

## ЛИТЕРАТУРА

- Беленький, М.А. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. А. Беленький. – Л.: Медгиз, 1963.
- Биоритмологический подход к оценке принудительного плавания как экспериментальной модели «депрессивного» состояния / Е.В. Щетинин [и др.] // Журнал высшей нервной деятельности. – 1989. – № 5. – С.958-964.
- Валеева, Л.А. Антидепрессивные свойства гидразида 2-[1,3-диметил-7-(тиетанил-3)ксантинил-8-тио]уксусной кислоты / Л.А. Валеева, Г.Г. Давлятова, Ф.А. Халиуллин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017. – Т.80, №12. – С.9-11.
- Гланц, С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
- Изучение нейропсихофармакологических эффектов нового производного глутаминовой кислоты соединения РГПУ-197 / В.В. Багметова [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2012. – Т.10, № 1. – С.54-59.
- Котов, А.М. Антидепрессанты в кардиологии / А.М. Котов, А.Д. Стоцкий, Д.Б. Колесников // Клиническая медицина. – 2012. – № 10. – С. 11-16.
- Муратаев, Д.З. Синтез и строение илиденгидразидов 2-[3-метил-7-(тиетанил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты / Д.З. Муратаев, Ю. В. Шабалина, Ф. А. Халиуллин // Башкирский химический журнал. – 2012. – Т. 19, № 1. – С. 220-222.
- Программа для ЭВМ Braintest / Р.А. Габидуллин, И.Л. Никитина, О.А. Иванова, Е.К. Алёхин // Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2008610170.
- Рачин, А.П. Депрессивные и тревожные расстройства / А.П. Рачин, Е.В. Михайлова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 104 с.
- Шимановский, Н.Л. Молекулярная и нанофармакология / Н.Л. Шимановский, М.А. Епинетов, М.Я. Мельников. – М.: Физико-математическая литература, 2010. – 624 с.
- The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice / Steru L., Chermat R., Thierry B. [et al.] // Psychopharmacology (Berl.). – 1985. – Vol. 85. – № 3. – P.367-370.

## REFERENCES

- Belen'kij, M. A. Elementy kolichestvennoj ocenki farmakologicheskogo effekta (Elements of quantitative assessment of pharmacological effect). Leningrad, Medgiz, 1963, 151 p. (In Russ)
- Shchetinina E.V. et al. Chrono-biological approach to forced swimming test as a model of behavioural depression. L.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity, 1989, № 5, p. 958-964. (In Russ)
- Valeeva L.A., Davlyatova G.G., Haliullin F.A. Antidepressant properties of 2-[1,3-dimethyl-7-(thietanyl-3)xanthinyl-8-thio]acetic acid hydrazides. Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya, 2017, vol. 80, № 12, p. 9-11. (In Russ)
- Glanc S. Mediko-biologicheskaya statistika (Medical and biological statistics). Moscow, Praktika, 1998, 459 p. (In Russ)
- Bagmetova V.V. et al. The study of the neuropsychopharmacological effects of the new derivative of glutamic acid, the rgpu-197 compound. Reviews on clinical pharmacology and drug therapy, 2012, vol.10, № 1, p.54-59. (In Russ)
- Kotov A.M., Stockij A.D., Kolesnikov D.B. Antidepressants in cardiology. Clinical Medicine, 2012, № 10, p. 11-16. (In Russ)
- Murataev D.Z., Shabalina YU. V., Khalilullin F. A. Synthesis and structure of ylidenehydrazides of 2-[1-ethyl-3-methyl-7-(thietanyl-3)xanthinyl-8-thio]acetic acid. Bashkortostan Medical Journal. 2012, № 19 (1), p. 220-222. (In Russ)
- Gabidullin R.A., Nikitina I.L., Ivanova O.A., Alyohin E.K. Braintest computer program. Svidetel'stvo o gosudarstvennoj registracii programmy dlya EHVM № 2008610170. (In Russ)
- Rachin A.P., Mihajlova E.V. Depressivnye i trevozhnye sostoyaniya (Depressive and anxiety disorders). M.: GEHOTAR-Media, 2010, 103 s. (In Russ)
- Shimanovskij N.L., Epinetov M.A., Mel'nikov M.YA. Molekulyarnaya i nanofarmakologiya (Molecular and nanopharmacology). Moscow, Fiziko-matematicheskaya literatura, 2010, 624 p. (In Russ)
- Steru L., Chermat R., Thierry B. et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. Psychopharmacology (Berl.). 1985, Vol. 85, № 3, P. 367-370. (In Eng)

УДК 547-327: 615.31: 615.33

© Коллектив авторов, 2018

## А.Ф. Газизова, Е.Р. Курбатов, А.А. Бобылева, А.А Курбатова, Н.В. Дозморова ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЗАМЕЩЕННЫХ ГИДРАЗИДОВ-НН-2-МЕТОКСИБЕНЗОИЛ-5- ЙОДАНТРАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»  
Минздрава России, г. Пермь

Интересным и перспективным классом соединений в области синтеза являются производные антраниловой кислоты, которые стали известными благодаря наличию широкого спектра фармакологической активности.

Реакцией конденсации гидразида НН-2-метоксибензоил-5-йодантраниловой кислоты с ароматическими альдегидами в среде этанола в присутствии хлороводородной кислоты при перемешивании в течение часа при температуре 18-20°C были получены соответствующие R-бензилиденгидразиды. Чистоту полученных продуктов контролировали с помощью хроматографии в тонком слое (ТСХ). Структура соединений подтверждена методом ЯМР 1Н – спектроскопии.

У полученных новых соединений исследована противомикробная и противогрибковая активности. По результатам исследования установлено, что полученные вещества проявляют угнетающее действие на рост бактериальных и грибковых культур в концентрации 1000 мкг/мл.

**Ключевые слова:** синтез, 5-йодантраниловая кислота, противомикробная активность, противогрибковая активность.

## A.F. Gazizova, E.R. Kurbatov, A.A. Bobyleva, A.A. Kurbatova, N.V. Dozmorova OBTAINING AND INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF SUBSTITUTED HYDRAZIDES-NH-2-METOXYBENZOYL-5-IODANTRANYLIC ACID

Derivatives of anthranilic acid, which became known as representatives of a wide range of pharmacological activities, are an interesting and promising class of compounds in the field of synthesis.

R-benzylidenhydrazides were obtained by the reaction of condensation of hydrazide NH-2-methoxybenzoyl-5-iodoanthranilic acid with aromatic aldehydes in the ethanol medium in the presence of hydrochloric acid under stirring for 1 hour at a temperature of 18-20°C. Purity of the obtained products was controlled by TLC. The structure of the compounds was confirmed by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy.

Antimicrobial and antifungal activities were investigated in the obtained new compounds. According to results of the study, the obtained substances exhibit a depressing effect on the growth of bacterial and fungal cultures in a concentration of 1000 mcg/ml.

**Key words:** synthesis, 5-iodanthranilic acid, antimicrobial activity, antifungal activity.

Одними из актуальных задач фармацевтической химии являются поиск, изучение и внедрение новых фармакологически активных соединений с низкой токсичностью в клиническую практику. Являясь веществами природного происхождения, производные антралиновой кислоты проявляют широкий спектр фармакологической активности (противовирусная, противомикробная, противовоспалительная, анальгетическая) при малой токсичности [2,5,6]. В связи с проблемой нарастающей антибиотикорезистентности жизненно необходимо расширить ряд используемых противомикробных средств.

Целью работы явились синтез новых соединений в ряду R-бензилиденгидразидов NH-2-метоксибензоил-5-йодантраниловой кислоты и исследование биологической активности полученных веществ.

**Материал и методы.** Экспериментальная химическая часть. Исходным продуктом синтеза является NH-2-метоксибензоил-5-йодантраниловая кислота (I), которая циклизуется в среде пропионового ангидрида в 2-(2-метоксифенил)-6-йод-3,1-бензоксазин-4-он (II). Перемешиванием соединения (II) в среде этилового спирта с гидразингидратом в течение часа при температуре 18-20 °C синтезирован гидразид NH-2-метоксибензоил-5-йодантраниловой кислоты (III) (рис. 1) [1].

При последующей конденсации соединения III с альдегидами ароматического ряда при температуре 18-20 °C в среде этанола в присутствии катализитического количества концентрированной хлороводородной кислоты получены соответствующие R-бензилиденгидразиды NH-2-метоксибензоил-5-йодантраниловой кислоты (IV – X) (рис. 2).

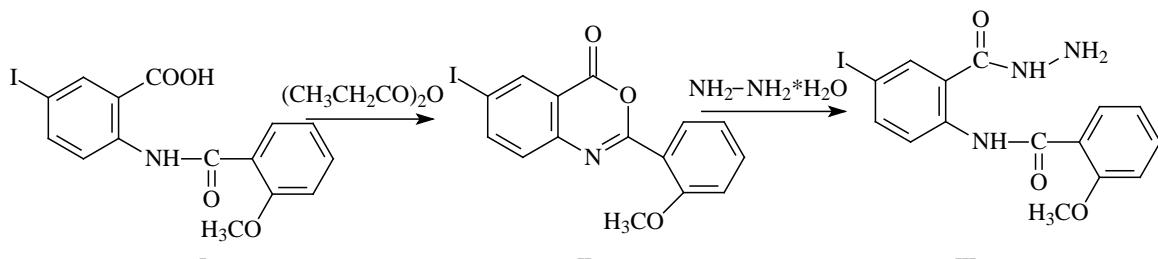
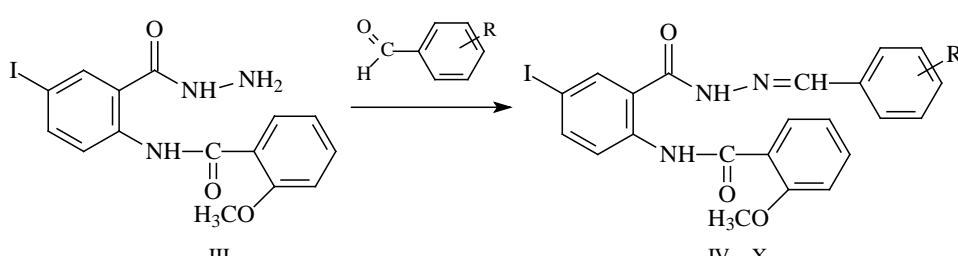


Рис. 1. Схема синтеза гидразид NH-2-метоксибензоил-5-йодантраниловой кислоты



R= 4-Br (IV), R= 4-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (V), R= 4-NO<sub>2</sub>, (VI), R= 2,4-OCH<sub>3</sub> (VII), R= 2-OH, 5-NO<sub>2</sub> (VIII), R= 4-N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> (IX), R= 2-NO<sub>2</sub> (X)

Рис. 2. Схема синтеза R-бензилиденгидразидов NH-2-метоксибензоил-5-йодантраниловой кислоты

Спектры ЯМР <sup>1</sup>Н записаны на приборе Bruker AM-300 (300 МГц), растворитель – ДМСО-d<sub>6</sub>, внутренний стандарт – тетраметилсилан (TMS). Контроль за чистотой полученных продуктов осуществлен с помощью тонкослойной хроматографии (TCX) в системе бензол – хлороформ – ацетон (9:1:1) на пластинах «Сорб菲尔 ПТСХ-П-В» (ГУ 26-11-17-89), детектирование пятен осуществляли парами йода. Полученные величины R<sub>f</sub> лежат в интервале от 0,3 до 0,7.

**Метод получения 2-(2-Метоксифенил)-6-йод-3,1-бензоксазин-4-она (II)**

К взвеси 0,008 моль NH-2-метоксибензоил-5-йодантраниловой кислоты (I) добавляют 0,0032 моль пропионового ангидрида и кипятят на водяной бане в течение часа. Полученный осадок отфильтровывают, промывают ледяной уксусной кислотой и сушат. Выход – 69,7%. T<sub>пл</sub>=260-262°C. ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 3,77 т (3Н, OCH<sub>3</sub>); 7,09-8,51 м (7Н, 2Ar).

## Метод получения гидразида NH-2-метоксибензоил-5-йодантраниловой кислоты (III)

К взвеси 0,001 моль бензоксазин-4-она (II) в 5 мл этанола добавляют 0,0012 моль гидразингидрата в 2 мл этанола и перемешивают в течение часа при температуре 18-20 °C. Полученный осадок отфильтровывают, сушат и перекристаллизовывают из этанола. Выход – 73,1%.  $T_{\text{пп}}=220-222^{\circ}\text{C}$ . ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 3,91 т (3Н,  $\text{OCH}_3$ ); 5,64 д (2Н,  $\text{NH}_2$ ); 7,26-8,46 м (7Н, 2Ar); 12,29 с (Н,  $\text{CONH} + \text{NHCO}$ ).

## Метод получения 4-бромобензилиденгидразида NH-2-метоксибензоил-5-йодантраниловой кислоты (IV)

К взвеси 0,001 моль гидразида NH-2-метоксибензоил-5-йодантраниловой кислоты (III) в 5 мл этанола добавляют 0,0012 моль альдегида и 1-2 капли концентрированной хлороводородной кислоты и перемешивают в течение часа при температуре 18-20 °C. Избыток кислоты нейтрализуют  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  до  $\text{pH}=7$ . Полученный осадок отфильтровывают, сушат и перекристаллизовывают из этанола. Выход – 68,5%.  $T_{\text{пп}}=240^{\circ}\text{C}$ .

Соединения V-X получены аналогично.

Экспериментальная биологическая часть. Противомикробную (ПМА) и противогрибковую (ПГА) активности определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде [4]. Диметилсульфоксид использовался в качестве растворителя для исследуемых соединений. ПМА оценивали по отношению к фармакопейным штаммам кишечной палочки *Esherichia coli* ATCC 25922 и золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, ПГА – *Candida albicans* ATCC 885-653 [3]. Посевы

производили в мясопептонный бульон (ПМА) и жидкую среду Сабуро (ПГА) с различной концентрацией испытуемых соединений. Микробная нагрузка составила 250000 микробных тел на 1 мл.

Контрольные и опытные пробирки выдерживали в термостате при температуре 37 °C и учитывали результаты через 18-20 часов. Под воздействием исследуемых соединений регистрировали наличие или отсутствие роста бактериальных (грибковых) культур. За действующую дозу принимали минимальную подавляющую концентрацию веществ (МПК, мкг/мл), которая задерживает рост соответствующего тест-штамма. В качестве эталонов сравнения для ПМА использовали диоксидин, фурацилин, хлорамин Б, для ПГА – флуконазол. Аналогичным образом проводили испытание активности препаратов сравнения.

## Результаты и обсуждение

Синтезированные соединения являются кристаллическими или аморфными веществами белого, желтого и зеленого цвета, нерастворимыми в воде, этаноле, растворимыми в органических растворителях (ДМСО, ДМФА). Структура полученных соединений подтверждена данными ЯМР  $^1\text{H}$  - спектроскопии.

В спектрах ЯМР  $^1\text{H}$ -соединений наблюдаются сигналы протонов метокси группы при 3,84-3,94 м.д. в виде триплета, ароматических протонов в виде мультиплета в области 6,63-8,83 м.д., синглеты протонов гидразидных групп при 11,53-11,91 м.д., синглеты протонов амидных групп при 11,65-12,19 м.д.

Физико-химические и спектральные характеристики полученных веществ представлены в табл. 1. Результаты исследования биологического действия обобщены и представлены в табл. 2.

Таблица 1  
Физико-химические и спектральные характеристики R-бензилиденгидразидов NH-2-метоксибензоил-5-йодантраниловой кислоты

Соединение	R	$T_{\text{пп}}, ^{\circ}\text{C}$	Выход, %	ЯМР $^1\text{H}$ , $\delta$ , м.д.
IV	4-Br	224	68,5	3,93 т (3Н, $\text{OCH}_3$ ); 7,23 – 8,49 м (12Н, 3Ar + CH); 11,73 с (Н, $\text{CONH}$ ); 12,06 с (Н, $\text{NHCO}$ ).
V	4- $\text{N}(\text{CH}_3)_2$	180-182	57,3	2,97 т (3Н, 2 $\text{CH}_3$ ); 3,93 т (3Н, $\text{OCH}_3$ ); 6,74 – 8,42 м (12Н, 3Ar + CH); 11,55 с (Н, $\text{CONH}$ ); 12,14 с (Н, $\text{NHCO}$ ).
VI	4- $\text{NO}_2$	244	71,4	3,91 т (3Н, $\text{OCH}_3$ ); 7,02 – 8,49 м (12Н, 3Ar + CH); 11,53 с (Н, $\text{CONH}$ ); 12,16 с (Н, $\text{NHCO}$ ).
VII	2,4- $\text{OCH}_3$	237-238	78,1	3,84 т (3Н, $\text{OCH}_3$ ); 3,87 т (6Н, 2 $\text{OCH}_3$ ); 6,63 – 8,73 м (11Н, 3Ar + CH); 11,91 с (Н, $\text{CONH}$ ); 11,98 с (Н, $\text{NHCO}$ ).
VIII	2-OH, 5- $\text{NO}_2$	242-244	55,7	3,91 т (3Н, $\text{OCH}_3$ ); 6,93 – 8,49 м (11Н, 3Ar + CH); 9,19 с (1Н, OH); 12,09 с (Н, $\text{CONH} + \text{NHCO}$ ).
IX	4- $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	168-170	64,2	1,12 т (6Н, 2 $\text{CH}_3$ ); 3,37 м (4Н, 2 $\text{CH}_2$ ); 3,94 т (3Н, $\text{OCH}_3$ ); 6,69-8,43 м (12Н, 3Ar + CH); 11,49 с (Н, $\text{CONH}$ ); 11,65 с (Н, $\text{NHCO}$ ).
X	2- $\text{NO}_2$	240-242	70,3	3,91 т (3Н, $\text{OCH}_3$ ); 7,05 – 8,83 м (12Н, 3Ar + CH); 11,54 с (Н, $\text{CONH}$ ); 12,19 с (Н, $\text{NHCO}$ ).

Таблица 2

## Противомикробная и противогрибковая активности соединений I – IX

Соединение	МПК, мкг/кг		
	St.aureus ATCC6 6538-P	E.coli ATCC 25922	C. albicans ATCC 885-653
I	1000	1000	1000
II	1000	1000	1000
III	1000	1000	1000
IV	1000	1000	1000
V	1000	1000	1000
VI	1000	1000	1000
VII	1000	1000	1000
VIII	1000	1000	1000
IX	1000	1000	1000
Диоксидин	500	31	-
Фурацилин	250	125	-
Хлорамин Б	500	250	-
Флуконазол	-	-	32

По результатам исследования установлено, что полученные вещества проявляют угнетающее действие в концентрации 1000 мкг/мл на рост бактериальных культур *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, культуры гриба *Candida albicans*.

Таким образом, нами были получены замещенные бензилиденгидразиды NH-2-метокси-бензоил-5-йодантраниловой кислоты. Структуру новых соединений установили методом ЯМР <sup>1</sup>Н-спектроскопии и выявили, что вещества данного ряда проявляют слабую антибактериальную и противогрибковую активности.

## Сведения об авторах статьи:

**Газизова Асия Фаниловна** – аспирант кафедры фармацевтической химии ФОО ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России. Адрес: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2. E-mail: asiya\_gazizova@mail.ru.

**Курбатов Евгений Раисович** – д. фарм. н., доцент кафедры фармацевтической химии ФОО, проректор по УВР ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России. Адрес: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2. E-mail: kurbatov@pfa.ru.

**Бобылева Александра Александровна** – к. фарм. н., доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России. Адрес: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2. E-mail: aleksa.gagarina@yandex.ru.

**Курбатова Алевтина Анатольевна** – к. фарм. н., доцент кафедры аналитической химии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России. Адрес: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2.

**Дозморова Наталья Викторовна** – к. фарм. н., доцент кафедры фармацевтической химии ФДПО и ФЗО, проректор по НИР ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России. Адрес: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2. E-mail: dozmorova-nv@pfa.ru.

## ЛИТЕРАТУРА

- Газизова, А.Ф. Синтез, свойства и противомикробная активность R-бензилиденгидразидов NH-бензоил-5-йодантраниловой кислоты / А.Ф. Газизова, Е.Р. Курбатов, А.А. Бобылева // Сб. трудов III международной научно-практической конференции «Современные проблемы развития фундаментальных и прикладных наук». Praha, Printing house, 2016, с. 31-35.
- Синтез, свойства и противомикробная активность NH-(N'-R-бензилиденгидразинооксалил) антраниловых кислот / Л.М. Коркодинова [и др.] // Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация. – 2017. – № 1. – С. 160-163.
- ОФС.1.2.4.0002.15 Микробиологическая чистота. [Электронный ресурс]. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-4-0002-15-mikrobiologicheskaya-chistota/>
- Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. – М., 2005. – С.516-522.
- Anthrаниlic acid-based diamides derivatives incorporating arylisoxazoline pharmacophore as potential anticancer agents: design, synthesis and biological evaluation / Liqiao Shi [at al.] // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2012. – 54. – P. 549-556.
- Beniwal, M. Antiinflammatory, antimicrobial activity and QSAR studies of anthranilic acid derivatives / M. Beniwal, V. Lather, V. Judge // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences – 2015. – Vol. 4, №9. – P. 1443-1451.

## REFERENCES

- Gazizova, A.F., Kurbatov E.R., Bobyleva A.A. Sintez, svoystva i protivomikrobnaya aktivnost' R-benzilidengidrazidov NH-benzoil-5-yodantanilovoy kisloty (Synthesis, properties and antimicrobial activity of R-benzylidenehydrazides of NH-benzoyl-5-iodoanthranilic acid). Materialy III mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Sovremennyye problemy razvitiya fundamental'nykh i prikladnykh nauk». Praha, Printing house, pp 31-35 (In Russ.).
- Korkodinova L.M. et al. NH-(N'-R-benzilidenehydrazinoxalyl) anthranilic acids: synthesis, properties and antimicrobial activity. Vestnik VGU, seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya. 2017, no 1, pp 160-163 (In Russ.).
- ОФС.1.2.4.0002.15 Mikrobiologicheskaya chistota. [GPA Microbiological purity]. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-4-0002-15-mikrobiologicheskaya-chistota/> (In Russ)
- Khabriev, R.U. Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskому) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv [Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances], Moscow, 2005, pp.516-522. (In Russ)
- Liqiao Shi et al. Anthranilic acid-based diamides derivatives incorporating arylisoxazoline pharmacophore as potential anticancer agents: design, synthesis and biological evaluation. European Journal of Medicinal Chemistry, 2012, no 54, p. 549-556.
- Beniwal, M., Lather V., Judge V. Antiinflammatory, antimicrobial activity and QSAR studies of anthranilic acid derivatives. World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences, 2015, Vol. 4, №9, p. 1443-1451.