

© Коллектив авторов, 2014

Н. А. Пулина, Ф. В. Собин, Т. А. Юшкова, Т. Ф. Одегова, А. И. Краснова

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,3-БЕНЗОТИАЗОЛА

ГБОУ ВПО "Пермская государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации", Пермь, Пермский край, Россия

Синтезированы 2-бензотиазолиламиды 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых и 4-арил-3-бром-2,4-диоксобутановых кислот, а также комплексные соединения марганца, кобальта, меди. Изучена их гипогликемическая и антимикробная активность. Обнаружены вещества, сопоставимые и превышающие активность препаратов сравнения с низкой токсичностью.

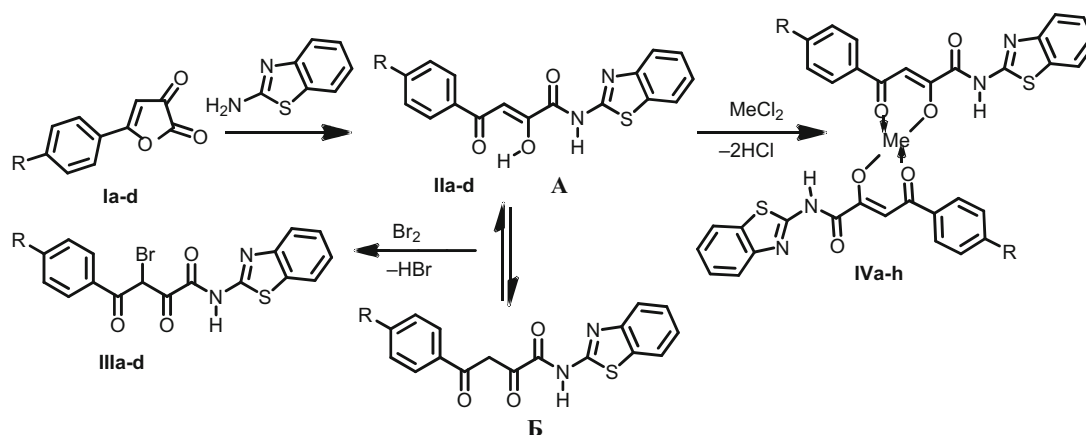
Ключевые слова: 2-бензотиазолиламиды 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых и 4-арил-3-бром-2,4-диоксобутановых кислот; комплексные соединения; гипогликемическая и антимикробная активность.

Проведенный ранее фармакологический скрининг гетариламидов 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых (ароилпировиноградных) кислот и их производных позволил обнаружить перспективные соединения с высокой биологической активностью при низкой токсичности. Нами установлено, что введение в структуру гетариламидов ароилпировиноградных кислот атома галогена, а также синтез на их основе металлокомплексных соединений способно существенно изменить выраженность фармакологического эффекта [1–4]. Практический интерес представляет включение в исходную матрицу ароилпировиноградного потенциально биологически активного фрагмента 1,3-бензотиазола. Имеются сведения, что соединения, содержащие данный гетероцикл, проявляют антимикробную, противоопухолевую, гипогликемическую, противопаркинсоническую и другие виды активности [5–9].

В продолжение исследований с целью поиска новых биологически активных веществ дециклизацией

5-арилфуран-2,3-дионов (Ia–г) под действием 2-амино-1,3-бензотиазола в среде безводного хлороформа при температуре 20–25 °С нами получены соответствующие 2-бензотиазолиламиды 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот (IIa–d) (см. схему). Дальнейшее бромирование амидов II осуществлено также в среде безводного хлороформа при эквимолярном соотношении реагентов с выделением 2-бензотиазолиламидов 4-арил-3-бром-2,4-диоксобутановых кислот (IIIa–d). Бис{3-арил-1-[2-(1,3-бензотиазолил)]-карбоксамидо-1,3-пропандионато}марганец (IVa, b), медь (IVc–e), -кобальт (IVf–h) получены при соотношении лиганд — металл 2:1 и температуре 20–25 °С в среде этилового спирта или смеси этиловый спирт — бутиловый спирт (1:0,5).

Соединения II, III представляют собой бесцветные, светло-желтые или желтые кристаллические вещества, растворимые в толуоле, диоксане, трудно растворимые в алканах, нерастворимые в воде. Хелаты IV —



I, II, III: R = H (a), CH₃ (b), CH₃O (c), Cl (d). IV: Me = Mn²⁺, R = H (a), CH₃O (b); Me = Co²⁺, R = H (c), CH₃O (d), Cl (e); Me = Cu²⁺, R = H (f), CH₃O (g), Cl (h).

Т а б л и ц а 1
Физико-химические характеристики соединений II – IV

Соединение	Выход, %	Т. пл., °С	Молек. масса	Брутто-формула
IIa	85	212 – 214	324,35	C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₃ S
IIb	83	204 – 206	338,38	C ₁₈ H ₁₄ N ₂ O ₃ S
IIc	91	203 – 205	354,38	C ₁₈ H ₁₄ N ₂ O ₄ S
IId	95	210 – 212	358,80	C ₁₇ H ₁₁ ClN ₂ O ₃ S
IIIa	88	134 – 136	403,25	C ₁₇ H ₁₁ BrN ₂ O ₃ S
IIIb	70	120 – 122	417,28	C ₁₈ H ₁₃ BrN ₂ O ₃ S
IIIc	61	123 – 125	433,28	C ₁₈ H ₁₃ BrN ₂ O ₄ S
IIId	83	138 – 140	437,70	C ₁₇ H ₁₀ BrClN ₂ O ₃ S
IVa	46	240 – 242	701,63	C ₃₄ H ₂₂ N ₄ O ₆ S ₂ Mn
IVb	52	248 – 250	761,68	C ₃₆ H ₂₆ N ₄ O ₈ S ₂ Mn
IVc	69	252 – 254	705,62	C ₃₄ H ₂₂ N ₄ O ₆ S ₂ Co
IVd	56	285 – 287	765,68	C ₃₆ H ₂₆ N ₄ O ₈ S ₂ Co
IVe	76	295 – 297	774,52	C ₃₄ H ₂₀ Cl ₂ N ₄ O ₆ S ₂ Cu
IVf	65	304 – 306	710,24	C ₃₄ H ₂₂ N ₄ O ₆ S ₂ Cu
IVg	70	307 – 309	770,29	C ₃₆ H ₂₆ N ₄ O ₈ S ₂ Cu
IVh	66	298 – 300	779,13	C ₃₄ H ₂₀ Cl ₂ N ₄ O ₆ S ₂ Cu

желтые, оранжевые или зеленые высокоплавкие кристаллические вещества, растворимые в ДМСО и ДМФА, малорастворимые в обычных органических растворителях. Индивидуальные физико-химические характеристики полученных соединений II – IV приведены в табл. 1.

Строение синтезированных соединений доказано данными ИК-, ЯМР ¹H, масс-спектров (табл. 2, 3).

В ИК-спектрах хелатов IVa – h полоса поглощения карбонильных групп C⁴=O смещена в область низших частот на 10 – 15 см⁻¹, по сравнению с исходными соединениями II, что подтверждает участие этих групп в образовании более прочной координационной связи хелатного типа и соответствует литературным данным комплексных соединений на основе гетариламидов ароиллирвиноградных кислот [2, 3]. Результаты масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой

свидетельствует о том, что гетариламида II координируются металлами как бидентатные лиганды.

В спектрах ЯМР ¹H соединений IIa – d присутствует синглет винильного протона при 6,95 – 6,99 м.д., группа сигналов ароматических протонов при 7,04 – 8,55 м.д., на которую накладывается синглет протона NH-группы. Кроме того, в спектрах ЯМР ¹H соединений IIa – c присутствует синглет двух протонов метиленовой группы β-углеродного атома при 4,55 – 4,62 м.д. В спектрах ЯМР ¹H соединений IIIa – d, кроме сигналов ароматических протонов, обнаруживается синглет протона C³H-группы при 6,87 – 7,06 м.д., а также синглет протона NH-группы при 8,54 – 8,73 м.д. Таким образом, соединения IIa – c в растворе ДМСО-d₆ присутствуют в виде кетоенольной (А) и β-дикетонной (Б) форм с преобладанием таутомера А. Гетариламида IIIa-g существуют в твердом состоянии и в растворе ДМСО-d₆ в β-дикетоформе, что согласуется с литературными данными родственных структур [1, 4].

Экспериментальная химическая часть

ИК-спектры записаны на приборе ФСМ-1201 в виде пасты в вазелиновом масле. Спектры ЯМР ¹H записаны на приборе ЯМР Mercury plus (300 МГц), внутренний стандарт — ГМДС, растворитель ДМСО-d₆. Масс-спектры соединений сняты на хромато-масс-спектрометре Hewlett Packard 5973/6890. Спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой проведена на приборе Optima 2000 (USA). Химическую чистоту соединений и протекание реакции контролировали методом ТСХ на пластинках “Sorbfil” тип ПТСХ-АФ-УФ в системе эфир — бензол — ацетон, 10:9:1, пятна детектировали парами йода. Данные элементного анализа и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой синтезированных веществ соответствуют вычисленным значениям.

Данные ИК-спектров соединений II – IV

Таблица 2

Соединение	ИК-спектр, ν, см ⁻¹
IIa	1585, 1630 (C ⁴ =O, C=N, C=C), 1700 (CONH), 3225 (NHCO)
IIb	1580, 1615 (C ⁴ =O, C=N, C=C), 1695 (CONH), 3290 (NHCO)
IIc	1595, 1620 (C ⁴ =O, C=N, C=C), 1695 (CONH), 3250 (NHCO)
IId	1610, 1640 (C ⁴ =O, C=N, C=C), 1710 (CONH), 3280 (NHCO)
IIIa	1650, 1680, 1720, 1750 (C ² =O, C ⁴ =O, NHCO, C=N, C=C), 3210 (NHCOш)
IIIb	1640, 1695, 1725, 1755 (C ² =O, C ⁴ =O, NHCO, C=N, C=C), 3250 (NHCOш)
IIIc	1640, 1680, 1720, 1750 (C ² =O, C ⁴ =O, NHCO, C=N, C=C), 3290 (NHCOш)
IIId	1630, 1680, 1720, 1750 (C ² =O, C ⁴ =O, NHCO, C=N, C=C), 3250 (NHCOш)
IVa	1595, 1640 (C ⁴ =O, C=N, C=C), 1695 (CONH), 3260 (NHCO)
IVb	1610, 1635 (C ⁴ =O, C=N, C=C), 1700 (CONH), 3370 (NHCO)
IVc	1610, 1635 (C ⁴ =O, C=N, C=C), 1700 (CONH), 3260 (NHCO)
IVd	1600, 1615 (C ⁴ =O, C=N, C=C), 1700 (CONH), 3290 (NHCO)
IVe	1602, 1630 (C ⁴ =O, C=N, C=C), 1695 (CONH), 3305 (NHCO)
IVf	1575, 1625 (C ⁴ =O, C=N, C=C), 1700 (CONH), 3300 (NHCO)
IVg	1530, 1590 (C ⁴ =O, C=N, C=C), 1695 (CONH), 3300 (NHCO)
IVh	1600, 1615 (C ⁴ =O, C=N, C=C), 1695 (CONH), 3305 (NHCO)

Таблица 3

Данные ЯМР ¹H спектров соединений II, III

Соединение	Спектры ЯМР ¹ H, δ, м.д.
IIa	A: 6,95 (с, 1H, CH), 7,05 – 8,55 (м, 10H, C ₆ H ₅ , C ₆ H ₄ , NH) (90 %), B: 4,55 (с, 2H, CH ₂) (10 %)
IIb	A: 2,38 (с, 3H, CH ₃), 6,99 (с, 1H, CH), 7,11 – 8,33 (м, 9H, 2C ₆ H ₄ , NH) (88 %), B: 4,62 (с, 2H, CH ₂) (12 %)
IIc	A: 3,84 (с, 3H, CH ₃ O), 6,99 (с, 1H, CH), 7,04 – 8,38 (м, 9H, 2C ₆ H ₄ , NH), (84 %), B: 4,59 (с, 2H, CH ₂) (16 %)
IIд	A: 6,99 (с, 1H, CH), 7,19 – 8,46 (м, 9H, 2C ₆ H ₄ , NH) (100 %)
IIIa	6,96 (с, 1H, C ³ H), 7,11 – 7,99 (м, 9H, C ₆ H ₅ , C ₆ H ₄), 8,54 (с, 1H, NH)
IIIb	2,39 (с, 3H, CH ₃), 6,87 (с, 1H, C ³ H), 7,18 – 8,03 (м, 8H, 2C ₆ H ₄), 8,67 (с, 1H, NH)
IIIc	3,76 (с, 3H, CH ₃ O), 7,06 (с, 1H, C ³ H), 7,12 – 7,97 (м, 8H, 2C ₆ H ₄), 8,73 (с, 1H, NH)
IIIд	7,02 (с, 1H, C ³ H), 7,03 – 8,02 (м, 8H, 2C ₆ H ₄), 8,63 (с, 1H, NH)

Металлокомплексы IVa-h получены по методикам, описанным в работах [2, 3].

2-Бензотиазолиламид 4-(4-хлорфенил)-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновой кислоты (IIд). К раствору 2,09 г (0,01 моль) 2-аминобензотиазола в 25 мл безводного хлороформа прибавляют раствор 2,09 г (0,01 моль) 5-(4-хлорфенил)-2,3-фурандиона (Id) в 25 мл безводного хлороформа, реакционную смесь перемешивают 30 мин при температуре 20 – 25 °C и оставляют на 12 ч. Выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этилацетата. Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн}): 359 (10), 291/289 (15), 157/155 (12), 141/139 (100), 135 (25), 113/111 (38).

Соединения IIa – с получают аналогично.

2-Бензотиазолиламид 4-арил-3-бром-2,4-диоксо-бутановой кислоты (IIIa). К суспензии 0,61 г (0,01 моль) 2-бензотиазолиламида 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновой кислоты (IIa) в 40 мл безводного хлороформа прикапывают при перемешивании 1,59 г (0,01 моль) брома. После полного растворения реагентов реакционную смесь охлаждают до 5 – 0 °C, осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из диоксана.

Соединения IIIb – d получают аналогично.

Экспериментальная биологическая часть

Острую токсичность активных соединений IIд, IIIc и IVд изучали на белых нелинейных мышах (самцах) массой 18 – 22 г с определением LD₅₀ по методу Першина Г. Н. Каждое соединение испытывали на 6 животных. Соединения вводили перорально в виде взвеси в 2 % крахмальном растворе однократно, после чего животные находились под наблюдением в течение 14 дней. Контрольным животным вводили эквивалентное количество 2 % крахмального раствора [10].

Гипогликемическая активность изучена на модели аллоксанового диабета [11]. Опыты выполнены на 102 белых нелинейных крысах обоего пола массой 200 – 240 г. Животных лишали пищи за 16 ч до опыта

и на время его проведения. Экспериментальную гипергликемию моделировали внутрибрюшинным введением аллоксана тригидрата (“AlfaAesar[®]”) в дозе 170 мг/кг. В опыт брали животных, у которых развивалась острая гипергликемия через 72 ч после введения диабетогена. Критерием включения животных в эксперимент служил уровень глюкозы в крови в пределах 14 – 18 ммоль/л. Изучаемые соединения вводили перорально крысам с аллоксановым сахарным диабетом в дозе 50 мг/кг в виде взвеси в 2 % крахмальном растворе. Концентрацию глюкозы в крови животных определяли глюкозооксидазным методом с использованием набора “Фотоглюкоза” (ООО “Импакт”) до введения исследуемых веществ и через 120 мин после начала эксперимента. Степень гипогликемической активности соединений сравнивали с активностью субстанции метформина гидрохлорида (ОАО “Фармакон”) в дозе 50 мг/кг. Результаты фармакологических испытаний обработаны статистически с помощью программ Windows XP (Excel) и представлены в табл. 4.

Противомикробную активность синтезированных соединений по отношению к тест-культурам микроорганизмов *St. aureus* ATCC 6538-P и *E. coli* ATCC 25922 определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде. Микробная нагрузка составила 2,5 × 10⁵ микробных тел/мл. Учет результа-

Таблица 4

Биологическая активность соединений II – IV

Соединение	Уровень гликемии, мМоль/л		% торможения гипергликемии через 120 мин	МИК, мкг/мл <i>St. aureus/E. coli</i>
	0 мин	через 120 мин		
IIa	15,1 ± 1,87	8,68 ± 0,87	42,5 ± 2,3 ^{***1*2}	62,0/62,0
IIb	17,23 ± 3,11	15,21 ± 1,27	11,7 ± 2,8 ^{*1***2}	62,0/500
IIc	14,27 ± 0,92	11,07 ± 0,86	22,4 ± 1,6 ^{***1***2}	31,0/31,0
IIд	17,03 ± 3,34	11,97 ± 2,57	29,7 ± 3,7 ^{***1***2}	2,0/3,9
IIIa	15,74 ± 0,81	7,98 ± 0,51	49,3 ± 1,3 ^{***1}	125/125
IIIb	14,96 ± 1,45	7,66 ± 0,88	48,8 ± 2,0 ^{***1}	250/250
IIIc	16,32 ± 1,88	6,92 ± 0,96	57,6 ± 2,6 ^{***1}	62,0/62,0
IIIд	17,06 ± 2,47	12,5 ± 1,73	26,7 ± 5,8 ^{*1***2}	7,8/31,0
IVa	15,93 ± 2,39	8,95 ± 2,87	43,8 ± 7,4 ^{***1}	125/125
IVb	16,87 ± 1,92	9,87 ± 0,96	41,5 ± 2,3 ^{***1*2}	250/250
IVc	17,83 ± 2,34	11,11 ± 1,37	37,7 ± 4,4 ^{***1*2}	500/500
IVd	15,91 ± 2,02	8,23 ± 1,81	48,3 ± 3,8 ^{***1}	250/250
IVe	16,16 ± 1,45	13,99 ± 0,88	13,4 ± 2,8 ^{*1***2}	500/500
IVf	15,32 ± 1,91	11,45 ± 1,62	25,3 ± 1,7 ^{***1}	250/250
IVg	13,86 ± 1,11	11,03 ± 2,15	20,4 ± 3,6 ^{*1***2}	250/250
IVh	14,79 ± 1,52	13,49 ± 1,41	8,8 ± 2,3 ^{***2}	500/500
Контроль	16,15 ± 0,65	15,59 ± 0,79	3,7 ± 0,9 ^{***2}	-
Метформин	16,65 ± 0,26	7,58 ± 0,64	54,5 ± 2,9 ^{***1}	-
Хлоргексидин	-	-	-	125/125
Диоксидин	-	-	-	62,0/62,0

Примечание: * = *p* < 0,05, ** = *p* < 0,01, *** = *p* < 0,001;

¹ — по отношению к контролю (аллоксановый диабет), ² — по отношению к метформину.

тов проводили через 18 – 20 ч термостатирования при температуре 37 °С. Для всех исследуемых соединений определяли минимальные ингибирующие концентрации (МИК) в мкг/мл [11]. В качестве растворителя соединений использовали ДМФА, препаратами сравнения служили хлоргексидин и диоксидин (см. табл. 4).

Исследование острой токсичности соединений II_d, III_c и IV_d показало, что LD₅₀ составляет для них соответственно 5800, 3800, 4300 мг/кг и, согласно классификации опасности химической продукции, вещества могут быть отнесены к 5 классу опасности [12].

Нами обнаружены 4 соединения, сопоставимые по активности с метформин (III_a – с, IV_d). Выявлено, что наибольшую гипогликемическую активность проявляют бромированные производные III, в частности, гетариламид III_c. Отмечено, что при введении в арильный фрагмент электроноакцепторного заместителя у соединения III_d наблюдается снижение изучаемого эффекта в 2 раза. В ряду исходных соединений II и хелатов IV высокую активность показали амид II_a и кобальтовый хелат IV_d, при этом значительного влияния природы заместителя в арильном радикале не обнаружено. Также выраженная сахароснижающая активность отмечена у марганцевых производных IV_a, b, что, возможно, обусловлено проинсулиногенным характером эссенциального металла.

Скрининг антибактериальной активности выявил, что исходные соединения II проявляют более выраженное действие, чем продукты их модификации III, IV. При этом наиболее активен амид II_d, содержащий электроноакцепторный заместитель в арильном фрагменте кислоты, превышающий по силе действия диоксидин в 31 и 16 раз соответственно для *St. aureus* и *E. coli*. При переходе к его бромированному производному III_d происходит снижение активности, однако изу-

чаемый эффект соединения выше показателей препаратов сравнения.

Данные фармакологического скрининга свидетельствуют о перспективности поиска соединений, обладающих антибактериальной активностью в ряду гетариламидов II, а веществ с гипогликемическим действием среди бромированных производных III и комплексных соединений IV.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 11-03-00882-а).

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. А. Пулина, В. В. Залесов, В. В. Юшков и др., *Вопр. биол., мед. и фарм. химии*, **2**, 37 – 40 (2008).
2. Н. А. Пулина, Ф. В. Собин, Т. Ф. Одегова и др., *Вопр. биол., мед. и фарм. химии*, **10**, 40 – 43 (2010).
3. Н. А. Пулина, Ф. В. Собин, А. И. Краснова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **45**(5), 18 – 21 (2011); *Pharm. Chem. J.*, **45**(5), 275 – 278 (2011).
4. Н. А. Пулина, А. И. Краснова, Ф. В. Собин и др., *Бюл. сиб. мед.*, **5**(10), 86 – 89 (2011).
5. S. Zoccolella, E. Beghi, G. Palagano, et al., *Eur. J. Neurology*, **14**, 262 – 268 (2007).
6. N. Yasui, K. Sekiguchi, H. Hamaguchi, et al, *Kobe J. Med. Sci.*, **56**(5), 214 – 219 (2010).
7. P. Xiang, T. Zhou, L. Wang, et al., *Molecules*, **17**, 873 – 883 (2012).
8. M. Chaudhary, D. Pareek, P. K. Pareek, et al., *Bul. Korean Chem. Soc.*, **32**(1), 131 – 136 (2011).
9. G. Mariappan, P. Prabhat, L. Sutharson, et al., *J. Korean Chem. Soc.*, **56**(2), 251 – 256 (2012).
10. Р. У. Хабриев (ред.), *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Медицина, Москва (2005).
11. И. А. Волчегорский, Л. М. Рассохина, И. Ю. Мирошниченко, *Пробл. эндокринолог.*, **54**(5), 43 – 49 (2008).
12. А. А. Юрасова, А. С. Макарова, Д. О. Скобелев, *Токсикол. вест.*, **1**, 2 – 10 (2011).

Поступила 22.02.12

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF NEW 1,3-BENZOTHIAZOLE DERIVATIVES

N. A. Pulina, F. V. Sobin, T. A. Yushkova, T. F. Odegova, and A. I. Krasnova

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, 614000 Russia

A series of 2-benzothiazolylamides of 4-aryl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic and 4-aryl-3-bromo-2,4-dioxobutanoic acids as well as complex compounds of manganese, cobalt and copper have been synthesized and their hypoglycemic and antimicrobial activity has been studied. Some low-toxicity substances with the activity comparable with or greater than that of the reference drugs are revealed.

Keywords: 2-benzothiazolylamides of 4-aryl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic and 4-aryl-3-bromo-2,4-dioxobutanoic acids; complex compounds; hypoglycemic activity; antimicrobial activity