



Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік  
фармацевтика академиясының

# ХАБАРШЫСЫ

• ВЕСТНИК •



РЕСПУБЛИКАЛЫҚ  
ҒЫЛЫМИ ЖУРНАЛ

РЕСПУБЛИКАНСКИЙ  
НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

UDC 615:542.951.3 / . y 54,057

## SYNTHESIS, STRUCTURE AND PHARMACOLOGICAL STUDIES OF METHYL ESTERS OF 3,5-DIBROMO-N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS

*Diana A. Alferova, Postgraduate Department of Medical Chemistry, of the National University of Pharmacy.  
Ivan S. Gritsenko, first prorektor of the National University of Pharmacy, Doctor of Sciences, Professor, Head of the  
Department of Medical Chemistry.*

*Sergey G. Isaev, Doctor of Pharmacy, Professor of the Department of Medical Chemistry.  
The National University of Pharmacy, Department of Medical Chemistry, Ukraine, Kharkiv*

## SUMMARY

The methyl esters of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids have been synthesized. The structure of the compounds was confirmed by elemental analysis, IR- and NMR-spectroscopy, and individuality by chromatography in a thin layer of sorbent. The results of pharmacological studies suggest that esterification of the carboxyl group of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids leads to the decrease in anti-inflammatory, analgesic and diuretic activity, and leads to the increase of toxicity compared to the initial acids.

Key words: synthesis, N-phenylanthranilic acid, methyl esters, pharmacological properties.

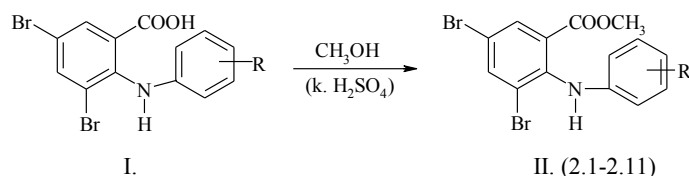
Introduction. Derivatives of N- phenylanthranilic acids are used in medicine as a nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Some of them have proven to be most severe for nonspecific actions, and those that do not cause a degradation of glycosaminoglycans and kolagen of joints [1,7]. Today, derivatives of N- phenylanthranilic acids investigated as potential anti-cancer drugs, as well as those which could be applied in Alzheimer's disease and cardiovascular disease, that is very relevant and necessary, given the increase in morbidity data nosological forms [2-6, 8].

Given the above, the aim of our work was to obtain a number of biologically active compounds – methyl esters of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids and study of their pharmacological properties.

Substituted 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids have been obtained by the Ullmann reaction by the interaction of 3,5-dybromo-2-chlorobenzoic acid with arylamines (method 1) and by arylation of 3,5-dibromoanthranilic acid by halogenbenzenes derivatives (method 2) in the media of n-amyl alcohol (way 1A, 2A), ) in the media of dimethylformamide (way 1B, 2B), without solvent (way 1C, 2C) in the presence of copper or copper (II) oxide [6,8]. Also as a counter synthesis of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids condensation of N-acetyl-3,5-dybromoanthranilic acid with substituted halogenbenzene followed by hydrolysis of N-acyl derivatives has been used (method 3).

In order to increase the solubility of copper ions in aprotic low-polar phase to accelerate the arylation reaction various solubilizers (Tween-80, sodium salts of stearic acid, oleic acid) have been used, which have been added to the reaction mixture in an amount of 2-5 weight percent. Use of sodium oleate as a phase transfer catalyst allows to faster the arylation reaction in 1,7-3,5 times [9].

The synthesis of methyl esters of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids has been carried out by Fischer esterification in the media of absolute methanol in the presence of concentrated sulfuric acid (Table 1, Scheme 1):



Scheme 1

The structure and identity of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids have been confirmed by elemental analysis, IR- and NMR-spectroscopy, chromatographic analysis and qualitative reactions.

In the NMR-spectra of esters signals of aromatic protons in 6,61-8,37 ppm have been identified. Secondary amino group's proton signal appears as a broad singlet in the region of 8,32-9,38 ppm. Characteristic signal of methyl esters is a signal of OCH<sub>3</sub> – group, which is registered in the 3,57-3,75 ppm (Table 2).

IR-spectra of the methyl esters of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids are characterized by a number of intense bands, which correspond to the main structural fragments of molecules of synthesized substances. In the area of 1704-

1670 cm<sup>-1</sup> an intense band corresponding to stretching vibrations ester carbonyl group has been interpreted ( $\nu_{C=O}$ ). In the areas of 1250-1270 cm<sup>-1</sup> and 1090-1050 cm<sup>-1</sup> the stretching vibration bands of C-O-C ( $\nu_{C-O}^{кисл.}$  i  $\nu_{C-O}^{эспирт.}$ ) have been detected, respectively. The first band refers to the stretching vibration of C-O-C – group, to which the main

contribution is made by the fluctuations of “acidic” fragment of the molecule, the main contribution to the second band oscillations is made by the “alcoholic” fragment of the molecule. Stretching vibrations of the C-Br – bond with a band of medium intensity at 628-532 cm<sup>-1</sup> ( $V_{C-Br}$ ). Symmetric and asymmetric vibrations of nitrogroup in the spectrogram (6-8) appear in the areas 1525-1516 cm<sup>-1</sup> ( $V_{NO_2}^{as}$ ) and 1325-1306 cm<sup>-1</sup> ( $V_{NO_2}^s$ ) (Table 2).

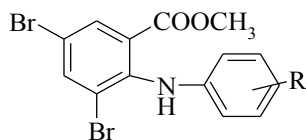
An anti-inflammatory, analgesic, diuretic and bacteriostatic properties of synthesized methyl esters of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids have been studied.

Studies on anti-inflammatory and analgesic activities have revealed that methyl esters did not exceed the reference drug, and some of them never showed these activities (Table 3), the original acids’ pharmacological activities had same or even higher activities than reference drugs (Table 4).

Methyl esters exhibited bacteriostatic activity in relation to Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Echerichia coli and Pseudomonas aureginosa.

The esterification of the carboxylgroup of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids results in toxicity increase (Table 3 and 4).

Table 1 – Methyl esters of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids



Compound	R	Yield, %	Melting point oC1	Quantified, %		Gross formula	Calculated, %		Rf2	
				N	C		N	C	1	2
2.1	H	88	162-164	3,71	43,80	C14H11Br2NO2	3,63	43,66	0,39	0,50
2.2	2'-CH3	84	187-189	3,45	45,03	C15H13Br2NO2	3,50	45,14	0,38	0,49
2.3	4'-CH3	87	154-157	3,54	45,21	C15H13Br2NO2	3,50	45,14	0,40	0,47
2.4	3',4'-CH3	87	204-207	3,43	46,58	C16H15Br2NO2	3,38	46,51	0,35	0,45
2.5	4'-OCH3	82	195-197	3,32	43,44	C15H13Br2NO3	3,37	43,40	0,37	0,44
2.6	4'-OC2H5	85	109-111	3,34	44,75	C16H15Br2NO3	3,26	44,78	0,62	-
2.7	2'-NO2	80	120-122	6,59	39,14	C14H10Br2N2O4	6,51	39,09	0,57	-
2.8	3'-NO2	74	102-103	6,58	39,01	C14H10Br2N2O4	6,51	39,09	0,58	-
2.9	4'-NO2	80	88-90	6,55	39,03	C14H10Br2N2O4	6,51	39,09	0,55	-
2.10	4'-Br	78	155-158	3,49	40,12	C14H10Br3NO2	3,33	40,08	0,30	0,38
2.11	4'-Cl	79	159-161	2,98	36,22	C14H10Br2ClNO2	3,01	36,24	0,28	0,35

Note: 1 Crystallized from aqueous methanol;  
2Rf values are given in solvent systems: 1. Methanol-hexane (1:3).  
2.ethyl acetate- methanol –ammonia (8,5:1:0,5)

Table 2. – IR- and NMR-data of methyl esters of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids

R	IR-spectra									NMR –spectra				
	Absorption frequency									Chemical shift, $\delta$ , m.p.				
	$\nu_{NH}$	$\nu_{C=O}^{acid.}$	$\nu_{C-O}$	$\nu_{C-O}^{acid.}$	$\nu_{C-O}^{alcohol.}$	$\nu_{NO_2}^{as}$	$\delta_{NH}$	$\nu_{C-Br}$	$\nu_{C-Cl}$	NH (1H, s.br.)	-CH3	-OCH2-	COOC H3 (3H,c)	Ar-H
H	332 2	1658	1702	1279	1082	-	1588	584	160 5	9,32	-	-	3,61	6,91- 7,93 (7H,m)
2'- CH3	333 0	1662	1699	1274	1085	-	1575	605	160 0	9,19	2,07 (3H,s)	-	3,62	6,93- 7,91 (6H,m)
4'- CH3	333 4	1664	1700	1272	1085	-	1576	618	159 8	-	-	-	-	-
3',4'- - CH3	334 2	1670	1695	1280	1087	-	1574	620	160 5	9,05	2,19 (3H,s) 2,25 (3H,s)	-	3,62	6,70- 7,93 (5H,m)
4'- OC H3	333 8	1672	1704	1285	1090	-	1578	624	160 7	-	-	-	-	-
4'- OC2 H5	332 5	1648	1688	1276	1057	$\frac{1516}{1306}$	1570	532	159 8	8,32	1,31 (3H,s)	3,90 (2H,s)	3,57	6,82- 8,10 (6H,m)
2'- NO2	331 0	1626	1675	1270	1052	$\frac{1525}{1312}$	1574	540	160 0	9,01	-	-	3,75	6,61- 8,37 (6H,m)
3'- NO2	332 0	1624	1670	1272	1050	$\frac{1520}{1310}$	1578	545	150 0	-	-	-	-	-
4'- NO2	329 5	1625	1685	1272	1056	-	1572	540	159 6	-	-	-	-	-
4'- Br	334 8	1650	1695	1285	1072	-	1576	622	159 8	9,40	-	-	3,61	6,90- 7,94 (6H,m)
4'- Cl	335 8	1648	1698	1290	1082	-	1578	628	160 0	9,38	-	-	3,60	6,74- 7,88 (6H,m)

Table 3. – pharmacological activities of methyl esters of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids

Compound	R	Anti-inflammatory, % in a dose of 10 mg/kg	Analgesic, % in a dose of 20 mg/kg	Diuretic, % in a dose of 50 mg/kg (control group 100%)	Bacteriostatic, MIC, µg/ml				DL50, mg/kg intragastrically (on mice)
					Staphylococcus aureus, ATCC 25923	Bacterium subtilis, ATCC 6639	Echerichia coli, ATCC 25922	Pseudomonas aureginosa, ATCC 97853	
2.1	H	6,8	12,4	122	125	250	125	250	-
2.2	2'-CH <sub>3</sub>	12,7	19,3	78	125	250	125	250	-
2.3	3'-CH <sub>3</sub>	0	0	134	250	500	125	250	-
2.4	3',4'-CH <sub>3</sub>	31,2	34,8	95	250	500	62,5	62,5	>1500
2.5	4'-OCH <sub>3</sub>	24,5	0	75	250	500	125	250	-
2.6	4'-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0	36,1	108,4	62,5	62,5	62,5	250	>1200
2.7	2'-NO <sub>2</sub>	0	0	98,3	62,5	62,5	31,2	125	-
2.8	3'-NO <sub>2</sub>	0	0	-	31,2	62,5	31,2	125	-
2.9	4'-NO <sub>2</sub>	0	0	-	31,2	62,5	31,2	125	-
2.10	4'-Br	22,1	29,3	-	125	250	125	250	-
2.11	4'-Cl	29,5	35,1	132	125	250	125	250	>1500
Diclofenac (ED <sub>50</sub> =8 mg/kg)		37,5	-	-	-	-	-	-	360
Mefenamic acid in a dose of 100 mg/kg		30	-	-	-	-	-	-	628
Metamizole sodium ED <sub>50</sub> =55 mg/kg		-	52,0	-	-	-	-	-	1197
Hydrochlorothiazide in a dose of 50 mg/kg		-	-	212	-	-	-	-	320
Ethacridine		-	-	-	31,2	15,6	31,2	62,5	-
Phthalylsulfathiazole		-	-	-	7,8	7,8	250	-	-

Conclusions. A synthesis of methyl esters of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids has been carried out. By means of physico-chemical methods – elemental analysis, IR and NMR spectroscopy, TLC the structure of compounds have been confirmed. Pharmacological studies of methyl esters of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids have been carried out. The esterification of the carboxyl group of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids results in toxicity increase and in reduce of pharmacological activity.

Table 4. – pharmacological activities of 3,5-dibromo-N-phenylanthranilic acids

Compound	R	Anti-inflammatory, % in a dose of		Analgesic, % in a dose of 20 mg/kg	Diuretic, % in a dose of 50 mg/kg	Bacteriostatic, MIC, µg/ml				DL50, mg/kg intra Gastrically (on mice)
		10 mg/kg	20 mg/kg			St. Aureus, ATCC 25923	Bacterium subtilis, ATCC 6639	Ech. Coli, ATCC 25922	Pseud. Aureginosa, ATCC 97853	
2.1	H	-	12,6	20,5	132,9	250	500	250	250	-
2.2	2'-CH3	-	14,2	22,7	180,2	250	250	250	500	-
2.3	3'-CH3	-	34,5	39,8	216,2	250	500	250	250	>3000
2.4	3',4'-CH3	39,5	44,2	40,5	218,5	250	500	125	125	>3500
2.5	4'-OCH3	0	10,2	0	225	250	500	250	250	-
2.6	4'-OC2H5	14,1	-	0	185,6	62,5	125	125	125	>3000
2.7	2'-NO2	26,7	-	9,5	120,5	62,5	31,2	62,5	125	>2500
2.8	3'-NO2	21,6	-	-	140,0	31,2	62,5	125	125	-
2.9	4'-NO2	11,6	-	-	-	31,2	62,5	125	125	-
2.10	4'-Br	25,1	35,4	39,2	284,5	250	250	125	125	>3500
2.11	4'-Cl	32,5	40,8	30,4	290	250	250	125	125	>3500

LITERATURE

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства / Изд. 15-е, перераб., испр. и доп. – М.: Новая волна, 2005. – 1200 с.
2. Tsutomu, Nakahara. Vascular Pharmacol / Nakahara Tsutomu, Mitani Akiko, Saito Maki et al // 2004. – Vol.41, Iss. 1. P. 21-25.
3. Gwanyanya Asfree. Inhibition of the calcium-activated chloride current in cardiac ventricular myocytes by N-(p-aminocinnamoyl)anthranilic acid (ACA) / Asfree Gwanyanya, Regina Macianskiene, Virginie Bito, Karin R. Sipido et al. // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2010. Vol. 402, Issue 3. – P. 531-536.
4. Lloyd J. The synthesis and structure-activity relationship of substituted N-phenyl anthranilic acid analogs as amyloid aggregation inhibitors / Lloyd J. Simons, Bradley W. Caprathe, Michael Callahan, James M. Graham et al. // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2009. Vol. 19, Issue 3. - P. 654-657.
5. Darby Schmidta. Anthranilic acid replacements in a niacin receptor agonist / Darby Schmidta, Abigail Smentona, Subharekha Raghavana, Hong Shena et al. // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2010. Vol. 20, Issue 11. – P. 3426-3430.
6. Varnavas Antonio. Anthranilic acid based CCK1 receptor antagonists: preliminary investigation on their second “touch point” / Antonio Varnavas, Lucia Lassiani, Valentina Valenta, Laura Mennuni et al. // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2005. Vol. 40, Issue 6. – P. 563-581.
7. Sharma Shalabh. Newer N-substituted anthranilic acid derivatives as potent anti-inflammatory agents / Shalabh Sharma, Virendra Kishor Srivastava and Ashok Kumar // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2002. Vol. 37, Issue 8. – P. 689-697.
8. Cocco Maria T. Synthesis of new N-(2-(trifluoromethyl)pyridin-4-yl)anthranilic acid derivatives and their evaluation as anticancer agents / Maria T. Cocco, Cenzo Congiu, Valentina Lilliu, Valentina Onnis // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2004. Vol. 14, Issue 23. - P. 5787-5791.

РЕЗЮМЕ

Синтез, строение и фармакологические исследования метиловых эфиров 3,5-дибром-п-фенилантранилиловых кислот

Д.А. Алфёрова, И.С. Гриценко, С.Г. Исаев

Национальный фармацевтический университет, кафедра медицинской химии, г. Харьков, Украина

Осуществлен синтез метиловых эфиров 3,5-дибром-N-фенилантранилиловых кислот. Строение соединений подтверждено данными элементного анализа, ИК- и ПМР-спектроскопией, а индивидуальность методом хроматографии в тонком слое сорбента. Результаты фармакологических исследований свидетельствуют, что эстерификация карбоксильной группы 3,5-дибром-N-фенилантранилиловых кислот приводит к уменьшению противовоспалительной, анальгетической и диуретической активности, а также к повышению токсичности по сравнению с исходными кислотами.

## ТҮЙІН

3,5-Дибром-п-фенилантранилқышқылдарыны метил эфирлерінің синтезі, құрылымы және фармакологиялық зерттеулері

*Д.А. Алфёрова, И.С. Грищенко, С.Г. Исеев*

*Ұлттық фармацевтикалық университеті, медициналық химия кафедрa, Харьков қ., Украина*

3,5-Дибром-п-фенилантранилқышқылдарыны метил эфирлерінің синтезі жүргізілді. Қосылыстың құрылымы мына элементтік сынамамен дәлелденді, ИК- және ПМР-спектроскопиясы, ал индивидуальділігі хроматография әдісімен. Фармакологиялық зерттеулер нәтижесі, 3,5-дибром-N-фенилантранил қышқылдарының карбоксильді тобының қабынуға қарсы, анальгетикалық және диуретикалық әсерлерін, оған қоса бастапқы қышқылдармен салыстырғанда ұйтылығының жоғарылауын корсетті.

УДК 615.371:616-036.22:616.24-002:616.921.5

**ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЛЕЧЕНИЯ ГРИППА И ПНЕВМОНИИ В СИСТЕМЕ  
ОЦЕНКИ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ (НТА)**

*А.С. Немченко, Л.С. Симонян, В.Н. Назаркина*

*Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина*

## АННОТАЦИЯ

Проведена фармакоэкономическая оценка препаратов, используемых для лечения и профилактики гриппа и других ОРВИ. Данный анализ позволил определить оптимальные противовирусные препараты с точки зрения их безопасности, эффективности и экономической целесообразности применения.

Ключевые слова: грипп, пневмония, ОРВИ, фармакоэкономическая оценка, оценка медицинских технологий.

Грипп и острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) занимают лидирующее место в мире среди всех инфекционных заболеваний, что составляет 95% всех случаев инфекций [2]. Грипп представляет собой серьезную проблему общественного здравоохранения, которая вызывает тяжелые последствия и приводит к смертельным исходам в группах населения повышенного риска. Эпидемия может оказывать негативное воздействие на экономику в связи со снижением производительности трудовых ресурсов и создавать чрезмерную нагрузку для служб здравоохранения. В районах с умеренным климатом эпидемии гриппа происходят ежегодно в осеннее и зимнее время года. Во всем мире ежегодные эпидемии приводят примерно к 3-5 млн. случаев тяжелой болезни и примерно к 250- 500 тыс. летальных исходов. В некоторых тропических странах вирусы гриппа циркулируют круглый год, достигая одного или двух пиков во время дождливых сезонов.

На лечение гриппа и его осложнений ежегодно в мире расходуется около 14,6 млрд. долл. США. По результатам проведенного нами статистического анализа расходы на лечение каждого случая гриппа в Украине составляет в среднем 272-544 грн. Согласно статистическим данным, в течение года взрослые болеют в среднем около 2-3 раз, дети – до 6-10 раз. Потеря трудоспособности при заболевании гриппом составляет 6-14 дней. Учитывая исключительно высокую заболеваемость (ежегодно гриппом болеет каждый шестой житель Украины) убытки от гриппа для экономики страны растут с каждым годом [4]. Актуальность разработки методологии комплексной фармакоэкономической оценки лечения и профилактики гриппа и ОРВИ в системе НТА обусловлена глобальностью распространения инфекции, изменчивостью и сложностью диагностики возбудителей, высокой вероятностью возникновения осложнений, что приносит значительные экономические убытки как для системы здравоохранения и общества в целом, так и для отдельных больных. Целесообразно рассматривать данную проблему не только как медицинскую, но и как социально-экономическую.

Фармакоэкономическая оценка (ФО) является составляющей общей методологии оценки медицинских технологий (HealthTechnologyAssessments – НТА) и возникает как метод идентификации, исследования и сравнения показателей клинической эффективности и прямых медицинских затрат (стоимости фармакотерапии) в применении медицинских технологий (МТ) с целью прогнозирования их преимуществ для отдельного больного и системы здравоохранения в целом, а также общества в кратко- и среднесрочной перспективе. ФО должна осуществляться в четыре этапа: подготовительный; организационно-аналитический; расчетно-экспериментальный; заключительный (рис. 1).