

УДК 547.831; 615.276: 615.277.3

## СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИЗОПРОПИЛАМИДОВ 2-ГЕТАРИЛАМИНОХИНОЛИН-4-КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

<sup>1</sup>Дубровин А.Н., <sup>1</sup>Михалев А.И., <sup>1</sup>Ухов С.В., <sup>1</sup>Гольдштейн А.Г.,  
<sup>1</sup>Яковлев И.Б., <sup>2</sup>Вихарев Ю.Б.

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия Министерства  
здравоохранения России», Пермь, e-mail: perm@pfa.ru;

<sup>2</sup>Институт технической химии УрО РАН, Пермь, e-mail: itch-ura-ran@yandex.ru

По данным литературы, среди производных хинолин-4-карбоновой кислоты найдены соединения, проявляющие различную биологическую активность. В настоящей работе реакцией изопропиламида 2-хлорхинолин-4-карбоновой (цинхониновой) кислоты с гетероциклическими аминами в диметилформамиде (DMFA) при температуре 150 °С синтезированы с хорошими выходами изопропиламиды 2-гетериламинохинолин-4-карбоновой кислоты. Структура полученных соединений установлена данными ЯМР <sup>1</sup>H-спектроскопии. Чистота синтезированных соединений подтверждена данными тонкослойной хроматографии. Определены физико-химические свойства конечных продуктов реакции. В опытах на животных исследована острая токсичность, противовоспалительная активность в сравнении с препаратами-эталоном: диклофенаком натрия и аспирином. Изучена цитотоксическая активность синтезированных соединений. Разработанные методики синтеза изопропиламидов 2-гетерил-аминохинолин-4-карбоновых кислот могут быть использованы в препаративной органической химии для получения потенциально биологически активных веществ хинолинового ряда.

**Ключевые слова:** изопропиламид 2-хлор-, изопропиламиды 2-гетериламинохинолин-4-карбоновых кислот, острая токсичность, противовоспалительная и цитотоксическая активность

## SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY ISOPROPYLAMIDES HETARYLAMINOQUINOLINE-4-CARBOXYLIC ACIDS

<sup>1</sup>Dubrovin A.N., <sup>1</sup>Mikhalev A.I., <sup>1</sup>Ukhov S.V., <sup>1</sup>Goldstein A.G.,  
<sup>1</sup>Yakovlev I.B., <sup>2</sup>Vikharev Y.B.

<sup>1</sup>Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, e-mail: perm@pfa.ru;

<sup>2</sup>Institute of Technical Chemistry Russian Academy of Sciences Ural Branch,  
Perm, e-mail: itch-ura-ran@yandex.ru

According to the literature data substances exhibiting various biological activities were found among derivatives of quinoline-4-carboxylic acid. In this paper 2-isopropylamides hetarylaminquinoline-4-carboxylic acid were synthesized by reaction isopropylamide-2-chlorquinoline-4 carboxylic (cinchoninic) acid with a heterocyclic amines in dimethylformamide (DMFA) at a temperature of 150 °C in good yields. The structures of received compounds have been determined on the basic NMR <sup>1</sup>H spectral data. Purity of the synthesized compounds was confirmed by thin layer chromatography data. Physico-chemical properties of the final products were determined. In animal studies acute toxicity, anti-inflammatory activity was investigated in comparison with referents substances: diclofenac sodium and aspirin. Cytotoxic activity of the synthesized compounds was investigated. Developed methods of synthesis of 2-isopropylamides heteryl aminoquinolin-4-carboxylic acids can be used in preparative organic chemistry for obtaining of potentially active substances quinoline series.

**Keywords:** isopropylamide 2-chlor-, 2- isopropylamides hetarylaminquinoline-4-carboxylic acid, acute toxicity, anti-inflammatory and cytotoxic activity

Изыскание новых биологически активных соединений среди продуктов органического синтеза в настоящее время является актуальной задачей фармацевтической химии. Весьма перспективным направлением является поиск новых биологически активных веществ (БАВ) в ряду амидов 2-замещенных хинолин-4-карбоновой (цинхониновой) кислоты. Изопропиламид 2-хлорцинхониновой кислоты при биологических испытаниях на животных в дозе 25 мг/кг показал противовоспалительную и анальгетическую активность [3], а синтезированные на его основе изопропиламиды 2-ариламино- и 2-арилоксицинхониновых кислот также обладают данными видами активности [3, 4]. Противомикробная

активность выявлена у изопропиламида 2-(2,4-динитрофенилгидразино)цинхониновой кислоты [5]. Приведенные данные литературы свидетельствуют о том, что среди производных хинолин-4-карбоновой кислоты имеются биологически активные вещества. В то же время малоизученными являются амиды 2-гетариламинохинолин-4-карбоновой кислоты.

Целью исследования является разработка методик синтеза новых потенциально биологически активных соединений в ряду производных хинолин-4-карбоновой кислоты на основе изопропиламида 2-хлорхинолин-4-карбоновой кислоты в реакции с гетериламинами, изучение их физико-химических свойств и биологической

активности. Провести анализ результатов биологических испытаний полученных соединений с активностью ранее полученных их структурных аналогов, а также и препаратами-эталоны. Выявить взаимосвязь структура-активность в ряду 2-замещенных амидов хинолин-4-карбоновой кислоты.

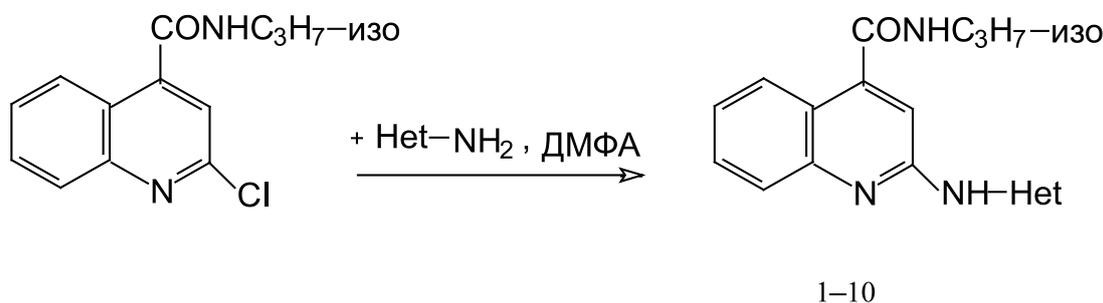
#### Материалы и методы исследования

Структура полученных соединений подтверждена спектральными методами анализа. ЯМР  $^1\text{H}$ -спектры записаны на спектрометре ЯМР MERCURY-300 фирмы Varian, (300 МГц), в  $\text{DMCO-d}_6$ , внутренний стандарт – ГМДС. Ход реакций и чистоту соединений контролировали методом ТСХ на пластинках Silufol UV-254 в системе углерод четыреххлористый:ацетон (3:1), пятна

детектировали парами йода. Данные элементного анализа синтезированных веществ соответствуют вычисленным значениям. В качестве препаратов-эталонов использованы: диклофенак натрия (Россия) и ацетилсалициловая кислота (Байер, Германия).

#### Результаты исследования и их обсуждение

В ходе опытов было установлено, что при кипячении эквимолекулярных количеств изопропиламида 2-хлорхинолин-4-карбоновой кислоты и гетероцикламина в ДМФА с выходами 74-83% образуются соответствующие изопропиламиды 2-гетариламинохинолин-4-карбоновой кислоты (1–10) по схеме



Где Het = 1,3,4-гиадиазолил-2 (1); 1,2,4-триазолил-1 (2); 1,2,4-триазолил-3 (3); 2,6-дихлор-пиримидил-4 (4); 2,4-диоксопиримидил-6 (5); пиридил-4 (6); 2-гидрокси-3-карбоксо-пиридил-5 (7); 5-метилпиридил-2 (8); антипирил-4 (9); 3-этоксикарбонил-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензо[b]тиофенил-2 (10).

Полученные соединения (1–10) – белые кристаллические вещества нерастворимые в воде и растворимые при нагревании в органических растворителях: диоксане, ДМФА. Характеристики синтезированных соединений приведены в табл. 1.

Таблица 1

Характеристики изопропиламидов 2-гетариламинохинолин-4-карбоновой кислоты (1-10)

Соединение	Het	Брутто-формула	Т.пл., °С	Выход, %	$R_f^*$
1.	1,3,4-гиадиазолил-2	$\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{OS}$	235–236	77	0,44
2.	1,2,4-триазолил-1	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}$	251–252	82	0,47
3.	1,2,4-триазолил-3	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_2$	260–263	76	0,50
4.	2,6-дихлорпиримидил-4	$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}$	305–306	75	0,42
5.	2,4-диоксопиримидил-6	$\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_3$	303–307	80	0,37
6.	пиридил-4	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}$	293–295	74	0,36
7.	2-гидрокси-3-карбоксо-пиридил-5	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_4$	293–295	77	0,49
8.	5-метилпиридил-2	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}$	250–252	79	0,45
9.	антипирил-4	$\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_2$	273–275	83	0,41
10.	3-этоксикарбонил-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензо[b]тио-фенил-2	$\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$	257–258	80	0,40

Примечание. \*в системе углерод четыреххлористый:ацетон (3:1).

**Общая методика получения изопрониламинов 2-гетариламинохинолин-4-карбоновых кислот (1–10).** Смесь 2,49 г (0,01 моль) изопрониламида 2-хлорхинолин-4-карбоновой кислоты и 0,01 моль соответствующего гетерилами-

на в 10 мл ДМФА кипятят в течение 5 часов, охлаждают, выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из диоксана. Структура полученных соединений 1–10 подтверждена данными ЯМР <sup>1</sup>H-спектров (табл. 2).

**Таблица 2**

Данные ЯМР <sup>1</sup>H-спектров соединений (1-10)

Соединение	Het	Спектр ЯМР <sup>1</sup> H: (DMCO-d <sub>6</sub> ), δ, м.д.:				
		6H, 2CH <sub>3</sub> , д	1H, -CH <, м	HetH, ArH, м	1H, NH амид, д	1H, NH, с
1.	1,3,4-тиадиазолил-2	1,29	4,16	7,08–7,94 (6H)	8,52	8,59
2.	1,2,4-триазолил-1	1,24	4,17	7,61–8,69 (7H)	8,72	10,05
3.	1,2,4-триазолил-3	1,24	4,30	7,03–8,54 (7H)	8,69	8,76
4.	2,6-дихлорпиримидил-4	1,23	4,13	7,09–7,79 (6H)	8,64	11,80
5.	2,4-диоксорпиримидил-6	1,25	4,16	7,06–7,77 (6H)	8,38	9,02
6.	пиридил-4	1,30	4,28	7,02–8,25 (9H)	9,02	9,10
7.	2-гидрокси-3-карбоксопиридил-5	1,22	4,15	6,37–8,54 (7H)	8,44	9,42
8.	5-метилпиридил-2	1,24	4,15	7,42–8,07 (8H)	8,52	9,20
9.	антипирил-4	1,25	4,15	7,22–8,03 (10H)	8,77	8,84
10.	3-этоксикарбонил-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензо[b]тио-фенил-2	1,23	4,33	7,40–8,57 (13H)	8,60	11,19

В спектрах ЯМР <sup>1</sup>H соединений 1–10 (табл. 2) имеются характерные сигналы протонов δ, м.д.: 8,59–11,19 (1 H, NH, с); 8,38–9,02 (1 H, NH амид, д), группа линий ароматических и гетероциклических протонов в области 6,37–8,69; 4,13–4,33 (1H, -CH <, м); 1,23–1,29 (6H, 2 CH<sub>3</sub>, д).

**Биологические исследования**

Испытания синтезированных соединений проведены согласно методическим указаниям «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» в сравнении с препаратами эталонами [6]. Результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента, эффект считали достоверным при p ≤ 0,05 [1].

Острая токсичность соединений (1, 2, 5) изучена на белых мышах массой 18–22 г при однократном внутрибрюшинном введении с учетом гибели животных в течение 24 ч. Установлено, что ЛД<sub>50</sub> соединений 1, 2, 4–6 более 2150 мг/кг (табл. 3), и они относятся к малотоксичным веществам. Из данных литературы известно, что ЛД<sub>50</sub> при этом же пути введения ортофена равна 132, аспирина – 495 [2].

Противовоспалительная активность (ПВА) соединений (1–6,8,9) изучена на белых крысах обоего пола массой 180–220 г на каррагениновой модели воспаления, соз-

даваемой субплантарным введением в заднюю лапу крыс 0,1 мл 1% водного раствора каррагенина. Исследуемое вещество вводили внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг в 2% крахмальной слизи, диклофенак натрия в дозе 25 мг/кг и аспирин в дозе 50 мг/кг в водной суспензии с твином 80 за один час до моделирования воспаления. Прирост объема воспаленной стопы оценивали онкометрически через 3 и 5 часов после введения флогогенного агента и вычисляли процент торможения отека к контролю. Проведено 8 опытов, в каждой группе было по 6 животных. Полученные результаты сравнивали с литературными данными по противовоспалительному действию диклофенака натрия в дозе 25 мг/кг (табл. 3) и аспирина в дозе 50 мг/кг на каррагениновой модели воспаления [3].

Исследования показали, что апробированные соединения при внутрибрюшинном пути введения в дозе 25 мг/кг после введения флогогенного агента тормозят развитие отека через 3 ч в пределах 29,85–42,54 и 5 ч – 38,32–62,42%. Противовоспалительный эффект изученных соединений сохраняется и даже усиливается в опытах через 5 часов. Наиболее активным является 2-замещенные изопрониламины хинолин-4-карбоновой кислоты (соединения 1, 2, 5), которые уступают по ПВА активности диклофенаку натрия в этой же дозе через 3

и 5 часов наблюдения, но являются менее токсичными, чем препарат-эталон сравнения. По противовоспалительному действию

все соединения в дозе 25 мг/кг являются более активными, чем аспирин в дозе 50 мг/кг (табл. 3).

Таблица 3

Острая токсичность, противовоспалительная активность изопропиламидов 2-гетариламинохиолин-4-карбоновых кислот (1–6,8,9) и препаратов эталонов

Соединение /препарат-эталон	ЛД <sub>50</sub> , мг/кг	Противовоспалительная активность, % торможения отека к контролю после введения каррагенина через		
		Доза, мг/кг	3 ч	5 ч
1.	> 2150	25	38,78*	51,36*
2.	> 2150	25	37,50*	50,15*
3.	...	25	32,35*	47,82*
4.	...	25	33,35*	38,32**
5.	> 2150	25	34,25*	62,42*
6.	...	25	42,54*	47,05*
8.	...	25	37,25**	42,60*
9.	...	25	29,85*	41,43*
Диклофенак натрия (ортофен)	132	25	69,40**	72,20**
Ацетилсалициловая кислота (аспирин)	495	50	51,20**	28,70**
Контроль	...	...	70,88 ± 0,16	87,07 ± 1,04

Примечания: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$  по сравнению с контролем.

Цитотоксичность синтезированных соединений (2-4,6) была определена по МТТ-тесту [7]. В работе использованы культуры клеток человека RD (рабдомиосаркома), которые выращены в среде DMEM с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 0,3% L-глутамина и 1% гентамицина в качестве антибиотика при 37°C и 5% CO<sub>2</sub> во влажной атмосфере. Клетки культуры были рассеяны в 96 луночные микропланшеты. Исследуемые вещества растворены в ДМСО, конечная концентрация которого в лунке не превышала 0,1% и не была токсична для клеток. После 24 часов

инкубации к культурам клеток были добавлены различные концентрации тестируемых соединений (от 100 до 1,56 мкМ/л) и далее клетки культивированы в тех же условиях 72 часа. В качестве количественного критерия цитотоксичности тестируемых соединений использован индекс IC<sub>50</sub> (мкМ/л), соответствующий концентрации тестируемого соединения, которая вызывает гибель 50% клеток в сравнении с контролем. Эксперименты проведены в трех повторностях. В качестве препарата сравнения использован камптотетин. Результаты опытов приведены в (табл. 4).

Таблица 4

Цитотоксичность изопропиламидов 2-гетариламинохиолин-4-карбоновых кислот

Соединение	Нет	IC <sub>50</sub> (мкМ/л) RD
2.	1,2,4-триазолил-1	-
3.	1,2,4-триазолил-3	-
4.	2,6-дихлорпиримидил-4	206, 68 ± 29,73
6.	пиридил-4	201,02 ± 34,07
Камптотетин		0,88 ± 0,02

Примечание. «←» нет эффекта по отношению к контролю.

Из приведенных данных таблицы следует, что апробированные соединения 4, 6 проявили слабую цитотоксическую активность.

#### Выводы

1. В ходе проведенного исследования установлено, что при нагревании изопро-

пирамида 2-хлорхиолин-4-карбоновой кислоты с гетариламинами с хорошими выходами образуются соответствующие изопропиламиды 2-гетариламинохиолин-4-карбоновой кислоты.

2. Индивидуальность полученных соединений установлена с помощью ТСХ,

а химическая структура – данных ЯМР <sup>1</sup>H-спектров.

3. Фармакологические исследования показали, что апробированные соединения в дозе 25 мг/кг при внутрибрюшинном введении обладают противовоспалительной активностью, которая практически не зависит от химической природы остатка гетероцикла при C<sub>2</sub> атоме хинолина.

4. Поиск новых биологически активных соединений в рядах амидов 2-замещенных хинолин-4-карбоновых кислот является перспективным.

#### Список литературы

1. Бельский М.Л., Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – 2-е изд. – Л.: Медгиз, 1963. – С. 81–106.
2. Колла В.Э., Сыропятов Б.Я. // Дозы лекарственных средств и химических соединений для лабораторных животных. – М.: Медицина, 1998. – 263 с.
3. Павлова М.В., Михалев А.И., Коншин М.Е. и др. Синтез, противовоспалительная и анальгетическая активность 2-замещенных амидов цинхониновой кислоты // Химико-фармацевтический журнал. – 1999. – Т. 33. – № 8. – С. 18–19.
4. Патент № 2130018 (РФ). Изопропиламид 2-(4-хлоранилино)цинхониновой кислоты, проявляющий противовоспалительную и анальгетическую активность / Михалев А.И., Коншин М.Е., Закс А.С., Зуева М.В., Вахрин М.И.
5. Патент № 2364590 (РФ). Изопропиламид 2-(β-2,4-динитрофенилгидразино)цинхониновой кислоты, проявляющий противомикробную активность / Новиков М.В., Михалев А.И., Новикова В.В., Сыропятов Б.Я., Данилова Н.В., Вахрин М.И.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей ред. Р.У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М., Медицина. – 2005. – С. 41–53, 695–709.

7. Mather J.P., Roberts P.E. Introduction to cell and tissue culture. Theory and technique. – Plenum Press. – New York, 1998. – P–314.

#### References

1. Belenkiy M.L., Elementy kolichestvennoy otsenki farmakologicheskogo effekta, 2-e izd., Medgiz, Leningrad. 1963. pp. 81–106.
2. Kolla V.E., Syropyatov B.Ya. Dozy lekarstvennykh sredstv i chimicheskikh soedineniy dlya laboratornykh zhivotnykh. M., Medicina. 1998. pp. 263.
3. Pavlova M.V., Mikhalev A.I., Konshin M.E. i dr. Sintez, protivovospalitel'naya i analgeticheskaya aktivnost 2-zameshennykh amidov tsinxoninovoy kisloty. Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal. 1999. T. 33. no. 8. pp. 18–19.
4. Patent № 2130018 (RF). Izopropilamid 2-(4-khloranilino)tsinkhoninovoy kisloty, proyavlyayushhiy protivovospalitel'nyu i analgeticheskuyu aktivnost / Mikhalev A.I., Konshin M.E., Zaks A.S., Zueva M.V., Vakhnin M.I.
5. Patent № 2364590 (RF). Izopropilamid 2-(β-2,4-dinitrofenilgidrazino)tsinkhoninovoy kisloty, proyavlyayushhiy protivomikrobnuyu aktivnost / Novikov M.V., Mikhalev A.I., Novikova V.V., Syropyatov B.Ya., Danilova N.V., Vakhnin M.I.
6. Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshhestv / pod obshhej red. R.U. Khabrieva. izd. 2-e, pererab. i dop. M., Meditsina. 2005. pp. 41–53, 695–709.
7. Mather J.P., Roberts P.E. Introduction to cell and tissue culture. Theory and technique. Plenum Press, New York. 1998. pp. 314.

#### Рецензенты:

Хомов Ю.А., д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической химии ФДПО и ФЗО, ГБОУ ВПО ПГФА Министерства здравоохранения России, г. Пермь;

Михайловский А.Г., д.фарм.н., профессор кафедры общей и органической химии, ГБОУ ВПО ПГФА Министерства здравоохранения России, г. Пермь.

Работа поступила в редакцию 31.01.2014.