

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 гидразидов 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. Elements of quantitative assessment of pharmacological effect (Elements of quantitative assessment of pharmacological effect). Leningrad, Medgiz, 1963, 151 p. (In Russ)
- Shchetinin E.V. et al. Chrono-biological approach to forced swimming test as a model of behavioural depression. I.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., Khaliullin F. A. Synthesis and structure of ylidenhydrazides 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 EHVМ № 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-NH-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 гидразидов NH-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 ¹H – 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 ¹H 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-iodoanthranilic 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-йодантралиновой кислоты и исследование биологической активности полученных веществ.

Материал и методы. Экспериментальная химическая часть. Исходным продуктом синтеза является NH-2-метоксибензоил-5-йодантралиновая 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 °С синтезирован гидразид NH-2-метоксибензоил-5-йодантралиновой кислоты (III) (рис. 1) [1].

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

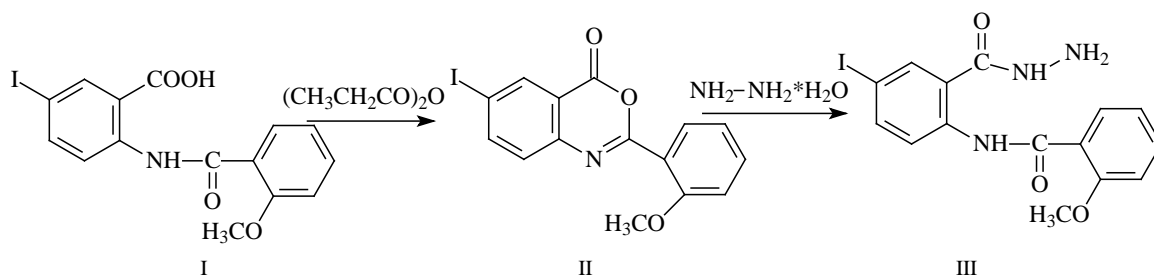


Рис. 1. Схема синтеза гидразид NH-2-метоксибензоил-5-йодантралиновой кислоты

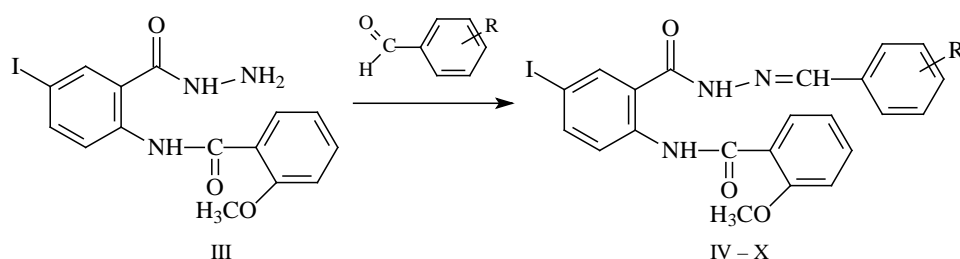


Рис. 2. Схема синтеза R-бензилиденгидразидов NH-2-метоксибензоил-5-йодантралиновой кислоты

Спектры ЯМР ¹H записаны на приборе Bruker AM-300 (300 МГц), растворитель – ДМСО-d₆, внутренний стандарт – тетраметилсилан (ТМС). Контроль за чистотой полученных продуктов осуществлен с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе бензол – хлороформ – ацетон (9:1:1) на пластинках «Сорбфил ПТСХ-П-В» (ТУ 26-11-17-89), детектирование пятен осуществляли парами йода. Полученные величины R_f 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-йодантралиновой 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_{пл}=260-262°C. ЯМР ¹H (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 3,77 т (3H, OCH₃); 7,09-8,51 м (7H, 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 °С. Полученный осадок отфильтровывают, сушат и перекристаллизовывают из этанола. Выход – 73,1%. $T_{пл}$ = 220-222 °С. ЯМР 1H (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 3,91 т (3H, OCH₃); 5,64 д (2H, NH₂); 7,26-8,46 м (7H, 2Ar); 12,29 с (H, CONH + NHCO).

Метод получения 4-бром-бензилиденгидразида 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 °С. Избыток кислоты нейтрализуют Na₂CO₃ до pH=7. Полученный осадок отфильтровывают, сушат и перекристаллизовывают из этанола. Выход – 68,5%. $T_{пл}$ = 240 °С.

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 *Escherichia coli* ATCC 25922 и золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, ПГА – *Candida albicans* ATCC 885-653 [3]. Посевы

производили в мясоептонный 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 °С 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 1H - спектроскопии.

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

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-метоксибензоил-5-йодантраниловой кислоты. Структуру новых соединений установили методом ЯМР ¹H-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

1. 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.
2. 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.
3. OFC.1.2.4.0002.15 Микробиологическая чистота. [Электронный ресурс]. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-4-0002-15-mikrobiologicheskaya-chistota/>
4. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. – М., 2005. – С.516-522.
5. Anthranilic acid-based diamides derivatives incorporating arylisoxazoline pharmacophore as potential anticancer agents: design, synthesis and biological evaluation / Liqiao Shi [et al.] // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2012. – 54. – P. 549-556.
6. 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

1. Gazizova, A.F., Kurbatov E.R., Bobyleva A.A. Sintez, svoystva i protivomikrobnaya aktivnost' R-benzilidengidrazidov NH-benzoil-5-yodantranilovoy kisloty (Synthesis, properties and antimicrobial activity of R-benzylidenhydrazides 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.).
2. Korkodinova L.M. et al. NH-(N'-R-benzilidenhydrazinooxaly) anthranilic acids: synthesis, properties and antimicrobial activity. Vestnik VGU, seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya. 2017, no 1, pp 160-163 (In Russ).
3. OFS.1.2.4.0002.15 Mikrobiologicheskaya chistota. [GPA Microbiological purity]. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-4-0002-15-mikrobiologicheskaya-chistota/> (In Russ)
4. Khabriyev, R.U. Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv [Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances], Moscow, 2005, pp.516-522. (In Russ)
5. 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.
6. 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.