

## МЕТОДИ СИНТЕЗУ, КОМП'ЮТЕРНИЙ ПРОГНОЗ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ АРИЛАМІДІВ 3,5-ДИБРОМ-N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ

© Д. О. Мамедова, І. С. Гриценко, С. Г. Ісаєв, В. Д. Яременко

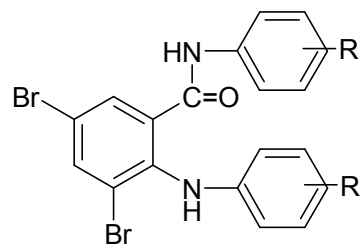
Національний фармацевтичний університет, Харків

**Резюме:** здійснено синтез нових ариламідів 3,5-дибром-N-фенілантранілових кислот. Будову та чистоту синтезованих сполук підтверджено даними елементного, ІЧ-, ПМР-спектрального, хроматографічного аналізу, зустрічним синтезом та якісними реакціями. За допомогою програми PASS проведено комп'ютерний прогноз можливих видів біологічної активності вперше синтезованих речовин серед ариламідів 3,5-дибром-N-фенілантранілових кислот. Експериментально встановлено, що синтезовані речовини проявляють бактеріостатичну, фунгістатичну, протизапальну, анальгетичну, діуретичну, антидіуретичну активність. За класифікацією К. К. Сидорова, синтезовані речовини при внутрішньошлунковому введенні належать до класу малотоксичних сполук. Встановлено ряд закономірностей зв'язку "будова-активність-токсичність". Дослідження свідчать про перспективність пошуку біологічно активних речовин у даному ряді хімічних сполук.

**Ключові слова:** синтез, ариламиди 3,5-дибром-N-фенілантранілових кислот, комп'ютерна програма прогнозу спектра біологічної активності PASS, фармакологічна активність.

**Вступ.** Похідні N-фенілантранілових кислот (N-ФАК) в усьому світі зарекомендували себе як високоактивні лікарські засоби, які проявляють різноманітні види фармакологічної дії [1, 3–5, 6]. Останнім часом у науковій літературі все частіше з'являються дані про перспективність застосування даного класу сполук для створення лікарських засобів з високою протизапальною, кардіопротекторною, гепатопротекторною, діуретичною, протимікробною та іншими видами активності [7, 10, 12, 13]. Крім того, ариламиди N-ФАК використовують як вихідні речовини для синтезу відповідних 9-N-ариламіноакридинів та інших гетероциклічних сполук [4]. Дані обставини визначили необхідність подальшого розширення хімічного та фармакологічного вивчення раніше не досліджених ариламідів 3,5-дибром-N-фенілантранілових кислот.

**Методи дослідження.** Ариламиди 3,5-дибром-N-фенілантранілових кислот (рис. 1) синтезовано трьома методами: амідуванням метилових естерів відповідних кислот (спосіб А), амідуванням хлорангідридів у середовищі сухого бензолу (спосіб Б) та шляхом безпосередньої дії на N-фенілантранілову кислоту тіонілхлоридом без розчинника з наступним амідуванням амінами в одну стадію без виділення відповідних хлорангідридів (спосіб В). Найоптимальнішим для синтезу ариламідів 3,5-дибром-N-ФАК є спосіб В (табл. 1). Переваги цього методу – простота проведення синтезу, високий вихід цільового продукту, одностадійність та відсутність вогнебезпечних розчинників.



R=2'-NO<sub>2</sub>; 2'-NO<sub>2</sub>; 2'-NO<sub>2</sub>; 2'-NO<sub>2</sub>; 2'-NO<sub>2</sub>; 2'-NO<sub>2</sub>; 4'-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; 4'-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.  
R'=2''-CH<sub>3</sub>; 3''-CH<sub>3</sub>; 4''-CH<sub>3</sub>; 2'',4''-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; 2'',5''-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; 3'',4''-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; 2''-CH<sub>3</sub>,4''-NO<sub>2</sub>; 2''-CH<sub>3</sub>,6''-NO<sub>2</sub>

**Рис. 1.** Ариламиди 3,5-дибром-N-фенілантранілових кислот.

Будову та індивідуальність сполук (I–VIII) підтверджено даними елементного, ІЧ-, ПМР-спектрального, хроматографічного аналізу, зустрічним синтезом та якісними реакціями. Дані елементного аналізу відповідають розрахованим (автоматичний аналізатор М-185 фірми "Hewlett Packard"). В ІЧ-спектрах (спектрофотометр "Specord M-80") синтезованих сполук інтерпретовано характеристичні смуги поглинання, см<sup>-1</sup>: 3350–3268 ( $\nu_{NH}$ ), 1670–1662 ( $\nu_{C=O}$ ), 1576–1564 ( $\delta_{NH}$ ), 1602–1592 ( $\nu_{C-Ph}$ ), 632–606 ( $\nu_{C-Br}$ ). У спектрах усіх сполук спостерігаються 2 смуги при 1532–1515 та 1318–1302 см<sup>-1</sup>, які належать до валентних коливань нітрогрупи. ПМР-спектри (спектрофотометр "Bruker – WP-100 SY") 3,5-дибром-N-ФАК харак-

**Таблиця 1.** Фізико-хімічні, ІЧ-спектральні характеристики та бактеріостатична активність ариламідів 3,5-дибром-N-фенілантранілових кислот

| Сполука                    | R                                 | R'  | Вихід, % |    |    | Максимуми поглинання в ІЧ-спектрах, см <sup>-1</sup> |             |               |              |                         | Бактеріостатична *, МПК, мкг/мл |      |      |      |      |      |      |      |
|----------------------------|-----------------------------------|---|----------|----|----|--|-------------|---------------|--------------|-------------------------|---------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|
|                            |                                   |   | A        | Б  | В  | $\nu_{NH}$   | $\nu_{C=O}$ | $\delta_{NH}$ | $\nu_{C-Br}$ | $\nu \frac{as}{s} NO_2$ | 1                               | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    |
| I                          | 2'-NO <sub>2</sub>                | 2"-CH <sub>3</sub>                          | 39       | 67 | 68 | 3345   | 1675        | 1572          | 630          | $\frac{1528}{1310}$     | 31,2                            | 125  | 62,5 | 250  | 125  | 62,5 | 62,5 | 125  |
| II                         | 2'-NO <sub>2</sub>                | 3"-CH <sub>3</sub>                          | 44       | 65 | 72 | 3350   | 1670        | 1570          | 632          | $\frac{1518}{1305}$     | 62,5                            | 250  | 62,5 | 250  | 125  | 125  | 125  | 250  |
| III                        | 2'-NO <sub>2</sub>                | 4"-CH <sub>3</sub>                          | 51       | 65 | 68 | 3340   | 1668        | 1564          | 630          | $\frac{1515}{1303}$     | 62,5                            | 250  | 62,5 | 250  | 125  | 125  | 125  | 250  |
| VI                         | 2'-NO <sub>2</sub>                | 2", 4"-<br>(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>  | 55       | 69 | 71 | 3310   | 1658        | 1572          | 628          | $\frac{1518}{1308}$     | 125                             | 125  | 15,6 | 250  | 62,5 | 125  | 62,5 | 250  |
| V                          | 2'-NO <sub>2</sub>                | 2", 5"-<br>(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>  | 57       | 70 | 72 | 3292   | 1664        | 1570          | 630          | $\frac{1520}{1312}$     | 250                             | 125  | 125  | 125  | 125  | 62,5 | 250  | 62,5 |
| VI                         | 2'-NO <sub>2</sub>                | 3", 4"-<br>(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>  | 45       | 72 | 74 | 3305   | 1662        | 1572          | 630          | $\frac{1525}{1318}$     | 250                             | 250  | 250  | 250  | 250  | 250  | 250  | 250  |
| VII                        | 4'-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | 2"-CH <sub>3</sub> , 4"-<br>NO <sub>2</sub> | 49       | 75 | 80 | 3268   | 1668        | 1574          | 608          | $\frac{1528}{1307}$     | 62,5                            | 250  | 125  | 250  | 125  | 125  | 125  | 250  |
| VIII                       | 4'-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | 2"-CH <sub>3</sub> , 6"-<br>NO <sub>2</sub> | 50       | 77 | 70 | 3276   | 1670        | 1576          | 606          | $\frac{1532}{1314}$     | 62,5                            | 250  | 62,5 | 250  | 125  | 62,5 | 62,5 | 62,5 |
| Етакридину лактат          |                                   |   | -        |    |    |  |             |               |              |                         | 31,2                            | 15,6 | 31,2 | 62,5 | 125  | 250  | 125  | 250  |
| Етазол                     |                                   |   | -        |    |    |  |             |               |              |                         | 3,9                             | 250  | 250  | -    | -    | -    | -    | -    |
| Сульфаніламід (стрептоцид) |                                   |   | -        |    |    |  |             |               |              |                         | 250                             | 250  | 250  | -    | -    | -    | -    | -    |

**Примітка.\*** – як тест-мікроорганізми використовували: 1. Staphylococcus aureus. 2. Bacillus subtilis. 3. Esherichia coli. 4. Pseudomonas aeruginosa. 5. Salmonella choleraesuis. 6. Salmonella. dublin. 7. Salmonella. thyphymutium. 8. Salmonella. thyphisuis.

теризуються сигналами відповідної інтенсивності в таких ділянках спектра: сигнали протона вторинної аміногрупи в дифеніламіновому фрагменті спостерігаються в ділянці 9,05–10,14 м.ч., а сигнал протона в анілідній частині молекули – при 12,46–13,01 м.ч. Сигнали ароматичних протонів інтерпретовані в ділянці 6,34–8,24 м.ч. Хроматографічний аналіз проводили методом тонкошарової хроматографії у 2-х системах: етанол–ацетон–гексан (1:2:2,5) та етанол–ацетон–хлороформ–гексан (1:4:1:4).

Для комп'ютерного прогнозу спектра біологічної активності ариламідів 3,5-дибром-N-ФАК (I–VIII) нами використано програму PASS [11].

Дослідження протигрибкової та антимікробної активності ариламідів 3,5-дибром-N-ФАК проводили у рідкому поживному середовищі [8]. Як поживне середовище використовували розчин

амінопептиду (рН=7,2). Мікробне навантаження для бактерій становило 2,5·10<sup>5</sup> клітин амінопептидної 18-годинної культури в 1 мл середовища. Для вирощування грибів застосовували середовище Сабуро. Навантаження складало 500 000 репродуктивних тілець в 1 мл (рН=6,5–6,7). Протизапальну активність синтезованих сполук (I–VIII) вивчали на моделі карагенінового набряку [3] на мишах у дозі 20 мг/кг. Препаратом порівняння обрано диклофенак натрію та мефенамову кислоту. Анальгетичну активність вивчали на білих безпородних щурах на моделі гарячої пластини [2]. Досліджувані речовини вводили внутрішньошлунково у дозі 20 мг/кг. Як препарат порівняння використовували анальгін. Діуретичну активність вивчали за методом Є. Б. Берхіна на щурах лінії Вістар масою 120–160 г. Кожна дослідна група складалась з 7 тва-

рин. Рефренс-препаратами були гіпотіазид у дозі 50 мг/кг та фуросемід у дозі 20 мг/кг.

Гостру токсичність синтезованих сполук вивчали на білих мишах при внутрішньошлунковому введенні [2].

**Результати й обговорення.** Аналіз результатів комп'ютерного прогнозу за допомогою програми PASS показав, що вперше синтезовані ариламід 3,5-дибром-N-ФАК (I–VIII) з найбільшою вірогідністю повинні проявляти протимікробну, відносно мікроорганізмів роду *Salmonella*, протизапальну, анальгетичну, протигельмінтну, антианемічну та антиалергічну активність.

Проведені мікробіологічні дослідження показали, що синтезована група сполук (I–VIII) відносно грамозитивних та грамнегативних мікроорганізмів проявляла бактеріостатичну дію у концентрації 62,5–250 мкг/мл (див. табл. 1). Ариламід 3,5-дибром-N-ФАК проявляли вищий рівень інгібуючої дії на золотистий стафілокок, кишкову паличку та мікроорганізми роду *Salmonella*. Фунгістатична активність відносно *Candida albicans* та *Candida triadis* складала 31,2–500 мкг/мл (табл. 2). Найбільшу протигрибкову дію мали сполуки (V–VII), активність яких перебувала на рівні нітрофуралу.

**Таблиця 2.** Хроматографічні характеристики та фармакологічна активність ариламідів 3,5-дибром-N-фенілантранілових кислот

| Сполука                                   | Фунгістатична, МПК, мкг/мл |                        | Протизапальна, % (доза 20 мг/кг) | Анальгетична, % (доза 20 мг/кг) | Діуретична, % (доза 50 мг/кг) | DL <sub>50</sub> , мг/кг (внутрішньошлунково) | R <sub>f</sub> * |      |
|---|----------------------------|------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---|------------------|------|
|   | <i>Candida albicans</i>    | <i>Candida triadis</i> |                                  |                                 |                               |   | 1                | 2    |
| I   | 250                        | 500                    | 31,2                             | 48,4                            | 205,0                         | >1500   | 0,77             | 0,40 |
| II  | 125                        | 500                    | 0                                | 0                               | 70,4                          | –   | 0,74             | 0,42 |
| III                                       | 250                        | 125                    | 21,2                             | 31,8                            | 152,8                         | –   | 0,76             | 0,45 |
| IV  | 125                        | 125                    | 0                                | 0                               | 82,5                          | –   | 0,70             | 0,51 |
| V   | 62,5                       | 31,2                   | 29,6                             | 42,3                            | 225,6                         | >1200   | 0,71             | 0,52 |
| VI  | 62,5                       | 62,5                   | 25,4                             | 30,7                            | 210,7                         | >1200   | 0,69             | 0,50 |
| VII                                       | –                          | –                      | 29,9                             | 44,6                            | 66,8                          | >1500   | 0,48             | 0,30 |
| VIII                                      | –                          | –                      | 28,4                             | 48,3                            | 98,3                          | >1500   | 0,46             | 0,29 |
| Мефенамова кислота у дозі 100 мг/кг       |                            |                        | 30,0                             | –                               | –                             | 628   |                  |      |
| Диклофенак натрію у дозі DE <sub>50</sub> |                            |                        | 37,5                             | –                               | –                             | 360   |                  |      |
| Гіпотіазид у дозі 50 мг/кг                |                            |                        | –                                | –                               | 212                           | 320   |                  |      |
| Анальгін у дозі DE <sub>50</sub>          |                            |                        | –                                | 52                              | –                             | 1198  |                  |      |
| Фуросемід у дозі 20 мг/кг                 |                            |                        | –                                | –                               | 262                           | –   |                  |      |
| Адїурекрин у дозі 50 мг/кг                |                            |                        | –                                | –                               | 65,0                          | –   |                  |      |
| Нітрофурал                                |                            |                        | 64                               | –                               | –                             | –   |                  |      |

**Примітка.** \* – значення R<sub>f</sub> наведено в системах: 1-етанол–ацетон–гексан (1:2:2,5), 2-етанол–ацетон–хлороформ–гексан (1:4:1:4).

Серед ариламідів 3,5-дибром-N-ФАК найбільшу протизапальну активність проявляли сполуки I, V, VII, VIII, їх дія перебувала на рівні мефенамової кислоти (табл. 2), але вони менш токсичні, ніж рефренс-препарати. Також слід відзначити, що ариламід 3,5-дибром-N-ФАК менш активні, ніж відповідні кислоти [3, 8]. Виявлено, що для ариламідів I, III, V, VII, VIII характерна анальгетична дія, але за ефектом вони поступались анальгіну. Вищеназвані похідні N-ФАК (I, V, VI) мали діуретичну активність на рівні гіпотіазиду, але за дією поступались фуросеміду (табл. 2). Ариламід даного ряду (II, IV, VII) також проявляли антидіуретичний ефект. Слід відзначити, що введення в структуру N-ФАК анілідного фрагмента призводило до зниження діуретичної активності [3, 6].

За класифікацію К. К. Сидорова, ариламід 3,5-дибром-N-ФАК (табл. 2) належать до малотоксичних речовин, їх DL<sub>50</sub> при внутрішньошлунковому введенні мишам перебуває в межах 1200–1500 мг/кг. Як і очікувалось, ариламід більш токсичні, ніж вихідні кислоти та естери, але менш токсичні, ніж рефренс-препарати.

**Висновки.** 1. З метою пошуку біологічно активних речовин здійснено синтез та встановлено будову й індивідуальність ариламідів 3,5-дибром-N-фенілантранілових кислот.

2. За програмою PASS проведено комп'ютерний прогноз можливих видів біологічної активності 8 вперше синтезованих сполук. За результатами експериментальних фармакологічних досліджень виявлено сполуки з бактеріостатич-

ною, фунгістатичною, протизапальною, анальгетичною, діуретичною та антидіуретичною актив-

ністю, а також встановлено деякі закономірності зв'язку "структура-активність-токсичність".

### Література

1. Бризицький О. А. Синтез, фізико-хімічні властивості, реакційна здатність та біологічна активність нітробензойної та аміно- і нітро-N-фенілантранілових кислот : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фармац. наук / О. А. Бризицький. – Х., 2005. – 20 с.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
3. Інформ. лист № 193-2003. Оптимізація пошуку ефективних лікарських засобів на основі N-фенілантранілових кислот / [С. Г. Ісаєв, О. О. Павлій, І. А. Зупанець та ін.] – К., 2003. – Вип. № 13 "Фармація". – 3 с.
4. Ісаєв С.Г. Синтез і дослідження біологічної активності 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот / С. Г. Ісаєв, О. Л. Чикіна, Г. П. Жегунова // Мед. хімія. – 2004. – 6, № 4. – С. 13–17.
5. Ісаєв С. Г. Синтез, реакційна здатність і біологічна активність орто-галогенбензойних, ароматичних амінокислот та акридину : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра фармац. наук / С. Г. Ісаєв. – Х., 2008. – 36 с.
6. Ісаєв С. Г. Синтез, физико-химические и биологические свойства 3,5-дихлор-N-арилантраниловых кислот / С. Г. Ісаєв // Фізіологічно активні речовини. – 1999. – № 1 (27). – С. 38–40.
7. Павлій О. О. Синтез, хімічні перетворення, біологічна активність похідних орто-галогенбензойних, N-фенілантранілових кислот та 9-аміноакрадину : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фармац. наук / О. О. Павлій. – Х., 2008. – 20 с.
8. Пат. на корисну модель 58813 Україна, МПК С07С229/58, А61К31/195. 3,5-дибром-N-(2'-карбокси-4',6'-дибромфеніл)антранілова кислота, що проявляє протиза-

- пальну, анальгетичну, діуретичну та протигрибкову активність / Ісаєв С. Г., Мамедова Д. О., Яременко В. Д. та ін. ; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № 201011771 ; заявл. 04.10.10 ; опубл. 26.04.11, Бюл. № 8.
9. Пат. 79903 Україна, МПК С07С229/00, С07С229/18 А61К31/185. 5-бром-N-(2'-карбокси-4'-бромфеніл)антранілова кислота, яка проявляє анальгетичну, протизапальну, діуретичну активність / Ісаєв С. Г., Кобзар Н. П., Чикіна О. Л. та ін. ; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № 200600819 ; заявл. 30.01.06 ; опубл. 25.07.07, Бюл. № 8.
10. Пат. 91422 Україна, МПК С07229/58/, А61К31/196, А61Р29/00, А61Р31/10. 3-нітро-N-(3'-нітрофеніл)антранілова кислота, що проявляє протизапальну, анальгетичну, діуретичну та протигрибкову активність / Ісаєв С. Г., Зупанець І. А., Бризицький О. А. та ін. ; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № 200813252 ; заявл. 17.11.08 ; опубл. 26.07.10, Бюл. № 14.
11. Поройков В. В. Компьютерное предсказание биологической активности веществ: пределы возможного / В. В. Поройков // Химия в России. – 1999. – № 2. – С. 8–12.
12. Синтез та біологічна активність 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот / С. Г. Ісаєв, М. М. Сулейман, Л. В. Брунь [та ін.] // Фармац. часопис. – 2010. – № 1 (10). – С. 6–9.
13. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості анілідів нітрозаміщених N-фенілантранілових кислот / О.А. Бризицький, О. М. Свечнікова, С.Г. Ісаєв [та ін.] // Фармац. журн. – 2003. – № 1. – С. 56–60.

## МЕТОДЫ СИНТЕЗА, КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПРОГНОЗ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АРИЛАМИДОВ 3,5-ДИБРОМ-N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ

Д. А. Мамедова, И. С. Гриценко, С. Г. Исаев, В. Д. Яременко

Национальный фармацевтический университет, Харьков

**Резюме:** осуществлен синтез новых ариламидов 3,5-дибром-N-фенилантраниловых кислот. Строение и чистоту синтезированных соединений подтверждено данными элементного, ИК-, ПМР-спектрального, хроматографического анализа, встречным синтезом, качественными реакциями. С помощью программы PASS проведен компьютерный прогноз возможных видов биологической активности впервые синтезированных веществ среди ариламидов 3,5-дибром-N-фенилантраниловых кислот. Экспериментально установлено, что синтезированные вещества проявляют бактериостатическую, фунгистатическую, противовоспалительную, анальгетическую, диуретическую, антидиуретическую активность. По классификации К. К. Сидорова, синтезированные вещества при внутрижелудочном введении относятся к классу малотоксичных соединений. Установлено ряд закономерностей "структура-активность-токсичность". Исследования свидетельствуют о перспективности поиска биологически активных веществ в данном ряде химических соединений.

**Ключевые слова:** синтез, ариламида 3,5-дибром-N-фенилантраниловых кислот, компьютерная программа прогноза спектра биологической активности PASS, фармакологическая активность.

## THE METHODS OF SYNTHESIS, THE COMPUTER PROGNOSIS AND PHARMACOLOGICAL STUDIES OF ARYLAMIDES 3,5-DIBROMO-N-PHENYLANTHRANYLIC ACIDS

D. O. Mamedova, I. S. Hrytsenko, S. H. Isayev, V. D. Yaremenko

*National University of Pharmacy, Kharkiv*

**Summary:** the synthesis of new arylamides 3,5-dibromo-N-phenylanthranilyc acids was carried out. The structure and purity of synthesizing compounds was confirmed by element, IR-, PMR-spectral, chromatographic analysis, the counter synthesis and qualitative tests. With the program PASS there was held the computer prediction of possible types of pharmacological activity for the first time synthesizing compounds. It was experimentally established that the synthesized substances have bacteriostatic, fungistatic, antiinflammatory, analgesic, diuretic, antidiuretic activity. According to the classification of K. K. Sidorov, synthesized compounds with intragastric administration belong to a class of low-toxic compounds. It was established a number of laws, "Structure–activity–toxicity". Studies suggest about the prospects of finding pharmacologically active substances in the number of chemical compounds.

**Key words:** synthesis, arylamides 3,5-dibromo-N-phenylanthranilyc acids, computer program of prognosis of biological activity of spectrum, PASS pharmacological activity.