

ОРИГІНАЛЬНІ СТАТТІ

УДК 547:835.5.546 / 547.07

С. Г. ІСАЄВ, *д-р фарм. наук, проф.*, Г. О. ЄРЬОМІНА, *магістрант*,
С. Г. ТАРАН, *д-р фарм. наук, проф.*, Н. Ю. ШЕВЕЛЬОВА, *канд. біол. наук, доцент*
Національний фармацевтичний університет, м. Харків

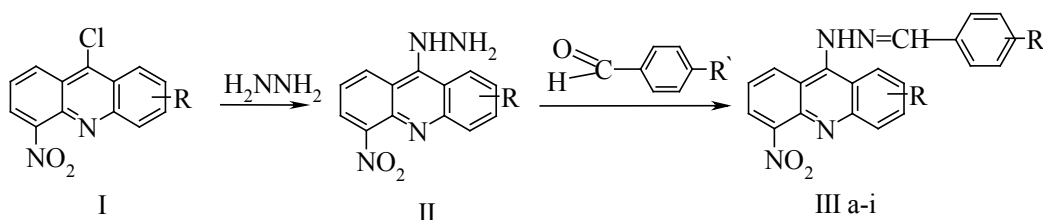
СИНТЕЗ, БУДОВА ТА ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ 9-(R-БЕНЗИЛІДЕН)ГІДРАЗИНО-5-НІТРОАКРИДИНІВ

Ключові слова: синтез, 9-(R-бензиліден)гідразино-5-нітроакридини,
фармакологічна активність

Похідні акридину широко використовують в медицині як високоефективні протимікробні, протипухлинні, протималярійні, антисептичні та інші засоби [1, 2]. Похідні акридину застосовують як аналітичні реагенти, флуоресцентні барвники для гістологічних досліджень та як барвники трикотажних текстильних виробів з лікувальним ефектом [1, 3–5]. Зацікавленість до глибшого вивчення фізико-хімічних та біологічних властивостей похідних акридину зростає в останній час у зв'язку з тим, що 9-гідразинопохідні акридину є доступними, реакційноспроможними і досить перспективними у фармакологічному аспекті [1, 6, 7].

Матеріали та методи дослідження

Вихідні 9-гідразино-5-нітроакридини (II) синтезовано взаємодією відповідних 9-хлоракридинів (I) з гідразин-гідратом у середовищі діоксану за способом [7]. На основі 9-гідразино-5-нітроакридинів (II) з ароматичними альдегідами у середовищі диметилформаміду (ДМФА) синтезовано 9-(R-бензиліден)гідразино-5-нітроакридини (III a-i) за схемою:



Будову одержаних речовин (III a-i) підтверджено даними елементного аналізу, інфрачервоних (ІЧ-), протонно-магнітних резонансних спектрів (ПМР-спектрів), а індивідуальність – за допомогою тонкошарової хроматографії (табл. 1).

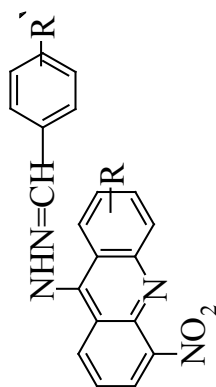
Елементний аналіз синтезованих сполук проводили на автоматичному аналізаторі М-185 фірми «Hewlett Packard» (США). ІЧ-спектри знімали на спектрофотометрі «Specord M-80» (Німеччина) у таблетках калію броміду. ПМР-спектри реєстрували на спектрометрі «Varian Mercury VX-200» (США), розчинник – диметилсульфоксид D⁶. Значення R_f визначали на пластинках «Silufol-254» фірми «Avalier» (Чехія)

Методика одержання 9-N-(4'-диметиламінобензиліден)гідразино-4-метокси-5-нітроакридину (III i).

Суміш 2,84 г (0,01 моль) 9-гідразино-4-метокси-5-нітроакридину та 1,49 г (0,01 моль) п-диметиламінобензальдегіду в 15 мл ДМФА нагрівають упродовж 1 год. Реакційну суміш охолоджують та виливають у воду. Осад відфільтровують, сушать. Вихід 3,77 г (91%).

© Колектив авторів, 2014

Фізико-хімічні характеристики 9-(R-бензиліден)гідразино-5-нітроакридинів



| Сполу-ка | R | R' | Ви-хід, % | T _{пл} , °C* | Знайдено, % | | | Брутто-формула | Розраховано, % | | | R _f ** | |
|----------|--------------------|-------------------------------------|--------------|-----------------------|-------------|-------|------|---|----------------|-------|------|-------------------|------|
| | | | | | C | N | H | | C | N | H | 1 | 2 |
| III а | H | H | 88 | 201–203 | 70,59 | 16,42 | 4,05 | C ₂₀ H ₁₄ N ₄ O ₂ | 70,71 | 16,36 | 4,12 | 0,55 | 0,45 |
| III б | H | 2'-NO ₂ | 90 | 189–191 | 61,99 | 18,18 | 3,32 | C ₂₀ H ₁₃ N ₅ O ₄ | 62,02 | 18,08 | 3,38 | 0,45 | 0,35 |
| III в | H | 3'-NO ₂ | 87 | 220–223 | 62,08 | 18,15 | 3,35 | C ₂₀ H ₁₃ N ₅ O ₄ | 62,02 | 18,08 | 3,38 | 0,47 | 0,37 |
| III г | H | 4'-NO ₂ | 89 | 195–197 | 61,95 | 18,20 | 3,39 | C ₂₀ H ₁₃ N ₅ O ₄ | 62,02 | 18,08 | 3,38 | 0,51 | 0,38 |
| III д | H | 2'-OCH ₃ | 92 | 259–262 | 67,70 | 15,15 | 4,27 | C ₂₁ H ₁₆ N ₄ O ₃ | 67,73 | 15,05 | 4,33 | 0,54 | 0,52 |
| III е | H | 4'-OCH ₃ | 93 | >300 | 67,72 | 15,09 | 4,31 | C ₂₁ H ₁₆ N ₄ O ₃ | 67,73 | 15,05 | 4,33 | 0,53 | 0,51 |
| III є | H | 4'-F | 92 | 245–247 | 66,75 | 15,59 | 3,58 | C ₂₀ H ₁₃ FN ₄ O ₂ | 66,66 | 15,55 | 3,64 | 0,59 | 0,54 |
| III ж | 2-Cl | 2'-OCH ₃ | 91 | 208–211 | 61,95 | 13,82 | 3,71 | C ₂₁ H ₁₅ ClN ₄ O ₃ | 62,00 | 13,77 | 3,72 | 0,34 | 0,60 |
| III з | 3-Cl | 4'-N(CH ₃) ₂ | 92 | 193–196 | 63,02 | 16,74 | 4,28 | C ₂₂ H ₁₈ ClN ₅ O ₂ | 62,93 | 16,67 | 4,32 | 0,37 | – |
| III і | 4-OCH ₃ | 4'-N(CH ₃) ₂ | 91 | 180–183 | 66,57 | 16,91 | 4,87 | C ₂₃ H ₂₁ N ₅ O ₃ | 66,49 | 16,86 | 5,09 | 0,49 | – |

П р и м і т к а. * – Кристалізують із водного ДМФА, ** – значення R_f наведено в системах: 1 – етанол–гексан (1:3), 2 – пропанол-2–хлороформ (5:8).

Сполуки III а–III з одержують аналогічно.

Для комп'ютерного прогнозу спектра біологічної активності 5-нітро-9-(R-іліден)гідразиноакридинів використали комп'ютерну програму PASS [8].

Дослідження протимікробної активності проводили за загальноприйнятою методикою двократних серійних розведень у рідкому живильному середовищі відносно грамнегативних і грампозитивних мікроорганізмів [9]. Як поживне середовище використовували водний розчин амінопептиду (рН 7,2). Мікробне навантаження для бактерій становило $2,5 \cdot 10^5$ КУО/мл живильного середовища. Для вирощування грибів використовували середовище Сабуро (рН 6,5–6,7)

Навантаження становило $5 \cdot 10^5$ грибних елементів у 1 мл. Антимікробну дію оцінювали за мінімальною пригнічуючою концентрацією (МПК, мкг/мл).

Діуретичну дію кожної речовини та гіпотіазиду досліджували за методом Є. Б. Берхіна [10] на білих щурах (7 тварин у групі). Контрольні тварини одержували водне навантаження (1 мл на 20 г маси). Дослідним щурам за 30 хв до водного навантаження вводили внутрішньоочеревинно досліджувані сполуки у дозі 50 мг/кг у вигляді 5%-ї водної суспензії [10]. Як препарат порівняння антидіуретичної дії обрано адіурекрин (Самсон-Мед, Росія).

Для вивчення протизапальної дії синтезованих речовин досліджували їх здатність пригнічувати розвиток набряку за гострого запалення, спричиненого субплантарним введенням 1%-го розчину карагеніну в лапку миші. Досліджувані сполуки вводили внутрішньошлунково у дозі 20 мг/кг. Як референс-препарат обрано диклофенак натрію (Фармак, Україна) [9]. Аналгетичну дію вивчали на білих безпородних щурах на моделі гарячої пластини [9]. Досліджувані сполуки вводили внутрішньошлунково у дозі 20 мг/кг. Як препарат порівняння використовували анальгін (Здоров'я, Україна).

Гостру токсичність досліджуваних речовин вивчали загальноприйнятими методами на білих мишах обох статей за внутрішньошлункового введення.

Результати дослідження та обговорення

9-(R-Бензиліден)гідразино-5-нітроакридини являють собою кристалічні речовини, розчинні в етанолі, діоксані, диметилформаміді. Слід відмітити, що одержаний ряд сполук (III а–III і) не дає позитивної реакції з аміачним розчином срібла нітрату, на відміну від вихідних речовин – 9-гідразиноакридинів (II).

В ІЧ-спектрах (табл. 2) синтезованих сполук інтерпретовано характеристичні смуги поглинання, cm^{-1} : 3 352–3 325 (ν_{NH}), 1 608–1 592 ($\nu_{\text{C-Ph}}$), 1 588–1 568 (σ_{NH}), 1 542–1 518 ($\nu^{\text{as}}_{\text{NO}_2}$), 1 350–1 318 ($\nu^{\text{s}}_{\text{NO}_2}$). В ІЧ-спектрах сполук (III ж, III з) ідентифіковано смугу поглинання валентних коливань C-Cl в ділянці 805–792 cm^{-1} .

У ПМР-спектрах сполук (III а, III з та III і) інтерпретовано сигнали протонів NH-груп у слабкому полі за 14,01–9,39 м. ч., а СН-групи в гідразоновому фрагменті – за 9,39–8,15 м. ч. Сигнали протонів диметиламіногрупи сполук (III з, III і) знаходяться в ділянці 3,02–3,56 м. ч., а протони метоксигрупи сполуки (III і) спостерігаються у вигляді синглету за 3,05 м. ч. У ділянці 8,49–7,21 м. ч. розміщено складний набір мультиплетів, які відповідають протонам ароматичної системи акридину та бензольного кільця гідразонового фрагмента.

За класифікацією К. К. Сидорова отримані сполуки належать до класу малотоксичних речовин, їх DL_{50} за внутрішньошлункового введення мишам перебуває в межах 2 500–4 000 мг/кг. Слід зазначити, що вихідні 9-гідразиноакридини (II) є більш токсичними ($\text{DL}_{50} = 1 500$ мг/кг) [6].

Максимуми поглинання в ІЧ-спектрах та бактеріостатична активність
9-(*R*-бензилден)гідразино-5-нітроакридинів

| Сполука | ІЧ-спектри, частота поглинання, см ⁻¹ | | | | Бактеріостатична активність*, МПК (мкг/мл) | | | | | | | | | |
|--------------------|--|---|---------------------|-----------------|--|--|------|------|------|------|------|------|-----|-----|
| | V _{NH} | V ^{as/s} _{CH₃} | V _{C-Ph} | σ _{NH} | V ^{as} _{NO₂} | V ^s _{NO₂} | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| III а | 3325 | - | 1595 | 1570 | 1530 | 1350 | 125 | 500 | 62,5 | 250 | 250 | 250 | 500 | 500 |
| III б | 3335 | - | 1608 | 1578 | 1522 | 1324 | 62,5 | 500 | 62,5 | 250 | 250 | 500 | 500 | 500 |
| III в | 3338 | - | 1604 | 1582 | 1520 | 1318 | 125 | 250 | 125 | 250 | 250 | 250 | 500 | 250 |
| III г | 3332 | - | 1600 | 1580 | 1528 | 1325 | 125 | 250 | 125 | 250 | 250 | 250 | 250 | 500 |
| III д | 3340 | $\frac{2980}{2892}$ | $\frac{1605}{1592}$ | 1568 | 1530 | 1344 | 250 | 500 | 125 | 250 | 125 | 250 | 250 | 250 |
| III е | 3342 | $\frac{2982}{2898}$ | 1600 | 1574 | 1534 | 1348 | 125 | 250 | 125 | 250 | 125 | 250 | 250 | 250 |
| III є | 3328 | - | 1603 | 1588 | 1542 | 1344 | 31,2 | 62,5 | 15,6 | 62,5 | 62,5 | 62,5 | 125 | 125 |
| III ж | 3352 | $\frac{2970}{2884}$ | 1604 | 1578 | 1525 | 1348 | 125 | 250 | 125 | 250 | 125 | 250 | 125 | 250 |
| III з | 3338 | $\frac{2974}{2882}$ | 1600 | 1574 | 1522 | 1348 | 125 | 250 | 125 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 |
| III і | 3330 | $\frac{2974}{2890}$ | 1601 | 1562 | 1518 | 1348 | 15,6 | 125 | 31,2 | 31,2 | 62,5 | 62,5 | 125 | 125 |
| Етакридину лактат | - | - | - | - | - | - | 31,2 | 15,6 | 31,2 | 62,5 | 125 | 250 | 125 | 125 |
| Фталілсульфатіазол | - | - | - | - | - | - | 7,8 | 7,8 | 250 | - | - | - | - | - |

Примітка. * – Як тест-мікроорганізми використовували:

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| 1 – <i>Staphylococcus aureus</i> , | 5 – <i>Salmonella choleraesuis</i> , |
| 2 – <i>Bacillus subtilis</i> , | 6 – <i>Salmonella dublin</i> , |
| 3 – <i>Escherichia coli</i> , | 7 – <i>Salmonella thyphimurium</i> , |
| 4 – <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , | 8 – <i>Salmonella thyphisuis</i> . |

Аналіз результатів комп'ютерного прогнозу за допомогою програми PASS свідчить, що синтезовані сполуки мають проявляти противірусну, протигрибкову, протимікробну, кардіопротекторну та діуретичну активність.

Проведені мікробіологічні дослідження показали, що синтезована група сполук виявляє бактеріостатичну активність відносно золотистого стафілококу, сінної, кишкової, синьогнійної паличок у концентрації 15,6–500 мкг/мл (табл. 2). Перетворення 9-гідразинопхідних (II) у відповідні 9-(R-бензиліден)гідразинокридини (III а-і) призводить до зниження бактеріостатичної дії відносно сінної та синьогнійної паличок. Мінімальна пригнічуюча концентрація сполук (МПК) (III а, III б, III є, III і) щодо кишкової палички становила 15,6–62,5 мкг/мл і перевищувала активність фталілсульфатіазолу. Факт наявності бактеріостатичної дії на кишкову паличку спонукав провести дослідження з вивчення впливу 9-(R-бензиліден)гідразинокридинів на кишкову групу патогенних мікроорганізмів. Для цього було використано чотири штами роду сальмонел. Встановлено, що сполуки (III є та III і) інгібують ріст *S. choleraesuis* і *S. dublin* у концентрації 62,5 мкг/мл і перевищують за бактеріостатичним ефектом етакридину лактат у 4 рази (табл. 2).

Фунгістатична активність 9-(R-бензиліден)гідразинокридинів відносно *Candida albicans* та *Microsporum canis* становить 15,6–250 мкг/мл (табл. 3). Сполука (III є), яка містить у своїй структурі ковалентно зв'язаний фтор у бензиліденовому фрагменті молекули, за протигрибковою дією перевищує активність нітрофуралу в 4–8 разів.

Серед синтезованих речовин (табл. 3) найбільшу протизапальну активність проявляють сполуки (III є, III з), їх дія перебуває на рівні мефенамінової кислоти (Дарниця, Україна), а сполуки (III і, III є) – на рівні натрію диклофенаку. Вищезазначені речовини також проявляють помірний анальгетичний ефект. З 10 вивчених сполук тільки одна – (III і) – проявляє високу діуретичну активність, а сполука (III а) має антидіуретичну активність на рівні адіурекрину.

В и с н о в к и

Конденсацією 9-гідразинокридинів з ароматичними альдегідами синтезовано нові відповідні 9-(R-бензиліден)гідразинокридини, будову та індивідуальність яких встановлено за допомогою елементного аналізу, ІЧ-, ПМР-спектроскопії і хроматографії в тонкому шарі сорбенту.

За допомогою PASS-програми проведено комп'ютерний прогноз можливих видів фармакологічної активності 10 синтезованих 9-(R-бензиліден)гідразинокридинів. За результатами експериментальних біологічних досліджень виявлено сполуки з бактеріостатичною, фунгістатичною, протизапальною, анальгетичною, діуретичною, антидіуретичною активністю за токсичності 2 500–4 000 мг/кг та встановлено закономірності «структура–активність–токсичність».

Біологічна активність та токсикологічна характеристика 9-(R-бензиліден)гідразино-5-нітроакридинів

| Сполука | Протизапальна дія, % у дозі 20 мг/кг | Анальгетична дія, % у дозі 20 мг/кг | Діуретична дія, % у дозі 50 мг/ кг | Фунгістатична дія, МПК (мкг/мл) | | DL ₅₀ , мкг/кг (внутрішньо- шлунково) |
|--|--|---|--|------------------------------------|------------------------------|--|
| | | | | <i>Candida albicans</i> | <i>Microsporum canis</i> | |
| Ш а | 0 | 0 | 62,4 | 125 | 62,5 | >2500 |
| Ш б | 14,2 | 16,3 | 122,8 | 62,5 | 62,5 | – |
| Ш в | 18,7 | 20,4 | 130,1 | 62,5 | 125 | – |
| Ш г | 9,3 | 21,0 | 115,8 | 62,5 | 125 | – |
| Ш д | 0 | 11,2 | 94,5 | 125 | 125 | – |
| Ш е | 29,2 | 34,3 | 192,7 | 62,5 | 125 | >2500 |
| Ш є | 38,1 | 47,2 | 219,3 | 15,6 | 15,6 | >3000 |
| Ш ж | 0 | 5,2 | 104,7 | 250 | 125 | – |
| Ш з | 30,4 | 33,9 | 195,6 | 250 | 125 | – |
| Ш і | 39,2 | 47,4 | 362 | 125 | 125 | >4000 |
| Нагріно диклофенак у дозі 8 мг/кг | 37,5 | – | – | – | – | 360 |
| Мефенамінова кислота у дозі 100 мг/кг | 30,0 | – | – | – | – | 628 |
| Гіпотіазид у дозі 50 мг/кг | – | – | 212 | – | – | 320 |
| Адiурекрин у дозі 50 мг/кг | – | – | 65 | – | – | – |
| Нітрофурал | – | – | – | 64 | 125 | 82,5 |
| Анальгін у дозі 55 мг/кг | – | 52,0 | – | – | – | 1197 |

ЛІТЕРАТУРА

1. *Волянський Ю. Л., Крестецька С. Л.* Перспективи створення протимікробних препаратів на основі акридину і фенантридину // Мед. хімія. – 2002. – Т. 4, № 3. – С. 92–94.
2. *Машиковский М. Д.* Лекарственные средства: у 2-х томах, 14 изд.. – М.: Новая волна, 2000. – 608 с.
3. *Блажеєвський М. Є., Миронюк П. Л.* Хемілюмінесцентне визначення феноксиметилпеніциліну в пігулках за допомогою нітрату 9-ціано-10-метилакридинію // Фармац. журн. – 2007. – № 1. – С. 78–82.
4. *Кругленко Н. В., Ісаєв С. Г., Сумська О. П. та ін.* Посднання фарбування та антимікотичної обробки трикотаажних текстильних матеріалів // Восточно-европейский журн. – 2009. – № 2/4 (38). – С. 23–25.
5. *Панасенко А. И., Омелянчик Л. А., Панасенко Т. В. и др.* Применение производных акридина для флуоресцентного исследования гистологических срезов // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики: Зб. наук. ст. – Запоріжжя. – 1998. – Вип. 2, Т. 2. – С. 60–64.
6. *Ісаєв С. Г., Девяткіна А. О., Єрьоміна Г. О. та ін.* Синтез, будова та біологічна активність нітро- та хлорзаміщених 9-(R-іліден)гідразиноакридинів // Мед. хімія. – 2012. – Т. 14, № 2 (5). – С. 104–107.
7. *Ісаєв С. Г., Павлій О. І., Бевз Н. Ю. та ін.* Синтез, будова та біологічна активність заміщених 9-гідразино-5-нітроакридину // Фармац. журн. – 2005. – № 3. – С. 76–80.
8. *Anzali S., Barnickel G., Cezanne B. et al.* Discriminating between drags and nondrags by Prediction of Activity Spectra for substances (PASS) // J. Med. Chem. – 2001. – N4 (15). – P. 2432–2437.
9. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
10. *Берхин Е. Б.* Метод изучения действия новых химических соединений на функцию почек // Хим.-фарм. журн. – 1977. – Т. 11, № 5. – С. 3–11.

Надійшла до редакції 24. 10. 2013.

СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
9-(R-БЕНЗИЛИДЕН)ГИДРАЗИНО-5-НИТРОАКРИДИНОВ

Ключевые слова: синтез, 9-(R-бензилиден)гидразино-5-нитроакридины, фармакологическая активность

А Н Н О Т А Ц И Я

Ежегодные публикации разнообразных свойств производных акридина в различных областях науки и техники свидетельствуют о целесообразности синтеза новых производных дибензпиридина.

С этой целью осуществлен синтез 5-нитро-9-(R-бензилиден)гидразиноакридинов, изучены их физико-химические и биологические свойства.

Конденсацией 9-гидразино-5-нитроакридинов с ароматическими альдегидами синтезованы новые 9-(R-бензилиден)гидразиноакридины. Структура и индивидуальность синтезированных соединений подтверждена данными элементного анализа, ИК-, ПМР-спектроскопии. Чистоту контролировали методом тонкослойной хроматографии.

Проведен компьютерный прогноз возможных видов фармакологической активности 10 впервые синтезированных веществ.

С помощью биологических исследований установлено, что эти соединения проявляют противомикробную, противогрибковую, противовоспалительную, диуретическую, антидиуретическую и анальгетическую активность. Установлено ряд закономерностей связи «структура–биологическая активность–токсичность».

S. G. Isaev, H. O. Yeriomina, S. G. Taran, H. Yu. Shevelyova
National University of Pharmacy, Kharkiv

SYNTHESIS, STRUCTURE AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF
9-(R-BENZYLIDEN)HYDRAZINO-5-NITROACRIDINES

Key words: synthesis, 9-(R-benzyliden)hydrazino-5-nitroacridines, pharmacological activity.

А B S T R A C T

Annual publications of various properties of derivatives of acridin in various areas of science and equipment testify to expediency of synthesis of new derivatives dibenzpyridine.

Synthesis of 5-nitro-9-(R-benzyliden)hydrazinoacridines is for this purpose carried out, their physical and chemical and biological properties were studied. Structure of synthesized compounds has been proved by the date of element analysis, IR-, NMR-spectroscopy. The purity has been controlled by the method of the thin-layer chromatography.

The computer prognosis of possible types of pharmacological activity is carried out of 10 first synthesized connections in the row of 5-nitro-9-(R-benzyliden)hydrazinoacridines. By means of biological researches it was established that the synthesized compounds have antimicrobial, antifungal, anti-inflammatory, diuretic, antidiuretic and analgesic activity. A number of regularities of the «structure – biological activity – toxicity».

Електронна адреса для листування з авторами: anperem2012@gmail.com