данными указывает на существование их в енольной форме.

Экспериментальная химическая часть

ПМР-спектры сняты на приборе Bruker DRX 500 (рабочая частота 500,13 МГц) в ДМСO-d₆, внутренний стандарт — гексаметилдисилоксан. ИК-спектры записаны на приборе SPECORD-80 в вазелиновом масле. Масс-спектры получены на приборе FINNIGAN MAT. INCOS 50 с энергией ионизирующего излучения 70 эВ.

Данные элементного анализа соответствуют брутто-формулам.

5-Арил-4-ацил-3-гидрокси-1-(2-гидроксиэтиламиноэтил)-3-пирролин-2-оны (Ia – ф). Общая методика. К раствору 0,01 моль ароматического альдегида и 0,01 моль метилового эфира ацилпировиноградной кислоты в 5 мл 1,4-диоксана при комнатной температуре добавляют раствор 0,01 моль N-гидроксиэтилэтилендиамин в 5 мл 1,4-диоксана и выдерживают при той же температуре 1 сут. Образовавшийся осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают (табл. 2).

Гидрохлориды 5-арил-3-гидрокси-1-(2-гидроксиэтиламиноэтил)-4-фторбензоил-3-пирролин-2-онов (IIa – в). Общая методика. Основания получают аналогично соединениям (Ia – ф). Неочищенный продукт помещают в выпарительную чашку, добавляют 30 мл концентрированной хлороводородной кислоты и упаривают на водяной бане досуха, остаток перекристаллизовывают (табл. 2).

Экспериментальная биологическая часть

Антимикробную активность соединений (Ia – ф) в отношении *St. aureus* и *E. coli* определяли по методу стандартных серийных разведений в мясopептонном бульоне (МПБ) [7]. За действующую дозу принимали минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) в мкг/мл, т. е. ту, которая задерживала рост соответствующего микроорганизма.

Таблица 2

Физико-химические характеристики соединений I и II

Соединение	Выход, %	Т.пл., °С (растворитель)	Брутто-формула
Ia	28	242 – 244 (этанол-диэтиловый эфир)	C ₁₆ H ₁₉ FN ₂ O ₄
Iб	34	208 – 210 (этанол)	C ₁₆ H ₁₉ FN ₂ O ₄
Iв	30	212 – 214 (этанол)	C ₁₆ H ₁₉ ClN ₂ O ₄
Iг	38	198 – 200 (1,4-диоксан)	C ₁₆ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₄
Iд	39	246 – 248 (этанол)	C ₁₆ H ₁₉ BrN ₂ O ₄
Iе	93	178 – 180 (этанол)	C ₁₇ H ₂₂ N ₂ O ₅
Iж	41	163 – 165 (этанол)	C ₁₈ H ₂₄ N ₂ O ₆
Iз	43	184 – 186 (этанол)	C ₁₈ H ₂₄ N ₂ O ₆
Iи	38	193 – 195 (этанол)	C ₁₇ H ₂₂ N ₂ O ₄
Iк	82	238 – 240 (этанол)	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₄
Лл	83	245 – 246 (этанол)	C ₂₁ H ₂₁ FN ₂ O ₄
Им	67	225 – 226 (этанол)	C ₂₁ H ₂₁ ClN ₂ O ₄
Ин	86	234 – 236 (этанол)	C ₂₁ H ₂₁ ClN ₂ O ₄
Ию	62	229 – 230 (этанол)	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ N ₂ O ₄
Ип	72	214 – 215 (этанол)	C ₂₁ H ₂₁ BrN ₂ O ₄
Ир	73	212 – 214 (этанол)	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₅
Ис	81	211 – 212 (этанол)	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₅
Ит	62	229 – 231 (этанол)	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₅
Иу	47	210 – 212 (изопропанол)	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₆
Иф	86	226 – 228 (этанол)	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₆
Па	68	214 – 216 (этанол)	C ₂₁ H ₂₂ ClFN ₂ O ₄
Пб	56	211 – 212 (этанол)	C ₂₃ H ₂₆ ClFN ₂ O ₅
Пв	70	212 – 214 (этанол)	C ₂₂ H ₂₄ ClFN ₂ O ₄

Влияние на свертывающую систему крови. Соединения Iв, г, з, т и Па – в изучали с помощью коагулометра “Минилаб 701”. Для исследования использовали цитратную (3,8 %) кровь (9:1) собаки. Влияние соединений на свертывание крови изучали в одинаковой концентрации 1 мг/мл. В качестве препаратов сравнения использовали гепарин (1 ЕД/мл) и этамзилат (1 мг/мл).

Установлено, что изученные соединения обладают слабой антимикробной активностью. Для соединения Iд МИК составляет 500 мкг/мл, для остальных — 1000 мкг/мл в отношении обоих тест-микробов.

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF 4-ACYL-5-ARYL-3-HYDROXY-1-(2-HYDROXYETHYLAMINOETHYL)-3-PYRROLINE-2-ONES

V. L. Gein, N. N. Kasimova, A. L. Moiseev, M. A. Sheptucha, B. Ya. Syropyatov, N. G. Ismailova, E. V. Voronina, and O. I. Ivanenko

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

A series of 4-acyl-5-aryl-3-hydroxy-1-(2-hydroxyethylaminoethyl)-3-pyrroline-2-ones (I) and their hydrochlorides (II) were synthesized via reactions of methyl esters of acylpyruvic acids with a mixture of aromatic aldehyde and N-hydroxyethylethylenediamine. The antibacterial activity of compounds I and the influence of compounds I and II on blood coagulation were studied. All compounds demonstrate pronounced anticoagulant or hemostatic action.

Таблица 3

Влияние соединений I и II на свертывающую систему крови

Соединение	n	Время свертывания, с		% изменения свертываемости	P
		контроль	опыт		
Iв	8	27,6 ± 1,63	22,0 ± 0,68	+20,3	<0,01
Iг	8	31,2 ± 1,20	38,3 ± 2,18	-22,8	<0,02
Iз	8	31,6 ± 1,76	24,9 ± 0,96	+21,3	<0,01
Iе	8	39,0 ± 1,67	29,7 ± 1,30	+23,8	<0,001
Па	8	41,7 ± 1,91	33,6 ± 1,28	+19,4	<0,02
Пб	8	14,2 ± 1,11	35,1 ± 5,29	+20,6	<0,01
Пв	8	48,3 ± 2,69	39,9 ± 1,88	+17,4	<0,05
Этамзилат	8	28,9 ± 1,11	24,5 ± 0,94	+15,2	<0,01
Гепарин	8	29,9 ± 0,48	36,6 ± 1,82	-22,4	<0,01

Как видно из данных, приведенных в табл. 3, среди изученных веществ только соединение Iг оказывает антикоагулянтное действие, сопоставимое с таковым гепарина. Остальные соединения I и II повышают свертываемость крови и по гемостатическому действию не уступают этамзилату.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 04-03-96042.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Л. Гейн, Н. Н. Касимова, Э. В. Воронина и др., *Хим.-фарм. журн.*, **35**(3), 31 – 34 (2001).
2. В. Л. Гейн, А. В. Попов, В. Э. Колла и др., *Хим.-фарм. журн.*, **27**(5), 42 – 45 (1993).
3. В. Л. Гейн, Л. Ф. Гейн, Н. Ю. Порсева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **31**(5), 33 – 36 (1997).
4. В. Л. Гейн, Л. Ф. Гейн, Н. Ю. Порсева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **32**(9), 23 – 25 (1998).
5. В. Л. Гейн, Е. В. Шумиловских, Ю. С. Андрейчиков и др., *Хим.-фарм. журн.*, **25**(12), 37 – 40 (1991).
6. И. Н. Аникина, *Дис. канд. хим. наук*, Пермь (1985), сс. 186 – 187.
7. Г. Н. Першин, *Методы экспериментальной химиотерапии*, Медицина, Москва (1971), сс. 109 – 117.

Поступила 30.06.05