

Тернопільський державний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського
Національний фармацевтичний університет

ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЧАСОПИС

Науково-практичний журнал

3(23)/2012

*Ternopil State Medical University
named after I.Ya. Horbachevsky
National Pharmaceutical University*

PHARMACEUTICAL REVIEW

Scientific-practical journal

Рекомендована д. фармац. наук, проф. Р. Б. Лесиком
УДК 615.015:54.057.853.3:547.674

СИНТЕЗ, БУДОВА ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ 9-АМІНО-5-НІТРОАКРИДИНІЮ 3,5-ДИХЛОРОЗАМІЩЕНИХ N-ФЕНІЛАНТРАНІЛАТІВ

© А. О. Девяткіна, С. Г. Ісаєв, В. Д. Яременко

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: здійснено синтез 9-аміно-5-нітроакридинію 3,5-дихлорозаміщених N-фенілантранілатів. Будову 9 синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу та ІЧ-спектрів. Чистоту контролювали методом тонкошарової хроматографії. Встановлено, що синтезовані речовини проявляють фунгістатичну, бактеріостатичну, протизапальну, діуретичну активність та потенціюють активність бензилпеніциліну натрієвої солі в суббактеріальних концентраціях. За класифікацією К. К. Сидорова синтезовані речовини при внутрішньошлунковому введенні належать до класу малотоксичних сполук ($DL_{50} > 3000 - 6300$ мг/кг).

Ключові слова: синтез, солі 9-аміноакридину, біологічна активність.

Вступ. В Україні, як і в більшості країн світу, інфекційні захворювання залишаються на високому рівні. Мікотична патологія займає провідне місце в структурі інфекційних захворювань. На сьогодні 20 % населення світу є носіями дріжджеподібних грибів [1,15]. Аналіз наукової та патентної літератури свідчить про перспективність пошуку протимікробних, протигрибкових засобів серед похідних акридину [2, 4-14]. На основі вищенаведеного як об'єкт досліджень нами було обрано сполуки катіонно-аніонної будови – 3,5-дихлоро-N-фенілантранілати метилзаміщених 9-аміно-5-нітроакридинію.

Мета дослідження. Вихідні метилзаміщені 9-аміно-5-нітроакридинію ресинтезовані шляхом взаємодії 5-нітро-9-хлоракридинів з амонію карбонатом, а 3,5-дихлоро-N-фенілантранілової кислоти одержані за модифікованою реакцією Ульмана [4, 5] взаємодією 2,3,5-трихлоробензойної кислоти з ариламинами у твердій фазі без розчинника. 3,5-дихлоро-N-фенілантранілати 9-аміно-5-нітроакридинію (I-IX) синтезовано шляхом зливання гарячих етанольних розчинів відповідних кислот із заміщеними 9-аміно-5-нітроакридинію (рис. 1). Синтезовані солі (I-IX) – жовті кристалічні речовини, розчинні у воді (1:50 – 1:100), спирті, ДМСО. Будову та індивідуальність підтвер-

джено даними елементного, ІЧ-спектрального та хроматографічного аналізу (табл. 1). Як свідки при хроматографуванні використовували вихідні речовини [4]. Дані елементного аналізу відповідають розрахованим. В ІЧ-спектрах солей (табл. 1) спостерігаються смуги поглинання, які підтверджують катіонно-аніонний характер синтезованих сполук: $1640-1625$ cm^{-1} ($\nu^{as}_{\text{COO}^-}$), $1485-$

1470 cm^{-1} ($\nu^{as}_{\text{COO}^-}$), $2295-2970$ cm^{-1} (νHN^+).

ІЧ-спектральні характеристики свідчать на користь солеутворення по азоту гетероциклу, а не аміногрупи, що узгоджуються з даними літератури [4, 5]. У спектрограмах солей (I-IX) також ідентифіковані дві смуги поглинання, які відповідають валентним асиметричним ($\nu^{as}\text{NO}_2 = 1544-1528$ cm^{-1}) і симетричним ($\nu^s\text{NO}_2 = 1352-1325$ cm^{-1}) коливанням нітрогрупи.

Діуретичну дію кожної речовини та гіпотіазиду як еталону досліджували за методом Є. Б. Берхіна на 7 білих щурах. Контрольні тварини одержували водне навантаження (1 мл на 20 г ваги). Дослідним щурам за 30 хвилин до водного навантаження вводили внутрішньочеревно досліджувані сполуки у дозі 50 мг/кг у вигляді 5% водної суспензії [3].

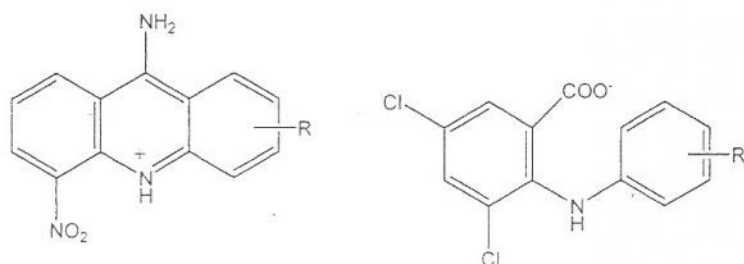


Рис. 1. Метилзаміщені 9-аміно-5-нітроакридинію 3,5-дихлоро-N-фенілантранілати (I-IX).

Таблиця 1. Фізико-хімічні характеристики метилзаміщених 9-аміно-5-нітроакридинію 3,5-дихлоро-N-фенілантранілатів

Сполука	R	R'	Вихід, %	Т. пл. °C	Частота поглинання в ІЧ-спектрах, см ⁻¹							Rf*	
					ν NH ₂	ν NH	ν^{as} COO ⁻	ν^s COO ⁻	ν^{as} NO ₂	ν^s NO ₂	ν C-Cl	1	2
I	1-CH ₃	H	93	205-207	3372 3258	2972	1635	1480	1542	1348	718	0,38	0,42
II	2-CH ₃	2'-CH ₃	94	190-191	3360 3235	2975	1630	1475	1535	1338	712	0,35	0,39
III	4-CH ₃	3'-CH ₃	95	215-217	3355 3258	2972	1632	1470	1537	1340	722	0,34	0,37
IV	2,3-(CH ₃) ₂	4'-CH ₃	94	198-201	3368 3215	2975	1634	1477	1540	1342	718	0,29	0,33
V	2-CH ₃	3',4'-(CH ₃) ₂	91	195-196	3370 3235	2970	1632	1475	1542	1335	708	0,25	0,30
VI	4-CH ₃	4'-OC ₂ H ₅	95	185-187	3355 3228	2974	1638	1478	1544	1332	716	0,31	0,32
VII	2-CH ₃	4'-Br	93	175-177	3359 3233	2982	1628	1478	1538	1345	732	0,24	0,27
VIII	4-CH ₃	4'-Cl	90	212-214	3390 3252	2995	1640	1485	1538	1352	725	0,28	0,29
IX	4-CH ₃	2'-NO ₂	94	182-184	3382 3238	2990	1625	1472	1528	1325	705	0,30	-

Примітка. * – значення Rf наведено в системах: 1–етанол-хлороформ-гексан (2:1,5:1); 2-ацетон-етанол-гексан (1:1:3).

Для виявлення протизапальної активності солей (I-IX) та референс-препарату (диклофенак натрію) досліджували їх здатність пригнічувати розвиток набряку при гострому запаленні, викликаному субплантарним введенням 1% розчину карагеніну в лапку миші [3]. Досліджувані сполуки вводили перорально у вигляді суспензії стабілізованої емульгатором твіном-80 у дозі 10 мг/кг [3]. Анальгетичну дію вивчали на білих безпородних щурах на моделі гарячої пластинки [3]. Солі (I-IX) вводили внутрішньошлунково у дозі 20 мг/кг. Як еталон порівняння використовували анальгін. Гостру токсичність речовин вивчали на білих мишах обох статей при внутрішньо-шлунковому введенні.

Результати й обговорення. За класифікацією К. К. Сидорова метилзаміщені 9-аміно-5-нітроакридинію 3,5-дихлоро-N-фенілантранілати належать до класу малотоксичних або практично нетоксичних речовин, їх DL₅₀ при внутрішньошлунковому введенні мишам перебуває у межах 3000–6300 мг/кг (табл. 2). Слід зазначити, що солі менш токсичні, ніж вихідні 3,5-дихлоро-N-фенілантранілові кислоти [4] та 9-аміно-5-нітроакридинію [4, 5, 9].

Проведені мікробіологічні дослідження показали, що 3,5-дихлоро-N-фенілантранілати 9-аміно-5-нітроакридинію (I-IX) відносно грампозитивних та грамотрибуальних мікроорганізмів про-

являють бактеріостатичну дію в концентрації 1,6 – 250 мкг/мл (табл. 2). Синтезована група речовин більш вибірково діє на золотистий стафілокок та кишкову паличку. Найбільш виражену бактеріостатичну активність проявляють солі (VII-IX), які в аніонному дихлоро-N-фенілантраніловому фрагменті містять нітрогрупу або додатковою ковалентнозв'язаний бром, хлор.

У дослідіах *in vitro* встановлено, що суббактеріостатичні концентрації солей (VII, VIII) підвищують активність бензилпеніциліну натрієвої солі в 45–50 разів відносно золотистого стафілококу та приблизно в 11 разів відносно синьогнійної палички (табл. 3). Таким чином, проведені дослідження підтверджують можливість використання похідних акридину для підвищення специфічної активності дії антибіотиків [7, 9].

Фунгістатична активність 3,5-дихлоро-N-фенілантранілатів 9-аміно-5-нітроакридинію (VI-VIII) відносно *Candida albicans* та *Microsporium canis* складає 9,0–125 мкг/мл (табл. 3). Сполуки (VII, VIII) за протигрибковою активністю перевищують дію нітрофуралу в 6,4-7,1 раза відносно *Candida albicans*.

Серед синтезованих речовин найбільшу протизапальну, анальгетичну та діуретичну активність проявляють сполуки (VII, VIII), які за широтою терапевтичної дії перевищують препарати порівняння – натрію диклофенак, анальгін та гіпотіазид (табл. 2). Сполуки (IV, V) проявля-

Таблиця 2. Біологічна активність метилзаміщених 9-аміно-5-нітроакридинію 3,5-дихлоро-N-фенілантранілатів

Сполука	Бактеріостатична, МПК (мкг/мл)								Протизапальна, % у дозі 10мг/кг	Анальгетична, % у дозі 20мг/кг	Діуретична, % у дозі 50мг/кг	DL ₅₀ , мг/кг (в/шлунково)
	золотистий стафілокок	сінна паличка	кишкова паличка	синьогнійна паличка	Salmonella *							
					1	2	3	4				
I	62,5	250	62,5	125	125	250	250	250	12,3	15,1	128	-
II	125	250	125	250	250	250	250	250	0	0	118	-
III	125	250	125	250	125	125	125	125	20,4	16,5	98	-
IV	62,5	125	62,5	62,5	125	125	62,5	125	28,1	25,3	74	> 3000
V	31,2	250	31,2	125	125	62,5	62,5	125	15,9	0	68	> 5000
VI	62,5	125	31,2	62,5	125	62,5	62,5	125	31,4	0	126	> 4000
VII	1,6	1,6	1,6	1,8	4,2	9,0	5,0	6,2	DE ₅₀ = 5,4 мг/кг	DE ₅₀ = 12,0 мг/кг	370	> 6300
VIII	1,7	1,7	1,9	2,0	4,8	10,0	5,2	6,4	DE ₅₀ = 5,5 мг/кг	DE ₅₀ = 12,2 мг/кг	350	> 6200
IX	31,2	62,5	62,5	125	62,5	62,5	125	250	0	-	133	-
Етакридину лактат	31,2	15,6	31,2	62,5	125	250	125	125	-	-	-	-
Натрію диклофенак (DE ₅₀ = 8мг/кг)	-	-	-	-	-	-	-	-	37,5	-	-	360
Анальгін (DE ₅₀ = 55мг/кг)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	52,0	-	1197
Гіпотіазид у дозі 50мг/кг	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	212	320

Примітки: * – як тест-мікроорганізми використовували: 1) Salmonella choltraesuis, 2) Salmonella Dublin, 3) Salmonella thyphimurium, 4) Salmonella thiphisuis.

Таблиця 3. Фунгістатична активність та результати вивчення потенціовальної дії 9-аміно-5-нітроакридинію 3,5-дихлоро-N-фенілантранілатів на бактеріостатичний ефект бензилпеніциліну натрієвої солі (БПNa)

Сполука	Фунгістатична активність МПК (мкг/мл)		Потенціовальна дія солей 9-аміноакридинію на бактеріостатичний ефект БПNa, МПК (мкг/мл)	
	<i>Candida albicans</i>	<i>Microsporium canis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Сполука VI	31,2	125	-	-
Сполука VII	9,0	62,5	-	-
Сполука VIII	10,0	31,2	-	-
БПNa + VII	-	-	0,18	1,32
БПNa + VIII	-	-	0,20	1,40
БПNa	-	-	0,90	15,6
Нітрофурал	64	125	-	-

ють антидіуретичний ефект на рівні адіурекрину (65%) порівняно з контролем.

Висновки. 1. Встановлено, що одним із способів підвищення ефективності пошуку суб-

станцій з комплексною біологічною активністю (бактеріостатичною, протизапальною, анальгетичною та діуретичною) є одержання сполук катіонно-аніонної будови на основі метилзаміще-

них 9-аміно-5-нітроакридину та 3,5-дихлоро-N-фенілантранілових кислот.

2. Введення в структуру солей 9-аміно-5-нітроакридину як аніонної частини 3,5-дихлоро-N-фенілантранілових кислот сприяє зниженню гостроти токсичності в 2-3 рази.

Література

1. Березняков И. Г. Инфекции и антибиотики / И. Г. Березняков. – Х. : Константа, 2004. – 448 с.
2. Волянський Ю. Л. Перспективи створення протимікробних препаратів на основі акридину і фенантридину / Ю. Л. Волянський, С. Л. Крестецько // Мед. хімія. – 2002. – 4, № 3. – С. 92-98.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
4. Ісаєв С. Г. Синтез, реакційна здатність і біологічна активність похідних орто-галогенбензойних, ароматичних амінокислот та акридину: автореф. дис. ... д-ра фарм. наук. – Х., 2008. – 36 с.
5. Кобзар Н.П. Синтез і біологічні властивості солей на основі заміщених 9-аміноакридину та 5-бром-3-сульфамойл-N-фенілантранілових кислот / Н. П. Кобзар, С. Г. Ісаєв, Н. Ю. Шевельова // Фармац. журн. – 2005. – № 3. – С.76-80.
6. Крестецкая С. Л. Чувствительность дрожжеподобных грибов рода Candida к новым производным акридина и фенантридина / С. Л. Крестецкая // Тези конф. Молодых ученых (ХМУ) (Харьков, 23-25 декабря, 2002). – Х., 2002. – С. 79
7. Метод використання N-фенілантранілатів 9-аміноакридину в якості мікродобавки до бензилпеніциліну натрієвої солі з метою підвищення специфічної активності антибіотика: Інформ. лист №290 – 2009 / С. Г. Ісаєв, Н. Ю. Шевельова, О. А. Бризицький [та ін.] – К., 2009. – Вип. №35 з проблеми «Фармація». – 3 с.
8. Метод одночасного забарвлення та антимікотичної обробки текстильних виробів похідними 9-аміноакридину: Інформ. лист №248 – 2010 / С. Г. Ісаєв, Н. В. Кругленко, О. П. Сумська [та ін.]. – К., 2010. – Вип. № 31 з проблеми «Фармація». – 6 с.
9. Оптимізація пошуку лікарських засобів на основі

3. Запропоновано метод використання 9-аміно-5-нітроакридину 3,5-дихлоро-N-фенілантранілатів в суббактеріостатичних концентраціях для потенціювання активності бензилпеніциліну натрієвої солі щодо золотистого стафілокока та синьогнійної палички.

- акридину: Інформ. лист №289 – 2009 / С. Г. Ісаєв, Н. Ю. Шевельова, М. М. Сулейман, [та ін.]. – К., 2009. – Вип. № 36 з проблеми «Фармація». – 6 с.
10. Пат. 87909 Україна, МПК С07С219/00, А61К31/435 6,9-діаміно-2-етоксіакридиній 4-хлор-N-(2'-нітрофеніл)антранілат, що проявляє антимікробну, протигрибкову, протизапальну, мембраностабілізуючу, антиоксидантну та кардіопротекторну активність / С. Г. Ісаєв, І. А. Зупанець, В. Д. Яременко та ін. – Заявл. 19.11.07 Оубл. 25.08.09. – Бюл.№ 16.
11. Пат. на корисну модель № 60570 Україна МПК 607Д219/10, А61К31/435, А61Р31/04. 3-нітроантранілати заміщених 9-аміноакридину, що проявляють антимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюють дію відносно бензилпеніциліну натрієвої солі / С. Г. Ісаєв, О. А. Бризицький, Н. В. Кругленко [та ін.]. – Заявл. 19.11.10; Оубл. 25.06.11. – Бюл. № 19.
12. Петрушка Ю. Ю. Комп'ютерний прогноз біологічної активності як перший етап синтезу S-гетерилзаміщених L-цистеїну / Ю. Ю. Петрушка, Л. О. Омелянчик // Мед. хімія. – 2010. – 12, № 2. – С. 27-35.
13. Синтез та фармакологічна активність солей 9-аміно-5-нітроакридину / С. Г. Ісаєв, М. М. Сулейман, Д. О. Мамедова, Н. Ю. Шевельова // Зб. наукових праць співробітників КМАПО ім. П. Л. Шупика. – 2009. – Вип. 18, кн. 3. – С. 592-596
14. Синтез і дослідження біологічної активності 5-бром-3-сульфамойл-2-хлорбензоатів заміщених 5-нітро-9-аміноакридину / С. Г. Ісаєв, Н. П. Кобзар, Л. В. Брунь [та ін.] // Мед. хімія. – 2008. – 10, № 3. – С. 54-58.
15. Сміянов В. А. Проблема кандидозно-бактеріальних асоціацій при захворюваннях ЛОР-органів / В. А. Сміянов, Т. В. Іванюк // Новості медицини і фармації. – 2007. – № 17. – С. 22-23.

СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 9-АМИНО-5-НИТРОАКРИДИНА 3,5-ДИХЛОРЗАМЕЩЕННЫХ N-ФЕНИЛАНТРАНИЛАТОВ

А. А. Девяткина, С. Г. Исаев, В. Д. Яременко

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Резюме: осуществлен синтез 9-амино-5-нитроакридиния 3,5-дихлорзамещенных N-фенилантранилатов. Строение 9 синтезированных веществ подтверждено данными элементного анализа и ИК-спектров. Чистоту контролировали методом тонкослойной хроматографии. Установлено, что синтезированные вещества проявляют фунгистатическую, бактериостатическую, противовоспалительную, диуретическую активность и повышают активность бензилпенициллина натриевой соли в суббактериостатической концентрации. По классификации

К. К. Сидорова синтезированные вещества при внутривентриальном введении относятся к классу малотоксичных веществ ($DL_{50} > 3000-6300$ мг/кг).

Ключевые слова: синтез, соли 9-аминоакридина, биологическая активность.

SYNTHESIS, STRUCTURE AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF 9-AMINO-5-NITROACRIDINE 3,5-DICHLOROSUBSTITUTED N-PHENYLANTRANILATES

A. O. Deviatkina, S. H. Isaev, V. D. Yaremenko

National University of Pharmacy, Kharkiv

Summary: the synthesis of 9-amino-5-nitroacridine of 3,5-dichlorosubstituted of N-phenylantranilates was described. The structure of 9 synthesized compounds was proved by the data of elemental analysis and IR-spectra. The purity was controlled by the TLC. It was established that the synthesized compounds possessed fungistatic, bacteriostatic, antiinflammatory, diuretic activity as well as rised activity of benzylpenicilline sodium salt in subbacteriostatic concentration. According to K. K. Sydorov classification synthesized compounds at intrastomach inrtroduction belong to low toxic compounds ($DL_{50} > 3000-6300$ mg/kg).

Key words: synthesis, 9-aminoacridines salts, biological activity.