

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ НАН УКРАЇНИ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ



ЖУРНАЛ
ОРГАНІЧНОЇ
ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ
ХІМІЇ

THE JOURNAL
OF ORGANIC
AND PHARMACEUTICAL
CHEMISTRY

ЖУРНАЛ
ОРГАНИЧЕСКОЙ
И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ
ХИМИИ

Том 6, випуск 1(21), 2008

Харків
НФаУ

Редакційна колегія:

М.О.Лозинський (головний редактор), В.П.Черних (головний науковий консультант), С.А.Андронаті (Одеса), П.О.Безуглий (Харків), І.П.Белецька (Москва), В.В.Болотов (Харків), В.П.Георгієвський (Харків), І.С.Гриценко (заступник головного редактора), О.І.Гризодуб (Харків), Б.С.Драч (Київ), М.С.Зефіров (Москва), Б.С.Зіменковський (Львів), А.Я.Льченко (Київ), В.І.Кальченко (Київ), С.М.Коваленко (Харків), В.М.Ковальов (Харків), В.О.Ковтуненко (Київ), Т.А.Костіна (відповідальний секретар), В.П.Кухар (Київ), В.Ю.Пашинник (секретар секції органічної та елементорганічної хімії), О.М.Пінчук (Київ), А.Ф.Попов (Донецьк), Ю.О.Сергучов (Київ), А.Д.Синиця (Київ), В.І.Станінець (Київ), О.І.Толмачов (Київ), В.П.Хиля (Київ), О.О.Цуркан (Київ), О.П.Швайка (Донецьк), Ю.Г.Шермолович (Київ), Л.М.Ягупольський (Київ)

Редакційна рада:

О.М.Біловол (Київ), М.В.Вовк (Київ), М.І.Ганушак (Львів), А.М.Демченко (Чернігів), С.М.Десенко (Харків), О.В.Доровський (Харків), В.А.Загорій (Київ), М.Г.Лук'яненко (Одеса), І.А.Мазур (Запоріжжя), В.І.Марков (Дніпропетровськ), В.П.Новіков (Львів), В.В.Петренко (Запоріжжя), Б.О.Прийменко (Запоріжжя), Н.Ю.Ростовцева (Київ), А.О.Толмачов (Київ), І.В.Українець (Харків), В.Я.Чирва (Сімферополь), О.Г.Юрченко (Київ), Ю.Л.Ягупольський (Київ)

У журналі розглядаються проблеми синтезу та аналізу органічних та елементорганічних сполук, синтезу аналогів природних сполук та лікарських субстанцій, результати фізико-хімічних досліджень у вищезазначених напрямках.

Для працівників науково-дослідних установ, вищих навчальних закладів та фахівців хімічного, фармацевтичного, біологічного, медичного і сільськогосподарського профілю.

“Журнал органічної та фармацевтичної хімії” за рішенням ВАК України внесено до переліку видань, рекомендованих для публікації матеріалів дисертацій зі спеціальностей: органічна хімія, елементорганічна хімія, фармацевтична хімія і фармакогнозія (хімічні і фармацевтичні науки). Бюлетень ВАК України, №4, 2004 р.

Затверджено до друку Вченою радою Інституту органічної хімії, протокол №3 від 18.02.2008 р.

Затверджено до друку Вченою радою Національного фармацевтичного університету, протокол №8 від 25.02.2008 р.

Адреса для листування: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Національний фармацевтичний університет, редакція “Журналу органічної та фармацевтичної хімії”, тел./факс (057) 706-30-63. E-mail: press@ukrfa.kharkov.ua

Передплатні індекси: для індивідуальних передплатників — 08383, для підприємств — 08384

Міністерство України у справах преси та інформації. Реєстраційний №7392. Серія КВ від 05.06.2003 р.

Підписано до друку 26.02.2008 р. Формат 60x84 1/8. Папір офсетний. Друк ризо.

Умовн. друк. арк. 9,3. Обліков.-вид. арк. 10,76. Тираж 160 прим. Зам. 3-99.

Літературний редактор — А.Л.Краснікова. Художній редактор — І.М.Величко. Комп'ютерна верстка — О.М.Білинська.

Видавництво Національного фармацевтичного університету

“Журнал органічної та фармацевтичної хімії”. Том 6, випуск 1(21), 2008

ISSN 0533-1153

©Національний фармацевтичний університет, 2008

УДК 547.281

2-METHYL-6,6-BIS(TRIFLUOROMETHYL)CYCLOHEX-3-ENE-1-CARBALDEHYDE: REACTIVITY AND APPLICATION AS A MODEL FOR THE PREPARATION OF 16,16,16,17,17,17-HEXAFLUORORETINAL ANALOGS

Sarah Boichut, Cecile Boyer, Klaus Burger*, Alois Haas, Klaus Merz, Thierry Pages, Tilman Wallmichrath

Department of Chemistry, Ruhr University of Bochum, D-44780 Bochum

* Department of Organic Chemistry, University of Leipzig, D-04103 Leipzig

Keywords: 2-Methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-ene-1-carbaldehyde; 16,16,16,17,17,17-Hexafluororetinal Analogs

New approaches to 16,16,16,17,17,17-hexafluororetinal and analogs, via 2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohexanone and 2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-1-ene-1-carbaldehyde (7,7,7,8,8,8-hexafluoro- β -cyclocitral) are presented. An efficient synthesis for 2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)-cyclohex-3-ene-1-carbaldehyde starting from hexafluoroacetone has been described and used for preparing reactive building blocks. The crystal structures of 6, 15 and 23 have been provided and the influence of the bis(trifluoromethyl)-group on bond lengths and angles have been discussed.

2-МЕТИЛ-6,6-БИС(ТРИФТОРОМЕТИЛ)ЦИКЛОГЕКС-3-ЕН-1-КАРБАЛЬДЕГИД: РЕАКЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ТА ВИКОРИСТАННЯ У ЯКОСТІ МОДЕЛІ ДЛЯ ОТРИМАННЯ 16,16,16,17,17,17-ГЕКСАФТОРОРЕТИНАЛЬНИХ АНАЛОГІВ

Сара Бойшу, Сесіль Бойер, Клаус Бюргер, Алоїз Хаас, Клаус Мерц, Тьєррі Пейдж, Тільман Воллміхрат

Представлені нові підходи до отримання 16,16,16,17,17,17-гексафтороретиналу та його аналогів через 2-метил-6,6-бис(трифторометил)циклогексанон і 2-метил-6,6-бис(трифторометил) циклогекс-1-ен-1-карбальдегід (7,7,7,8,8,8-гексафторо- β -циклоцитрал). Описаний ефективний синтез 2-метил-6,6-бис(трифторометил)-циклогекс-3-ена-1-карбальдегіду з вихідного гексафтороацетону, який використовується для отримання будівельних блоків реакції. Наведені кристалічні структури 6, 15 і 23, а також обговорений вплив бис(трифторометил)-групи на довжину та кути зв'язків.

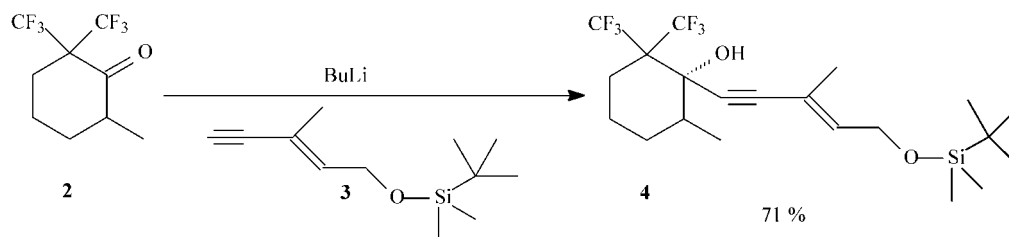
2-МЕТИЛ-6,6-БИС(ТРИФТОРОМЕТИЛ)ЦИКЛОГЕКС-3-ЭН-1-КАРБАЛЬДЕГИД: РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ И ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ МОДЕЛИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ 16,16,16,17,17,17-ГЕКСАФТОРОРЕТИНАЛЬНЫХ АНАЛОГОВ

Сара Бойшу, Сесиль Бойер, Клаус Бюргер, Алоиз Хаас, Клаус Мерц, Тьерри Пейдж, Тильман Воллмихрат

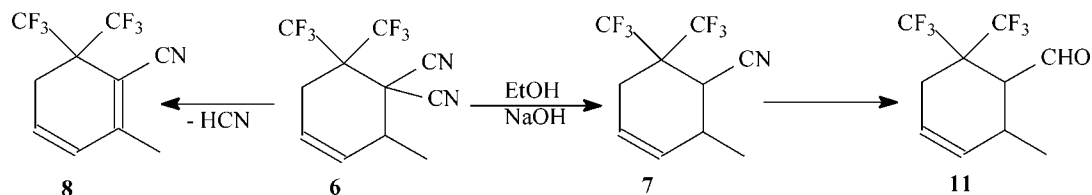
Представлены новые подходы к получению 16,16,16,17,17,17-гексафтороретинала и его аналогов через 2-метил-6,6-бис(трифторометил)циклогексанон и 2-метил-6,6-бис(трифторометил) циклогекс-1-эн-1-карбальдегид (7,7,7,8,8,8-гексафторо- β -циклоцитрал). Описан эффективный синтез 2-метил-6,6-бис(трифторометил)-циклогекс-3-эна-1-карбальдегида из исходного гексафтороацетона, применяемый для получения строительных блоков реакции. Приведены кристаллические структуры 6, 15 и 23, а также обсуждено влияние бис(трифторометил)-группы на длину и углы связей.

A world wide interest in fluorinated organic molecules is justified by their unpredictable biological properties mostly in a favourable way. Fluorinated retinals are active against some viral diseases and obstructions of the central nerve system; they are used in anaesthesia, as antibiotics and against diabetes [1-6]. In addition they are increasing metabolic stability and lipophilicity, enhancing *in vivo* absorption and transport rates, as well as improving permeability through

certain body barriers [7, 8]. The trifluoromethyl group is attractive since it is relatively non-toxic and somewhat more stable than the difluoromethyl and the monofluoromethyl group [9, 10]. As far as retinals are concerned it was expected, especially by a bis(trifluoromethyl)-substitution in position 1, a reduction of the metabolism rate and hence an increase of their pharmacological activity. Recently, retinal was in the focus of some groups in industry and academia. The



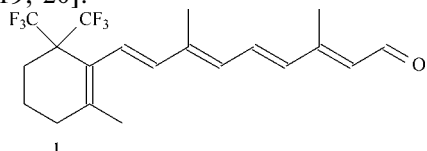
Scheme 1



Scheme 2

methyl groups in position 16 [11], 18 [12], 19 [13, 14] and 20 [15, 16] of retinal have been replaced by trifluoromethyl moieties.

Surprisingly the preparation of 16,16,16,17,17,17-hexafluororetinal (1) bearing a geminal pair of trifluoromethyl groups, is not described. A straight forward route was tested: the direct coupling of 2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)-cyclohexanone (2) [17] with an O-silylated Nakanishi type alcohol 3 [18], which was added to the carbonyl group of 2 *via* a lithiated acetylene moiety to give adduct 4 as a 3:1 mixture of diastereomers in 73% yield (Scheme 1). Unexpectedly, the final step of the synthesis, the introduction of the CC double bond *via* elimination of water turned out to be highly problematic. We tested several standard protocols for H₂O elimination, so far without success [19, 20].



Therefore, an alternative approach was started. From 2,2-bis(trifluoromethyl)ethylene-1,1-dicarbonitrile (5) [21] and (E)-1,3-pentadiene in a Diels-Alder reaction 1,1-bis(trifluoromethyl)-5-methyl-6,6-dicyanocyclohexa-diene (6) was synthesized [22] and transferred via a 4 step synthesis (7 → 8 → 9) to 7,7,7,8,8,8-hexafluoro-β-cyclocitral (10), the ideal synthon for preparing 1 [23]. The weakness of this procedure was step 7 → 8, an allylic bromination with NBS providing 1,1-bis(trifluoromethyl)-5-methyl-6-cyano-cyclohexa-3,5-diene (8) only in low yields after a long lasting separation by MPLC. Therefore a more efficient route was demanded. Two routes were pursued: elimination of HCN from the 6 to 8 and the application of other halogensuccinimids. The first route, treating 6 in acidic media (conc. HCl, conc. H₂SO₄, CF₃SO₃H in CCl₄ at 20°C, 24h), did not provide 8. Under more drastic acidic conditions (refluxing in CF₃SO₃H) 6 decomposed in an uncontrolled way.

Reactions using fluoride ions, known as a strong base under certain conditions [24] gave, while refluxing

with a mixture of 5 parts KF in CH₃CN (20h) in the presence of 18-Crown-6, a 37% yield of compound 7 (calculated by ¹H NMR).

These experiments confirm that both EtO⁻ and F⁻ act as nucleophiles and not as bases. The reaction using fluoride anion as a nucleophile in a non-protic solvent like CH₃CN probably implies a hydrogen transfer from the solvent.

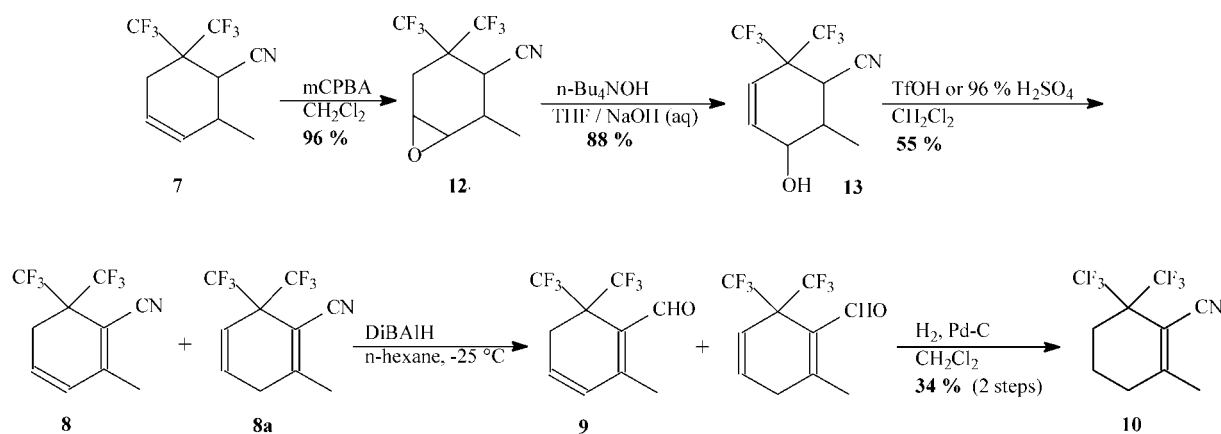
No reactions were observed investigating route two, between 1,1-bis(trifluoromethyl)-5-methyl-6-cyano-cyclohexa-3-ene (7) with NSCl or NSI.

Furthermore, allylic hydroxylation of 7 with SeO₂, isomerization of the double bond, to get the corresponding 8 failed. Similar attempts to isomerize 7 under basic or acidic conditions (DBU, ether; conc. sulfuric acid; excess of TfOH), were unsuccessful and the starting material was recovered.

A new pathway was tested, avoiding allylic halogenation and MPLC purification steps. The CC double bond of 7 was transformed by m-CPBA to give epoxide 12. Under basic conditions, allyl alcohol 13 was obtained and dehydrated in acidic media to give nitriles 8 and 8a, isolated as an isomeric mixture according to Scheme 3.

The different experiments, carried out to dehydrate 13 With P₄O₁₀ in CH₂Cl₂ at 20°C (12h) were not satisfactory. Better results were obtained with conc. sulfuric acid or triflic acid in DCM providing the two isomers 8 and 8a in a 9:1 ratio, which were characterized by ¹H-NMR spectroscopy. The nitrile functions of the isomers were transformed into aldehyde moieties in low yields (30-50%). They were not isolated but directly hydrogenated to a mixture, which was purified by liquid chromatography (glass column, eluant: pentane / AcOEt, 98:2) giving the conjugated aldehyde 10, in 34% yield (calculated from the nitriles 8 and 8a). This corresponds to results published earlier [23], but the procedure is less time consuming.

An additional attempt elucidating a promising precursor was the preparation of 1,1-bis(trifluoromethyl)-5-methoxy-6,6-dicyanocyclohex-3-ene (14) from 5 and 1-methoxybutadiene. This route was not pursued. Instead 2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-



Scheme 3

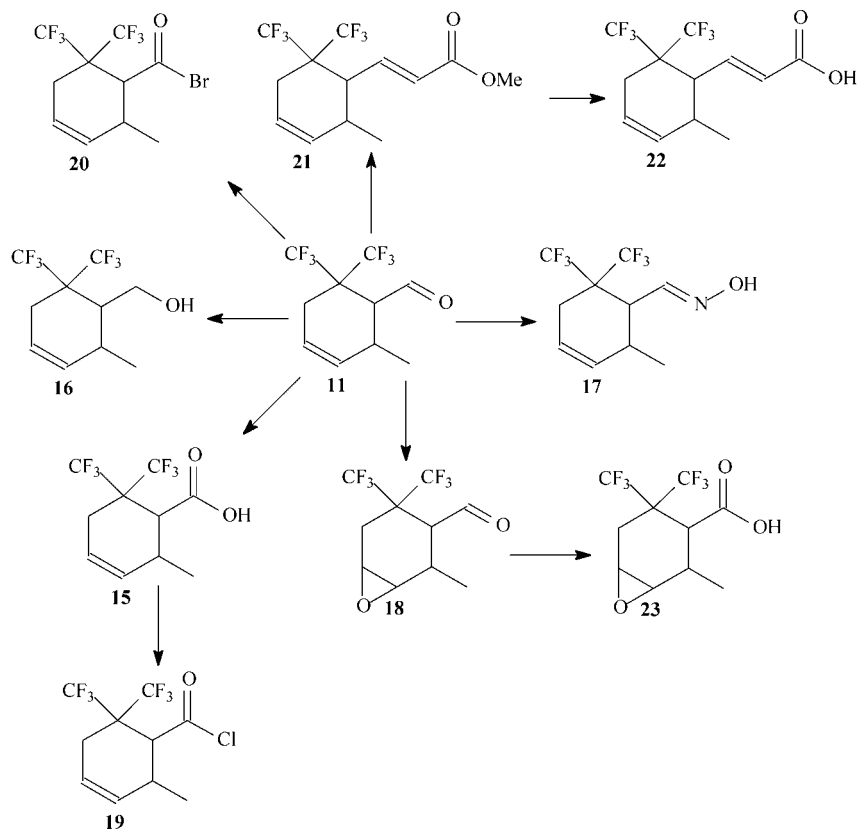
ene-1-carbaldehyde (11) was made from 7 as shown in Scheme 2 in preparative amounts. The easy access made 11 the preferred synthon and was used as a model for studying the influence of the bis(trifluoromethyl) group on the reactivity of the aldehyde function. The compounds synthesized are summarized in Scheme 4. Only a mixture of NaClO_2 , NaH_2PO_4 and H_2O_2 oxidized it to the acid 15 in 70% yield. With *m*-CPBA 11 was oxidized to give the epoxialdehyde 18 and the acid 23 was obtained from 18 similarly to the preparation of 15. With hydroxylamine 17 is formed and the reduction with NaBH_4 provided alcohol 16. The acid bromide 20 was obtained from 11 and bromosuccinimid in CCl_4 . The corresponding acid chloride 19 was made by chlorinating 15 with oxalyl chloride, PCl_5 or SOCl_2 . A Wittig-Horner-Reaction of 11 with trimethyl-phosphonoacetate converted it into the corre-

sponding methyl ester 21, which was hydrolyzed to give acid 22.

These compounds represent a substantial number of bis(trifluoromethyl) substituted cyclohexenes and provide an interesting class of building blocks.

The present structure determinations of 6, 15 and 23 were undertaken to investigate the influence of a geminal pair of trifluoromethyl groups on further substituents on the ratinal ring backbone.

The molecule 6 is shown in Fig. 1. A striking feature of 6 is the angle of the dicyano group with 105.9° which is different to the angle of 108.1° in the dicyano group of dicyano-2-ethoxy-6-isopropyl-4-methylcyclohex-3-ene. Within experimental error, the influence of the neighbouring trifluoromethyl group on the dicyanogen group in 6 is similar to the values in 2,3-dichloro-5,5-dicyano-6,6-bis(trifluoromethyl)norborane [25]. There



Scheme 4

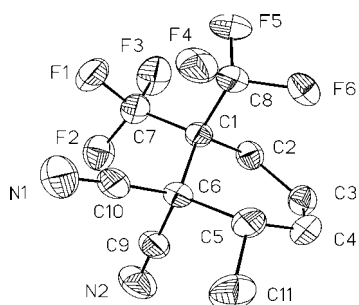


Fig. 1. The molecular structure of 6 with displacement ellipsoids for non-H atoms at the 50% probability level. Hydrogen atoms are omitted for clarity

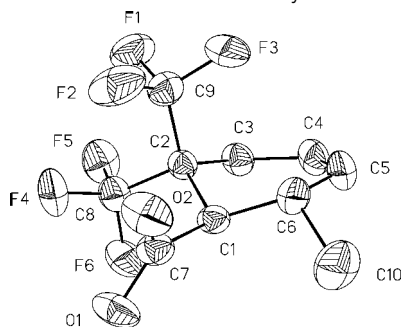


Fig. 2. The molecular structure of 15 with displacement ellipsoids for non-H atoms at the 50% probability level. Hydrogen atoms are omitted for clarity.

are slightly short CN bonds 1.137 \AA and 1.140 \AA than the observed distance of 1.143 \AA and 1.145 \AA in dicyano-2-ethoxy-6-isopropyl-4-methylcyclohex-3-ene [26].

The structures of 15 and 23 are presented in Fig. 2 and 3. Both retinal molecules consist of a carboxy group which is neighbouring to the bis(trifluoromethyl) group. In contrast to 15, a slight influence of the geminal pair of trifluoromethyl group on the carboxy function of 23 is observable. The C=O bonds in 23

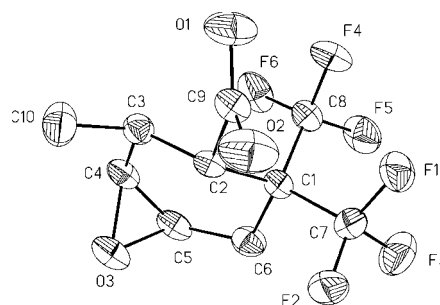
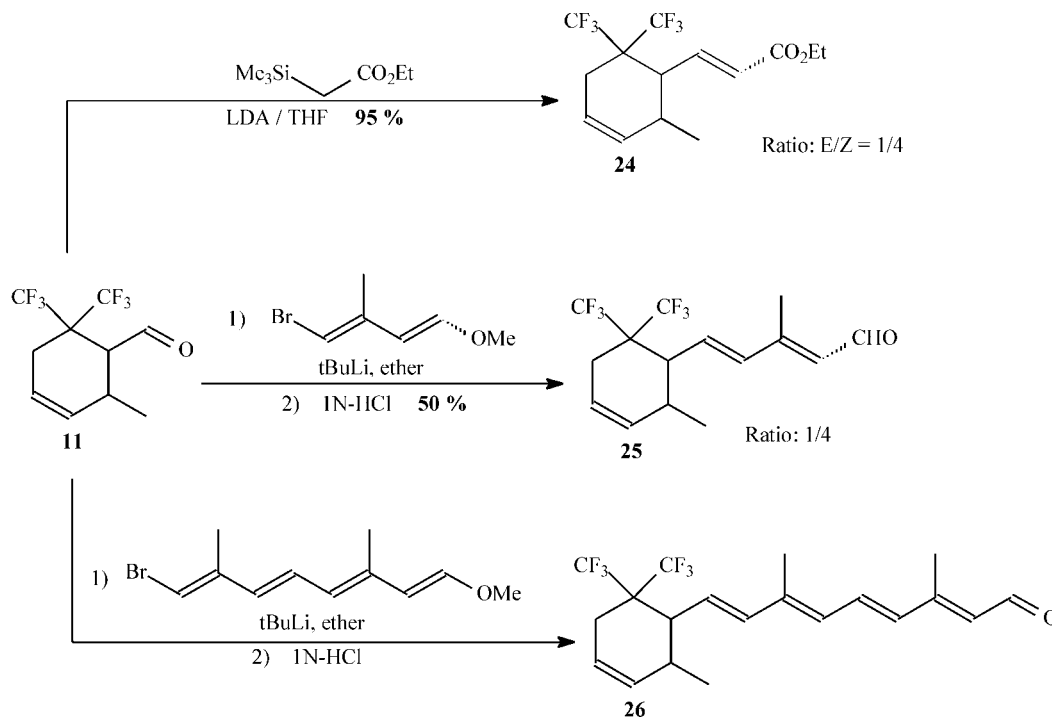


Fig. 3. The molecular structure of 23 with displacement ellipsoids for non-H atoms at the 50% probability level. Hydrogen atoms are omitted for clarity.

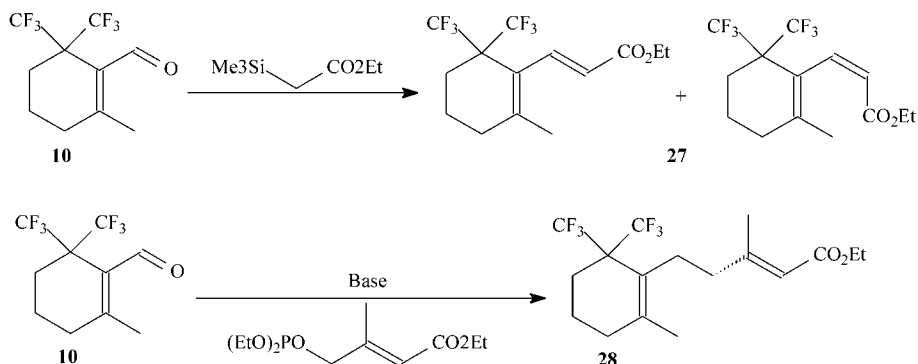
with 1.189 \AA is slightly shorter than the C=O value observed for carboxylic acids in the literature [27]. Furthermore the C-O bond lengths of the epoxy group with 1.434 and 1.444 \AA are shorter than the C-O bond lengths in a comparable epoxy substituted ring system [28]. There is no influence of the geminal pair of trifluoromethyl group on the retinal ring geometry observable. All of the bond lengths and bond angles in the ring backbone of the compounds 6, 15 and 23 are in the normal range.

Condensations leading to precursors of the target molecule 1

Target molecule 1 can be prepared from 10 in a number of ways [29]. A coupling reaction was chosen in order to have a convergent synthesis but also trying to minimize the ratio of the isomeric products usually obtained in such a synthesis. The synthons for building up the side chain are either commercially available or are readily prepared by literature methods [30]. Although the targeted part 10 of the bis(trifluoromethylated) vitamin A is available by two different routes the easier accessible aldehyde 11 was used to test some coupling methodology.



Scheme 5



Scheme 6

The first attempt was made with the commercially available ethyl 2-trimethylsilyl acetate in THF in the presence of LDA. The expected product 24 was obtained in 95% yield as a mixture of E/Z isomers in a ratio of 1:4. It was also formed as methyl esters 24a from 11 and trimethylphosphono acetate in 72% yield. Condensation of 11 with lithiated $\text{BrCH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}=\text{CHOCH}_3$, prepared *in situ* by halogen-metal exchange, led to the desired condensation products 25 characterized by ^1H -, ^{13}C NMR spectra and GC-MS data. Two isomers were obtained. However, by-products could not be removed completely by liquid chromatography (glass column). Therefore, the yield was determined spectroscopically. Analogously 11 reacted with the lithiated $\text{BrCH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}=\text{CHCH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}=\text{CHOCH}_3$ giving a mixture of products. After purification a single isomer 26 was obtained and characterised by ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra, see Scheme 5.

When 10 reacted, under conditions described above, the expected compounds were obtained, as shown in Scheme 6, but in rather low yields. Based on practical experience made before, 10 is used as the appropriate synthon for building up the side chain. With ethyl 2-trimethylsilylacetate it reacted to the corresponding 27 consisting of two isomers (ratio 2:1) and characterised by GC-MS analysis. With ethyl-3-methyl-4-(diethylphosphono)-but-2-enoate 10 formed 15% of 28 as a 1:1 mixture of two isomers. According to these results it can be concluded that 10 is less reactive than 11, forming with increasing chain length less stable retinal analogues.

Acknowledgements: This work was supported by the European Commission in Brussels, Project-Number ERB FMR-XCT 970120. The authors are grateful for generous financial support.

Experimental

The compounds 2 [17], 6 [22] and 7-10 [23] were synthesised according to literature methods. IR spectra were recorded in cm^{-1} , neat between KBr pellets, using a Bruker Vektor 22 and Bruker FT-IR-spectrometer IFS. NMR spectra were recorded, if not otherwise stated with a Bruker WP 80 PFT spectrometer (^{19}F), ^1H , and ^{13}C NMR spectra were obtained using an AM 400 PFT-NMR spectrometer. In general CDCl_3 was employed as a solvent at 25°C . As reference standards (δ in ppm, J in Hz), TMS was used for ^1H and ^{13}C (internal), and for ^{19}F NMR spectra FCCl_3 (internal).

If not otherwise stated mass spectra m/z , (%) of liquids were obtained with a HP-gaschromatograph 5890 with a 12,5 m capillary column covered with OVI and an HP MS Engine 5989 A and an electron ionisation (EI, 70eV). Solids were recorded (EI, 70eV) with a Varian MAT-CH 7 instrument.

Crystal structure determinations The intensities were measured with a Bruker-axs-SMART diffractometer ($\text{MoK}\alpha$ radiation, $\lambda = 0.7107 \text{ \AA}$, ω -Scan, $T = 213 \text{ K}$, the structures were solved by direct methods. Refinements were carried out with the SHELXL-97 package. All non-hydrogen atoms were refined with anisotropic temperature factors. The hydrogen atoms were placed in calculated positions and refined isotropically in riding mode. All refinements were made by full-matrix least-squares on F^2 . Crystallographic data (excluding structure factors) for the structures reported in this paper have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre as supplementary publication no. CCDC 632394-632396. Copies of the data can be obtained free of charge on application to CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK (fax: (+44)1223-336-033; email: deposit@ccdc.cam.ac.uk).

| Crystal data | 6 | 15 | 23 |
|--|---|--|---|
| Empirical formula | $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{F}_6\text{N}_2$ | $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{F}_6\text{O}_2$ | $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{F}_6\text{O}_3$ |
| Formula weight | 282.19 | 276.18 | 291.17 |
| Space group | $P2_1/c$ | $Pbca$ | $P2_1$ |
| a (Å) | 7.228(2) | 11.965(2) | 6.926(1) |
| b (Å) | 13.312(4) | 12.332(3) | 10.305(2) |
| c (Å) | 12.367(4) | 15.342(3) | 7.996(1) |
| β ($^\circ$) | 103.10(3) | 90 | 104.707(4) |
| V (Å^3) | 1159.0(5) | 2263.7(8) | 552.06(16) |
| Z | 4 | 8 | 2 |
| μ ($\text{Mo-K}\alpha$) (mm^{-1}) | 1.617 | 1.621 | 1.752 |
| 2 θ Range ($^\circ$) | 50 | 50 | 50 |
| Refl. coll. | 4867 | 5202 | 2873 |
| Ind. Refl. | 2025 ($R_{int}=0.0258$) | 1904 ($R_{int}=0.0812$) | 1477 ($R_{int}=0.0202$) |
| R_1 and wR_2 [$I > 2\sigma(I)$] | 0.0358, 0.0917 | 0.0469, 0.0904 | 0.0335, 0.0920 |
| R_1 and wR_2 [all data] | 0.0420, 0.0964 | 0.1144, 0.1144 | 0.0347, 0.0932 |
| Goodness-of-fit, S | 1.025 | 0.906 | 1.104 |
| Data-to-parameter ratio | 2025/172 | 1904/167 | 1477/176 |

7,8-Dehydro-5,6-dihydro-6-hydroxy- β -ionyliden-ethanol-11-(tert.-butyl)-dimethyl-silylether (4)

In a dry argon atmosphere to a 3-methyl-pent-4-inol-(tert.-butyl-dimethyl-silylether) (0.5 g, 2.18 mmol), dissolved in THF (10 mL), cooled to 0°C , a solution

of 1.6 M butyllithium in n-hexane (1.5 mL, 2.4 mmol) were injected and stirred at 0°C (0.5 h). To this orange solution 1,1-bis(trifluoromethyl)-3-methylcyclohexanon (0.4 g, 1.46 mmol) dissolved in THF (2 mL) was injected and stirred for 3 days. The procedure was stopped by adding a NH₄Cl solution. The mixture was extracted three times with ether; the combined organic phase was washed with water and dried over sodium sulfate. Volatile parts were removed by a rotating evaporator and the orange oil was purified by column chromatography (eluent: petrolether : chloroform 5:1). Yield: 0.49 g, (73.3%). The yellow oil consists of two isomers: ratio 3:1. They could not be separated and their configuration could not be elucidated. Bp 100°C/10⁻² (dec), ¹H-NMR (80 MHz) δ: 0.05 (s, 6 H, Si(CH₃)₂); 0.88 (s, 9 H, C(CH₃)₃); 1.07 (s, 3 H, 14-CH₃); 1.74 (s, 3 H, 15-CH₃); 0.75-2.1 (m, 7 H, 2-CH₃, 3-CH₃, 4-CH₃, 5-CH₃); 4.23 (d, 2 H, 10-CH₃, ³J(H,H) = 5.7); 5.94 (t, 1H, 9-CH, ³J(H,H) = 5.7).

¹³C-NMR (62.86 MHz) δ: -5.36 (q, Si(CH₃)₂, ¹J(C,H) = 118.3); -3.73 (s, Si(CMe₃)); 16.62 (q, C-14, ¹J(C,H) = 127.8); 16.98 (q, C-15, ¹J(C,H) = 127.8); 18.28 (t, C-3, ¹J(C,H) = 127.8); 19.75 (t, C-4, ¹J(C,H) = 133.5); 25.78 (q, C(CH₃)₃, ¹J(C,H) = 120.1); 31.11 (t, C-2, ¹J(C,H) = 131.6); 38.48 (d, C-5, ¹J(C,H) = 133.5 Hz); 59.62 (sep, C-1, ²J(C,F) = 20.8 Hz); 59.77 (t, C-11, ¹J(C,H) = 141.1 Hz); 73.81 (s, C-6); 82.15 (s, C-7); 91.28 (s, C-8); 117.08 (s, C-9); 124.59 (q, CF₃, ¹J(C,F) = 288.0); 125.07 (q, CF₃, ¹J(C,F) = 288.0); 138.28 (d, C-10, ¹J(C,H) = 160.2).

¹⁹F-NMR I (75.26 MHz) δ: -58.98 (q, CF₃, ⁴J(F,F) = 11.8); -65.56 (q, CF₃, ⁴J(F,F) = 11.8). IR 3627(OH), 3460(OH), 2957, 2886, 2360, 2219, 1751, 1464, 1370, 1304, 1254, 1206, 1175, 1105, 953, 907, 837, 778, 727, 668, 541.

MS 458(M⁺, 12); 402(7), 401(32); 309(21); 307(23), 267(6); 203(7); 147(7); 145(9); 107(57), 77(33); 75(100); 73(51).

2-Methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohexa-1,3-diene-1-carbonitrile (8)

2-Methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohexa-1,4-diene-1-carbonitrile (8a)

To a solution of 13 (5.6 g, 20.5 mmol) in DCM (400 mL), 96% H₂SO₄ (19.6 g, 10 eq.) or TfOH (18 mL, 10 eq.) were added at room temperature. The mixture was stirred for 1 d at room temperature. The organic phase was separated and neutralized with aqueous sodium hydroxide, then washed with water, dried with Na₂SO₄ and evaporated to dryness. The resulting solid was sublimed. Yield: 2.88 g (55%), white solid, mixture of two isomers.

¹H NMR Isomer 8 δ: 2.27 (s, 3H, CH₃); 2.88 (dd, 2H, J = 4.0, J = 2.0, CH₂); 6.05 (dt, 1H, J = 10.0, J = 2.0, H-3); 6.17 (dt, 1H, J = 10.0, J = 4.0, H-4). Isomer 8a δ: 2.29 (s, 3H, CH₃); 3.01 (br.t, 2H, J = 4.0; J = 2.5; CH₂); 5.87 (dt, 1H, J = 10.0, J = 2.0, H-5); 6.33 (dt, 1H, J = 10.0, J = 3.5, H-4).

2-Methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-ene-1-carbaldehyde (11)

To a cold (0°C) solution of 2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-ene-1-carbonitrile (7) (5.0 g,

20 mmol) in ether (150 mL) DIBALH (1 M in hexane, 43 mL) was added with stirring under inert gas. The mixture was stirred for 90 min at ambient temperature, then it was cooled to 0°C and diluted H₂SO₄ (10% in water; 100 mL) was added. After stirring for 2 h at room temperature, the organic phase was separated, washed with water (3x30 mL) and neutralized. After drying with Na₂SO₄, filtration and evaporation of the solvent *in vac.* a slight yellow coloured oil was obtained, which was purified chromatographically with a mixture of petrolether : acetic acid ester = 60 : 1.

Yield: 4.8 g, (94.9%).

¹H-NMR δ: 1.01 (d, 3H, J = 6.6, CH₃); 2.46 (m, 2H, 6-CH/2-CH₂); 2.55 (d, 1H, 2-CH₂, J = 18.8); 2.74 (m, 1H, 5-CH); 5.59 (d, 1H, 3-CH/4-CH), J = 10.3); 5.64 (d, 1H, 3-CH/4-CH, J = 10.3); 9.73 (m, 1H, CHO). ¹³C-NMR (62.86 MHz) δ: 19.87 (q, CH₃, J = 127.8); 26.36 (tr, 2-C, J = 131.6); 27.30 (d, 5-C, J = 124.0); 52.06 (sept, 1-C, J = 25.4); 54.22 (d, 6-C, J = 129.4); 120.03 (d, 4-C, J = 162.1); 124.68 (q, CF₃/CF₃, J = 286.1); 131.95 (d, 3-C, J = 162.1); 198.96 (d, CHO, J = 181.1). ¹⁹F-NMR (75.26 MHz) δ: -65.5 (q, CF₃, J = 9.8); -70.22 (q, CF₃, J = 9.8). MS m/z (%) 260 (M⁺/17); 245(10); 231(100); 217(17); 163(55); 142(54); 127(40); 95(18); 69(17); 65(25). IR 2960, 2870, 1720, 1440, 1365, 1265, 1195, 1120, 705. Anal. calcd. for C₁₀H₁₀F₆O: C, 46.1%; H, 3.9%; Found: C, 44.4% (low value because of CF₄ formation); H, 4.0%.

3,4-Epoxy-2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohexane-1-carbonitrile (12)

To a solution of 7 (33.0 g, 128 mmol) in DCM (450 mL) m-CPBA (47.0 g, 70% w/w 1.5 eq.) was added at room temperature. After two days the white precipitated solid was filtered off and washed with DCM. The sample was neutralized with aqueous sodium hydroxide. The organic phase was separated, washed with water, dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure. Yield: 33.8 g (96%), white solid, mp 70°C.

¹⁹F NMR (75.26 MHz) δ: -68.0 (q, J_{FF} = 9.8, CF₃); -71.6 (q, J_{FF} = 9.8, CF₃). ¹H NMR (200 MHz, resolved with HMQC correlation) δ: 1.46 (d, 3H, J = 7.0, CH₃); 2.23 (dq, 1H, J = 16.6, J = 2.0; CH₂); 2.47 (dd, 1H, J = 16.6, J = 5.5, CH₂); 2.51 (m, 1H, CHCH₃); 2.91 (d, 1H, J = 12.0, CHCN); 3.28 (dd, 1H, J = 4.0, J = 1.5, CHO); 3.36 (m (looks like dd), 1H; CHO). ¹³C NMR δ: 16.1 (CCH₃); 24.1 (CH₂); 29.4 (CH₂); 29.5 (CCN); 48.8 (CO); 49.5 (sept, J_{CF} = 26.2, C(CF₃)₂); 55.0 (CO); 115.1 (CN); 122.6 (q, J = 286.7, CF₃); 123.2 (q, J = 286.7, CF₃). MS 272 [M - H]⁺ (4); 257 (82); 218 (4); 204 (15); 186 (5); 176 (5); 166 (8); 145 (7); 127 (6); 109 (9); 95 (11); 84 (16); 75 (12); 69 (66); 55 (34); 41 (100); 39 (68).

3-Hydroxy-2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-4-ene-1-carbonitrile (13)

To a solution of epoxide 12 (31.0 g, 110 mmol) in THF (225 mL), aqueous sodium hydroxide (70 mL; 16.6 N; 10 eq.) and n-Bu₄NOH (70 mL; 40% w/w; 0.25 eq.) were added. The solution was refluxed for 2 h. The dark red solution formed was neutralized with 5N HCl and evaporated *in vacuo*. The remaining

product was extracted with DCM (3x100 mL). The organic phase was dried with Na₂SO₄ and evaporated *in vacuo*. The crude product was purified by silica gel filtration (eluent: DCM). Yield: 26.4 g (88%), white solid, mp 74°C.

¹⁹F NMR (75.26 MHz) δ: -68.0 (q, J_{FF} = 9.8, CF₃); -71.6 (q, J_{FF} = 9.8, CF₃). ¹H NMR (200 MHz) δ: 1.34 (d, 3H, J = 7.0, CH₃); 2.31 (m, 1H, CHCH₃); 3.35 (d, 1H, J = 12.0, CHCN); 4.13 (dd, 1H, J = 5.5, J = 3.0 Hz, CHOH); 5.79 (d, 1H, J = 10.5, H-5); 6.51 (dd, 1H, J = 10.5, J = 5.5, H-4).

¹³C NMR (Resolved with HMQC correlation) δ: 14.9 (CH₂); 28.0 (CCN); 32.5 (CCH₃); 52.5 (m, C(CF₃)₂); 62.9 (COH); 116.0 (CN); 118.0 (C-5); 122.15 (q, J = 286.1, CF₃); 122.3 (q, J = 286.1, CF₃); 137.1 (C-4). MS 273 [M]⁺ (1); 258 (2); 244 (9); 216 (4); 204 (100); 186 (9); 177 (10); 166 (14); 158 (6); 149 (13); 127 (7); 117 (19); 109 (14); 84 (49); 83 (31); 69 (45); 55 (28); 39 (29).

2-Methoxy-6,6-bis(trifluoromethyl)-cyclohex-3-ene-1,1-carbodinitrile (14)

To a cold solution (0°C) of 5 (2.55 g, 119 mmol) in dry pentane (60 mL), a solution of 1.0 g of 1-methoxybutadiene (1 eq.) in dry pentane (100 mL) was slowly added. The solution was stirred for 1 h at 0°C, then for 3 h at room temperature. The resulting white solid was filtered at 0°C and washed with cold pentane (3x 20 mL) Yield: 3.45 g (97%), white solid, mp 70°C.

¹⁹F NMR (75.26 MHz) δ: -65.8 (q, J_{FF} = 12.2, CF₃); -68.0 (q, J_{FF} = 12.2, CF₃). ¹H NMR (200 MHz) δ: 5.94 (br, s, 2H, olefinic protons); 4.39 (br. s, 1H, CHOCH₃); 3.76 (s, 3H, OCH₃); 2.90 (d, 1H, J = 19.1, CH₂); 2.73 (d, 1H, J = 19.1, CH₂). ¹³C NMR δ: 27.4 (CH₂); 41.5 (C(CN)₂); 58.0 (C(CF₃)₂); 62.1 (OCH₃); 80.5 (CHOCH₃); 112.4 (CN); 113.3 (CN); 126.7, 127.6 (CH=CH); 124.7 (q, J = 287.8, CF₃); 125.2 (q, J = 287.8, CF₃).

2-Methyl 6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-ene-1-carbonic acid (15)

A buffer solution of NaH₂PO₄ (0.32 g, 2.2 mmol) in water (2 mL) was added to a solution of 11 (2.6 g, 10 mmol) in acetonitrile (10 mL). The mixture was added to a solution to hydrogen peroxide (30% in water; 1.1 mL, 10.4 mmol). After cooling to 10°C a solution of NaClO₂ (to 80% is 1.6 g, 14 mmol) in water (14 mL) was added slowly. After stirring for 15 h at ambient temperature, the reaction mixture was treated with Na₂SO₃ (~1.0 g) to destroy HOCl and H₂O₂. After neutralization with 10% HCl, the mixture was extracted with ether, the organic phase was separated and dried with Na₂SO₄. After filtration and evaporation of the solvent *in vacuo* a white solid was obtained. Yield: 2.4 g (86.9%), mp 84-87°C.

¹H-NMR (200 MHz) δ: 1.03 (d, 3H, J = 6.8); 2.41 (d, 1H, J = 20.0); 2.50 (d, 1H, J = 16.0); 2.53-2.63 (m, 1H); 2.77 (s, 1H); 5.47-5.61 (m, 2H); 9.85 (s, 1H, COOH). ¹³C-NMR (200MHz) δ: 20.31 (CH-CH₃); 27.17 (CH₂); 31.28 (CH-CH₃); 48.64 (CH-COOH); 52.4 (sept, J = 25.0, C(CF₃)₂); 119.87, 132.05 (C=C); 122.05, 127.72 (2 CF₃); 176.98 (COOH). ¹⁹F-NMR (235.3 MHz) δ: -66.7 (6 F, d, J_{HF} = 8.5, CH(CF₃)₂).

6,6-Bis(trifluoromethyl)-2-methyl-1-hydroxymethyl-cyclohex-3-en (16)

To a solution of 11 (0.25 g, 0.96 mmol) in 10 ml ether LiAlH₄ (0.05 g, 1.31 mmol) was slowly added. Reaction took place with slight foam up. After 20 min dil. sulfuric acid (5 mL) was added and the mixture continuously stirred for additional 15 min. The organic phase was separated and the aqueous solution was extracted twice with ether (10 ml each). The combined phase was washed with water and dried afterwards with sodium sulphate. Ether was removed with the aid of a rotational vaporizer providing 20 (0.235 g, 93.4%) as a colourless liquid.

¹H-NMR (80 MHz) δ: 1.25 (d, 3 H, CH₃, ³J(H,H) = 8.7); 1.61-2.01 (m, 1 H, 6-CH); 2.23-2.65 (m, 3 H, 2-CH₂/5-CH); 3.62-3.91 (m, 2 H, CH₂OH); 3.95-4.16 (br, 1 H, OH); 5.45-5.79 (m, 2 H, 3-CH/4CH). ¹³C-NMR (62.86 MHz) δ: 20.17 (q, CH₃, ¹J(C,H) = 127.8); 27.94 (t, C-2, ¹J(C,H) = 135.4); 32.09 (d, C-5, ¹J(C,H) = 131.6); 46.31 (d, C-6, ¹J(C,H) = 127.8); 51.92 (sep, C-1, ²J(C,F) = 22.9); 61.41 (t, CH₂OH, ¹J(C,H) = 143.1); 119.60 (d, C-4, ¹J(C,H) = 164.0), 125.58 (q, CF₃, ¹J(C,F) = 284.2); 133.95 (q, C-3, ¹J(C,H) = 160.2). ¹⁹F-NMR (75.26 MHz) δ: -66.51 (qu, CF₃/CF₃, ⁴J(F,F) = 9.8); -68.76 (q, CF₃/CF₃, ⁴J(F,F) 9.8).

IR 3410, 3037, 2984, 2925, 1446, 1374, 1346, 1263, 1203, 1160, 1125, 1090, 1061, 990, 964, 884, 711, 694, 608, 545, 458, 418. MS (m/z, %): 244 (M⁺-H₂O, 37), 232(70), 217(17), 183(8), 175(100), 163(48), 155(49), 127(34), 91(13), 65(23), 51(17). (PCI) 245((M⁺-H₂O+H,100), 233(57), 223(10), 195(7), 175(5).

2-Methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-ene-1-carbaldehydeoxime (17)

To a mixture of hydroxylamine hydrochloride (0.17 g, 2.5 mmol) and pyridine (0.3 ml) in dry ethanol (0.6 ml) 11 (0.52 g, 2 mmol) was added, (the temperature should not exceed 45°C). Stirring was maintained at 20°C (12h). Then the ethanol was evaporated *in vacuo* to dryness. The residue was extracted with DCM. The organic phase was washed with 3N HCl (10 mL), with water, with sat. NaHCO₃ solution, again with water and finally with brine. After drying with Na₂SO₄, filtration and evaporation to dryness, a yellow oil was obtained. Yield: 0.5 g (90.9%). ¹H-NMR δ: 0.95 (d, 3H, J = 6.8, CH₃); 2.45 (2d, 2H, J = 16.9, CH₂); 2.54 (m, 1H, CH-CH₃); 2.24 (m, 1H, CH-CH=NOH); 5.57 (m, 2H, CH=CH); 7.36, 7.38 (d, 1H, CH=NOH, J = 8.47); 8.65 (s, 1H, NOH). ¹³C-NMR δ: 18.77 (CH-CH₃); 25.71 (CH₂); 29.3 (CH-CH₃); 43.0 (CH-C=N); 51.0 (sept, J = 24.2, C(CF₃)₂); 119.3, 131.4 (C=C); 122.68, 125.53 (2q, 2 CF₃); 148.5 (C=NOH). ¹⁹F-NMR (75.26 MHz) δ: -65.75 (q, J = 9.8, CF₃); -70.67 (q, J = 9.8, CF₃).

3,4-Epoxy-2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-ene-1-carbaldehyde (18)

m-CPBA (70% are 0.7 g, 2.9 mmol) was added to a solution of 2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-ene-1-carbaldehyde (11) (0.5 g, 1.9 mmol) in DCM (8 mL). After 5 h of stirring at ambient temperature, the reaction mixture is neutralized with a 1 M solution NaOH in water. The organic phase was separated, washed with water and dried with Na₂SO₄.

After filtration and evaporation under reduced pressure a beige solid was obtained. Yield: 0.4 g (75.3%). $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz) δ : 1.12 (d, 3H, $J = 7.3$ Hz, CH_3); 2.0–2.6 (m, 4H, CH_2 , CH-CH_3 , CH-CHO); 3.1 (m, 1H, CH=CH); 3.2 (m, 1H, CH=CH); 9.7 (s, 1H, CHO).

2-Methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-ene- acid chloride (19)

To a suspension of 15 (1.38 g, 5 mmol) in DCM (5 mL) DMF (0.54 mL) was added. The solution was cooled to 0°C and oxalyl chloride (0.5 mL, 5.75 mmol) was added. Stirring was continued at ambient temperature for 2 h. The solvent was removed i. vac. providing a yellow oil. Yield: 0.9 g (61.1%). The acid chloride was also obtained by reacting 15 with an excess of thionyl chloride. $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz) δ : 1.26 (d, 3H, $J = 6.8$, CH_3); 2.59 (d, 1H); 2.63 (d, 1H); 2.58–2.65 (m, 1H); 2.87 (s, 1H); 3.24 (d, 1H, $J = 11.0$, $\text{CH}(\text{C}=\text{O})\text{Cl}$); 5.66 (m, 2H, CH=CH). $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz) δ : 20.3 (CH_3); 27.1 (CH_2); 39.5 (CH); 52.7 (hept, $\text{C}(\text{CF}_3)_2$, $J = 25.7$); 60.3 (CH); 121.2 (CH); 124.4, 124.73 (2q, $J = 286.8$, $2 \times \text{CF}_3$); 131.6 (CH); 173.2 ($\text{C}=\text{O}$). $^{19}\text{F-NMR}$ (235.36 MHz) δ : -64.7 (q, $J = 11.3$, CF_3); -70.1 (q, $J = 11.0$, CF_3).

2-Methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-ene- acid bromide (20)

N-Bromosuccinimide (0.82 g, 4.6 mmol) and AIBN (catalytic amounts) were added to a solution of 11 (1.0 g, 3.8 mmol) in carbon tetrachloride (10 mL). The solution was kept at 100°C for 3h. After cooling, the solution was filtered and the solvent evaporated. The yellow liquid crystallizes on standing and was recrystallized from pentane. Yield: 0.54 g (38.9%).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.3 MHz) δ : 20.11 (CH_3); 27.0 (CH_2); 31.12 (CH); 52.8 (sept, $J = 25.7$, $\text{C}(\text{CF}_3)_2$); 65.0 (CH); 119.3, 131.6 ($\text{C}=\text{C}$); 124.7 (q, $J = 285.5$, $2 \times \text{CF}_3$); 174.7 ($\text{C}=\text{OBr}$).

Methyl 3-[2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-enyl]-2-propenoate (21)

Trimethylphosphonoacetate (0.35 mL, 2 mmol) was added to a solution of NaH (0.05 g, 2 mmol) in THF (3 mL) followed by 11 (0.4 g, 1.5 mmol) in THF (3 mL). The mixture was refluxed for several h, quenched with ice/water and extracted with ether. The organic phase was dried with Na_2SO_4 . After filtration and evaporation to dryness an orange oil was obtained. Yield: 0.35 g (72%). Yield: 2.9 g, (52.6%). $^1\text{H-NMR}$ δ : 0.90 (d, 3H, $J = 6.5$, CH_3); 2.34 (m, 4H, CH_2 , CH-CH_3 , C_6H); 3.68 (s, 3H, CH_3 , OCH_3); 5.55 (m, 2H, CH=CH); 5.84 (d, 1H, CHCOOCH_3 (E), $^3J_{\text{vin}} = 15.5$); 6.85 (dd, 1H, CH-CH=CH (E), $^3J_{\text{vin}} = 14.1$, $J_{\text{all}} = 11.5$). $^{13}\text{C-NMR}$ δ : 20.54 (CH-CH_3); 27.28 (CH_2); 31.51 (CH-CH_3); 47.36 ($\text{CH-C}=\text{C}$); 52.04 (COOCH_3); 53.18 (sept, $J = 24.0$, $\text{C}(\text{CF}_3)_2$); 120.80, 132.84 ($\text{C}=\text{C}$); 126.15 ($\text{C}=\text{C}(\text{=O})\text{OCH}_3$); 145.29 ($\text{C}=\text{C}(\text{=O})\text{OCH}_3$). $^{19}\text{F-NMR}$ (235.3 MHz) δ : -65.55 (q, $J_{\text{FF}} = 8.8$, CF_3); -70.2 (q, $J_{\text{FF}} = 8.8$, CF_3).

3-[2-Methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-enyl]-2-propenoic acid (22)

A mixture of 21 (0.33 g, 1 mmol) and K_2CO_3 (0.3 g, 2 mmol) in methanol / water (10:1, 11 mL) was stirred at 45°C for 5 h. Then the solution was

quenched with ice and neutralized with dil. HCl. After extraction with ether, the organic phase was dried with Na_2SO_4 . After evaporating the i. vac., a slightly orange oil was obtained. Yield: 0.25 g (79.3%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz) δ : 0.92 (d, 3H, $J = 6.52$, CH_3); 2.2–2.5 (m, 4H, CHCH_3 , CH , CH_2); 5.57 (m, 2H, CH=CH); 5.86 (d, 1H, $J = 15.55$, CH=CH); 6.9 (m, 1H, CH=CH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz) δ : 19.14 (CH_3); 28.35 (CH_2); 30.07 (CHCH_3); 45.96 (CH); 51.82 (sept, $J = 24.15$, $\text{C}(\text{CF}_3)_2$); 119.45 (CH=CH); 124.33, 123.71 (2 q, $J = 287.5$, $2 \times \text{CF}_3$); 124.61 (CH=CH); 131.38 (CH=CH); 146.4 (CH=CH), 170.1 (COOH).

3,4-Epoxy-2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohexan-1-carboxylate (23)

A buffer solution of NaH_2PO_4 (0.04 g, 0.25 mmol) in water (0.4 ml) is added to 18 (0.3 g, 1.1 mmol) dissolved in acetonitrile (1 ml). This mixture is added to a solution of hydrogen peroxide (30%, 0.1 ml, 1.14 mmol). The unit is cooled to 10°C and a solution of NaClO_2 (80%, 0.14 g, 1.5 mmol) in water (1.3 mL) was added dropwise. After 3 h stirring, the mixture was treated at 20°C with Na_2SO_3 to destroy HOCl and H_2O_2 which remained in excess. After neutralisation with 10% of hydrochloric acid, the mixture is extracted with ether. The organic phase was separated, dried with sodium sulfate, filtered and evaporated to dryness. Beige solid (0.2 g, 63%).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO) δ : 1.12 (d, 3H, CH_3 -CH, $^3J = 6.1$); 2.20 (d, 1H, CH_2 , $J = 16.6$); 2.50 (2d (superimpose), 2H, CH-COOH , CH-CH_3); 2.63 (dd, 1H, CH_2 , $J = 16.6$); 5.7); 13.18 (s, br, 1H COOH). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO) δ : 40.8 (several signals, superimposed by DMSO); 49.9 (oxirane C); 51.31 ($\text{CH}(\text{CF}_3)_2$); 56.7 (oxirane C); 125.0 (q, CF_3 , $J = 283.2$); 125.2 (q, CF_3 , $J = 285.3$); 171.3 (COOH). $^{19}\text{F-NMR}$ (235.36 MHz, DMSO) δ : -63.8 (q, $J = 11.1$); -68.9 (q, $J = 11.0$).

Ethyl- (24) and Methyl-(2E/2Z)-3-[2',2'-bis(trifluoromethyl)-6'-methylcyclohex-4'-enyl]-prop-2-enoat (24a)

24: In an Argon protected atmosphere 1.1 g (6.89 mmol) 2-trimethylsilyl acetic acid ethylester, dissolved in THF (10 mL), were cooled to -75°C . Then an equivalent lithiumdiisopropyl amide suspended in THF was injected at -75°C and stirred for 15 min. After dropwise adding of 1.28 g (4.92 mmol) 11, dissolved in THF, (5 mL) and stirring at -75°C (3 h), then warming to -35°C (1 h) while stirring, the clear solution turns slowly yellowish. After warming to about -10°C , a saturated solution of NH_4Cl (5 mL) was added. The mixture was extracted three times with ether (20 mL each), washed with water and dried with sodium sulfate. The solvents were removed with a rotating evaporator providing a red-brown oil, which was purified by column chromatography (eluent petrol ether : chloroform 4:1). The isomers formed could not be separated. Total yield 1.54 g (4.66 mmol, 94.8%); the two isomers E and Z were formed in a 1.4 ratio. bp $89,198\text{C}/10^{-2}$.

$^1\text{H-NMR}$ δ : 0.95 (d, 3 H, CH_3 , $^3J(\text{H,H}) = 7.0$); 1.19 (t, 3 H, OCH_2CH_3 , $^3J(\text{H,H}) = 7.5$); 2.15–2.24 (m, 1 H, 5-CH); 2.34–2.42 (m, 1 H, 6-CH); 2.41–

2.45 (m, 2 H, 2-CH₂); 4.08 (qu, 2 H, OCH₂CH₃, ³J(H,H) = 7.5); 5.48- 5.61 (m, 3CH/4CH); 5.83 (d, 1 H, 8-CH(E), ³J(H,H) = 15.6); 5.92 (d, 1 H, 8-CH(Z), ³J(H,H) = 11.5); 6.18 (t, 1 H, 7-CH(Z), ³J(H,H)_{vin} = 11.5, ³J(H,H)_{all} = 11.5 Hz); 6.85 (t, 1 H, 7-CH(E), ³J(H,H)_{vin} = 15.6 Hz, ³J(H,H)_{all} = 11.0). ¹³C-NMR (62,86 MHz) δ: 13.15 (q, CH₂CH₃, ¹J(C,H) = 128.0); 18.90 (q, CH₃ (2), ¹J(C,H) = 126.5); 20.01 (qu, CH₃ (E), ¹J(C,H) = ?); 26.76 (1, C-2, ¹J(C,H) = 125.1); 31.76 (d, C-6, ¹J(C,H) = 128.0 Hz); 40.46 (d, C-5, ¹J(C,H) = 137.0); 52.51 (sep, C-1, ²J(C,F) = 23.8); 59.96 (t, CH₂CH₃ (Z), ¹J(C,H) = 147.4); 60.41 (t, (E), ¹J(C,H) = 147.4); 120.07 (d, C-4 (Z), ¹J(C,H) = 162.3); 120.29 (d, C-4 (E)); 123.44 (d, C-8 (E)); 123.70 (d, C-8 (Z), ¹J(C,H) = 165.2); 132.38 (d, C-3 (E)); 132.64 (d, C-3 (Z), ¹J(C,H) = 159.3); 144.35 (d, C-7, ¹J(C,H) = 159.1); 165.56 (s, C-9). ¹⁹F-NMR (75,26 MHz) δ: -64.42 (qu, CF₃ (Z), ⁴J(F,F) = 9.8); -65.31 (qu, CF₃ (E), ⁴J(F,F) = 9.8); -70.04 (q, CF₃ (E), ⁴J(F,F) = 9.8); -70.30 (q, CF₃ (Z), ⁴J(F,F) = 9.8. IR 2977, 1722 (C=O), 1445, 1374, 1265, 1218, 1192, 1124, 1098, 1039, 858, 697, 630, 540, 432. MS (m/z, %) (Z) 330 (M⁺, 50), 315(16), 301(19), 285(26), 257(32), 241(10), 215(8), 187(11), 145(9), 127(8), 91(10), 68(100), 55(28). (E- isomer) 330 (M⁺, 8), 315(1), 301(2), 285(10), 257(30), 235(5), 217(3), 187(9), 161(11), 101(15), 73(8), 68(100), 55(49).

24a: Trimethylphosphonoacetic acid methylester (0.35 ml, 2 mmol) is added dropwise to a suspension of NaH (0.05 g, 2 mmol) in THF (3 mL). A solution of 11 (0.4 g, 1.5 mmol) in THF (3 mL) was added dropwise and the mixture was refluxed for 3 h. The content was then crashed on ice, extracted three times with ether the organic phase was dried with Na₂SO₄. After filtration and evaporation 24a (0.35 g, 72%) was provided as an orange oil. E,Z isomers could not be separated.

¹H-NMR δ: 0.90 (d, 3H, CH₃, J = 6.44); 2.34 (m, 4H, CH₂, CH-CH₃, C₆H); 3.68 (s, 3H, CH₃, COOCH₃); 5.55 (m, 2H, cyclohexene CH=CH); 5.84 (d, 1H, CHCOOCH₃ (E), ³J_{vin} = 15.5); 6.85 (dd, 1H, CH-CH=CH (E), ³J_{vin} = 14.07, J_{all} = 11.5); ¹³C-NMR δ: 20.54 (CH-CH₃); 27.28 (CH₂); 31.51 (CH-CH₃); 47.36 (CH-C=C); 52.04 (COOCH₃); 53.18 (hept, C(CF₃)₂, ²J = 24.03 Hz); 120.80, 132.84 (C=C, cyclohexene); 126.15 (C=C(=O)OCH₃); 145.29 (C=C(=O)OCH₃); 126.76, 125.14 (2q, 2 CF₃, ¹J = 287.1), ¹J = 284.73); 166.11 (COOCH₃). ¹⁹F-NMR: (235.3 MHz) δ: -65.55 (q, ⁴J_{F-F} = 8.6); -70.2 (q, ⁴J_{F-F} = 9.0).

3-Methyl-5-(2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-enyl)-penta-2,4-dienal (25)

Freshly prepared BrCH=C(CH₃)C=CHOCH₃ (0.345 g, 1.94 mmol.) dissolved in dry ether, was cooled to -70°C under Argon atmosphere followed by slow injecting (syringe) tert.-butyllithium (1.7 M) to the solution, which was stirred at -70°C (1.5 h). Aldehyde 11 (0.7 eq.) dissolved in 1.5 mL of dry ether was slowly added at -70°C with stirring (1 h) under Argon and then warmed to 0°C (3 h). The solution was cooled to -40°C, quenched *slowly* with 10 mL 1N HCl and stirred at 20°C (12 h). The organic phase was decanted and the product was extracted with 3x10 mL

ether. The combined organic phases were washed with 3x10 mL water, dried over MgSO₄ and evaporated to dryness i. vac. Yield 0.8 g of a yellow oil. The resulting oil was purified by liquid chromatography (glass column, 35 g silica gel, diameter = 1.5 cm) providing 0.2 g of a mixture of products, which could not be purified further (part of the product was lost on the column). Recrystallization failed as the product is not stable at 20°C. Purification step including ¹H NMR and ¹³C NMR taken a few hours after GCMS data.

¹H NMR major isomer, 80%; [minor isomer, 20%] δ: 0.99d, H-11, 3H, J = 7.0 [1.02d, H-11, 3H, d, J = 6.5]. 2.29d, H-10, 3H, J = 1.0 [2.31d, H-10, 3H, J = 1.0]; 2.39-2.61m, H-1,2,5, 4H [identical]; 5.60-5.63m, H-4,3, 1H [identical]; 5.67-5.70m, H-3,4, 1H [identical]; 5.95dd, H-6,7,8, 1H, J = 8.0, J = 1.0 [5.91d, H-6,7,8, J = 8.0]; 6.24br,d, H-6,7,8, 1H [6.10br,d, H-6,7,8, 1H, J = 7.5]; 6.26br,s, H-6,7,8, 1H [6.29br,s, H-6,7,8, 1H]; 10.14d, H-9, 1-H, J = 8.0 [10.16d, H-9, 1-H, J = 7.5]. ¹³C NMR (Resolved with HMQC correlation, major isomer only) δ: 18.18 (C-11); 24.93 (C-10); 25.12 (C-5); 29.73 (C-2); 46.10 (C-1); 118.43 (C-3, 4); 127.76 (C-6, 7, 8); 130.70 (C-3, 4); 132.81 (C-6, 7, 8); 135.91 (C-6, 7, 8); 189.33 (C-9). MS 326 (M⁺, 2); 308 (1); 258 (4); 243 (3); 230 (5); 211 (3); 189 (5); 161 (27); 145 (5); 141 (10); 133 (2); 127 (3); 115 (3); 95 (100); 68 (69); 53 (14); 41 (19); 39 (19).

3,7-Dimethyl-9-[2-methyl-6,6-bis(trifluoromethyl)cyclohex-3-enyl]-nona-2,4,6,8-tetraenal (26)

This procedure is identical with the preparation of 25. Ratio of all reactants, solvent were based on Br(CH=C(CH₃)C=CH)₂OCH₃ (0.33 g; 1.43 mmol). The product was purified by liquid chromatography (glass column, 25 g silcal gel, diameter = 1.5 cm; solvent: S1) 300 mL CH₂Cl₂; S2) CH₂Cl₂ / Pentane gradient S3); 150 mL pentane; S4) pentane / AcOEt: 90/10) Off column, the following crops were obtained:

S1): Product A (150 mg); S4): Product C (260 mg); both fractions were mixtures of non identified products S3): Product B (140 mg) was according to ¹H- and ¹³C-NMR spectra pure. However, interpretation of the resulting spectra was difficult and is therefore tentative. Note: Product B was stored at -30°C. Degradation or isomerisation occurred after a few days at 20°C.

¹H NMR δ: 9.46 (s, 1H, CHO); 6.90 (d, J = 8.0); 6.69 (d, J = 8.2); 5.93 (d, J = 8.8); 5.56-5.66 (m, 2H); 5.25 (d, J = 8.5); 2.82 (br. signal, CHCH₃); 2.61 (d, 1H, J = 19.5, CH₂); 2.41 (d, 1H, J = 19.5; CH₂); 2.03 (d, 1H, J = 9.8); 1.95 (s, 3H, CH₃ of the side chain); 1.90 (s, 3H, CH₃ of the side chain); 1.84 (d, 3H, J = 3.8). ¹³C NMR δ: 8.59; 11.44; 21.37; 26.55; 28.03; 46.81; 51.45; 64.42; 117.72. MS (direct inlet): 396 (M⁺ = 392.38, 8), 231 (24), 165 (33), 147 (9), 137 (43), 122 (100), 109 (76), 95 (93), 77 (16), 67 (22), 55 (3), 43 (51).

Ethyl-(2E/2Z)-3-[2'.2'-bis(trifluoromethyl)-6'-methylcyclohex-5'-enyl]-prop-2-enoate (27)

The preparation was carried out as described for 24. Analogously 2-trimethylsilylacetic acid ethylester (0.025 g, 0.15 mmol) was reacted with 10 (0.02 g, 0.75 mmol) providing two isomers of 31, separated and analysed by GC/MS spectroscopy. They were

tentatively assigned to E and Z (ratio 2:1) as already reported for 24, 24a (see also 28).

MS (m/z, %) Isomer I: 370 (27, M⁺), 315 (17), 287 (46), 285 (48), 257 (80), 256 (100), 254 (55), 217 (10), 215 (13), 187 (49), 145 (20), 127 (30), 77 (33), 55 (50); Isomer II: 370 (12, M⁺), 315 (3), 287 (3), 285 (6), 257 (24), 256 (23), 254 (100), 217 (2), 215 (1), 187 (9), 145 (3), 127 (54), 77 (23), 55 (13).

Ethyl-(2E,4E,4Z)-5-[6',6'-bis(trifluoromethyl)-2'-methylcyclohex-1-enyl]-3-methyl-penta-2,4-dienoate (28)

To a solution of ethyl-3-methyl-4-(diethylphosphonato)-but-2-enoate (0.150 g, 0.57 mmol) in hexane (4 mL) under Argon n-butyllithium (0.356 mL, 0.57 mmol, 1.6 M solution) are injected and stirred at 0°C until a clear yellow solution (about 0.5 h) was

formed. 10 (0.1 g, 0.385 mmol), dissolved in 1 mL hexane was dropped with stirring at 22°C (3h). By adding a mixture of ether (4 mL) and dil. HCl (2 mL) the reaction was stopped. The organic phase was isolated and analysed by GC/MS spectroscopy. The product mixture contained two new substances (about 7 and 8%), which were tentatively assigned by 2 independent mass spectra which provided identical fragmentation pattern with M⁺ but significant different intensities for two isomers.

MS-Spectrum (m/z, %) Isomer I: 370(51, M⁺), 325(16), 283(13), 256(13), 246(39), 218(100), 162(96), 134(85), 111(18), 81(91). Isomer II: 370(100, M⁺), 325(56), 283(50), 256(39), 246(31), 218(49), 162(41), 134(27), 111(32), 81(53).

References

1. Filler R. *Biochemistry Involving Carbon-Fluorine Bonds*. — American Chemical Society. — Washington DC, 1976.
2. Filler R. In: *Organofluorine Chemicals and their Industrial Applications / R.E.Banks (eds)*. — Ellis Horwood, Chichester, 1979.
3. Filler R., Kobayashi Y. (eds). *Kodansha*. — Tokyo / Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, New York, 1982.
4. *Synthesis and Reactivity of Fluorocompounds / N.Ishikawa (ed.)* — Vol. 3 CMC. — Tokyo, 1987.
5. Welch J.T., Eswarakrishnan S. *Fluorine in Bioorganic Chemistry*. — Wiley, New York, 1991.
6. Lemal D.M. // *J. Org. Chem.* — 2004. — Vol. 69. — P. 1-11.
7. Fujita T. // *Prog. Phys. Org. Chem.* — 1983. — Vol. 14. — P. 75-113.
8. Mueller J. // *J. Pharm. Sci.* — 1986. — Vol. 75. — P. 987-991.
9. Banks R.E., Tatlow J.C. // *J. Fluorine Chem.* — 1986. — Vol. 33. — P. 227-346.
10. Smart B.E. // *Molecular Structures and Energetics*. — 1986. — Vol. 5. — P. 141-191.
11. Hanzawa Y., Suzuki M., Kobayashi Y., Taguchi T. // *J. Org. Chem.* — 1991. — Vol. 56. — P. 1718-1725.
12. Taguchi T., Hosoda A., Kobayashi Y. // *Tetrahedron Lett.* — 1985. — Vol. 26. — P. 6209-6212.
13. Mead D., Loh R., Asato A.E., Liu R.S.H. // *Tetrahedron Lett.* — 1985. — Vol. 26. — P. 2873-2876.
14. Hanzawa Y., Yamada A., Kobayashi Y. // *Tetrahedron Lett.* — 1985. — Vol. 26. — P. 2881-2884.
15. Mead D., Loh R., Asato A.E., Liu R.S.H. // *Tetrahedron Lett.* — 1985. — Vol. 26. — P. 2873-2876.
16. Hazawa Y., Kawagoe K., Kobayashi N. et al. // *Tetrahedron Lett.* — 1985. — Vol. 26. — P. 2877-2880.
17. Abele H., Haas A., Lieb M. // *J. Zwingenberger Chem.Ber.* — 1994. — Vol. 127. — P. 145-149.
18. Tietze L.F., Neumann T., Kajino M., Pretor M. // *Synthesis*. — 1995. — P. 1003-1006.
19. Burger K., Ho? E., Gaa K. // *Chem. Ztg.* — 1989. — Vol. 113. — P. 243-247.
20. Burger K., Helmreich B., Prakt J. // *Chem. Chem. Ztg.* — 1992. — Vol. 334. — P. 219-226.
21. Middleton W.J. // *J. Org. Chem.* — 1965. — Vol. 30. — P. 1402-1407.
22. Huisgen R., Bruckner R. // *Tetrahedron Lett.* — 1994. — Vol. 35. — P. 3825-3288.
23. Brandt K., Haas A., Hardt T. // *J. Fluorine Chem.* — 1999. — Vol. 97. — P. 115-125.
24. Clark J.H. // *Chem. Rev.* — 1980. — P. 453-492.
25. Chekhlov A.N., Fetisov V.I., Kolbasenko S.I., Martynov I.V.; *Dokl. Akad. Nauk SRRE (Russ) (Proc. Nat. Acad. Sci. USSR)*. — 1987. — T. 297. — C. 1177-1180.
26. Henrich M.L., Albers T., Tietze L.F. *Private Communication*, 1997.
27. Viani R., Lapasset J., Aycard J.P. // *Acta Cryst. Sect. C. Cryst. Struct. Commun.* — 1984. — Vol. 194. — P. 40, 2074-2076.
28. Brinkworth C., Rozek T., Bowie J.H. et al. // *Aust. J. Chem.* — 2000. — Vol. 53. — P. 403-409.
29. Dominguez B., Iglesias B., de Lara A.R. // *J. Org. Chem.* — 1998. — Vol. 63. — P. 4135-4139.
30. Duhamel L., Duhamel P., Gallic Y.Le // *Tatrahedron Lett.* — 1993. — Vol. 34. — P. 319-322.

Надійшла до редакції 24.10.2007 р.

УДК 547.814.5

СИНТЕЗ ДИПЕПТИДНИХ ПОХІДНИХ 2-(6-R-4-ОКСО-1, 2, 3, 4-ТЕТРАГІДРОЦИКЛОПЕНТА(С)ХРОМЕН-7-ІЛОКСИ)-ТА 2-(4-R-6-ОКСО-7, 8, 9, 10-ТЕТРАГІДРО-6Н-БЕНЗО(С)ХРОМЕН-3-ІЛОКСИ) ОЦТОВИХ КИСЛОТ

С.В.Шилін, М.М.Гаразд*, В.Ф.Валюк**, В.П.Хиля

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка
01033, м. Київ, вул. Володимирська, 64. E-mail: gmm@i.com.ua

* Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України

** Уманський державний педагогічний університет ім. Павла Тичини

Ключові слова: кумарини; амінокислотні похідні; дипептиди; активовані ефіри; синтез

Конденсацією N-гідроксисукцинімідних ефірів 2-(3,4-циклопента-8-заміщених-2-оксо-2H-7-хроменілокси), 2-(3,4-циклогекса-8-заміщених-2-оксо-2H-5-хроменілокси) оцтових кислот з амінокислотами та дипептидами отримано кумарини, модифіковані залишками дипептидів.

THE SYNTHESIS OF DIPEPTIDE DERIVATIVES OF 2-(6-R-4-OXO-1, 2, 3, 4-TETRAHYDROCYCLOPENTA[C]CHROMEN-7-YLOXY)- AND 2-(4-R-6-OXO-7, 8, 9, 10-TETRAHYDRO-6H-BENZO[C]CHROMEN-3-YLOXY) ACETIC ACIDS

S.V.Shylin, M.M.Garazd, V.F.Valyuk, V.P.Khilya

Coumarins modified by the residues of dipeptides have been prepared by the condensation of N-hydroxysuccinimide esters of 2-(3,4-cyclopenta-8-substituted-2-oxo-2H-7-chromenyloxy), 2-(3,4-cyclohexa-8-substituted-2-oxo-2H-5-chromenyloxy)acetic acids with amino acids and dipeptides.

СИНТЕЗ ДИПЕПТИДНИХ ПРОИЗВОДНЫХ 2-(6-R-4-ОКСО-1, 2, 3, 4-ТЕТРАГИДРОЦИКЛОПЕНТА(С)ХРОМЕН-7-ИЛОКСИ)- И 2-(4-R-6-ОКСО-7, 8, 9, 10-ТЕТРАГИДРО-6Н-БЕНЗО(С)ХРОМЕН-3-ИЛОКСИ) УКСУСНЫХ КИСЛОТ

С.В.Шилин, М.М.Гаразд, В.Ф.Валюк, В.П.Хиля

Конденсацией N-гидроксисукцинимидных эфиров 2-(3,4-циклопента-8-замещённых-2-оксо-2H-7-хроменилокси), 2-(3,4-циклогекса-8-замещённых-2-оксо-2H-5-хроменилокси)уксусных кислот с аминокислотами и дипептидами получены кумарини, модифицированные остатками дипептидов.

Сполуки з кумариновим ядром широко розповсюджені в природі і мають широкий спектр фізіологічної активності. Це робить їх цікавим об'єктом для хімічних модифікацій та подальшого дослідження біологічних властивостей. Відомо, яку важливу роль у життєдіяльності різноманітних організмів відіграють амінокислоти та пептиди. Тому, на наш погляд, було б цікаво вивчити можливість введення до кумаринового ядра амінокислотних та пептидних фрагментів. Раніше [1, 2] нами було описано одержання низки кумаринів і фурукумаринів, модифікованих амінокислотними залишками. У даній роботі ми вирішили дослідити синтез речовин, в яких до бензопіранового ядра було б приєднано дипептидний фрагмент.

Вихідні 3, 4-циклопента і 3, 4-циклогекса 7-гідроксикумарини 1-4 було синтезовано конденсацією за Пехманом відповідних резорцинів та складних ефірів заміщених β-кетокислот у присутності концентрованої сірчаної кислоти в якості конденсуючого агента [3, 4]. У спектрах ПМР вихідних кумаринів присутні сигнали, характерні

для кумаринової системи, а також сигнали замісників кумаринового циклу.

Взаємодією 7-гідроксикумаринів з метилхлор-ацетатом в умовах реакції Вільямсона з поташем в якості основи були отримані відповідні складні ефіри заміщених 2-оксо-2H-7-хроменілоксіоцтових кислот. Гідроліз складноєфірного угруповання проводився при нагріванні з 5%-вим розчином гідрокарбонату натрію (схема 1). Будову одержаних кислот підтверджено даними спектроскопії ПМР. У порівнянні зі спектрами вихідних 7-гідроксикумаринів у спектрах сполук (5-8) відсутній сигнал протону гідроксильної групи, але з'являються сигнали фрагментів оцтової кислоти: сильно уширений синглет карбоксильної групи в області 12,0-12,5 м.д. та сигнал α-протонів в області 4,5-5,0 м.д.

Для отримання дипептидних похідних синтезованих кислот 5-8 можливі два шляхи: приєднання готового дипептиду або послідовне нарощування пептидного ланцюга. Для синтезу амінокислотних похідних застосовувався метод активо-

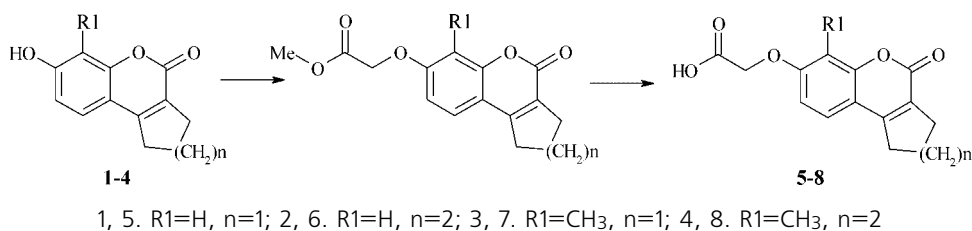


Схема 1

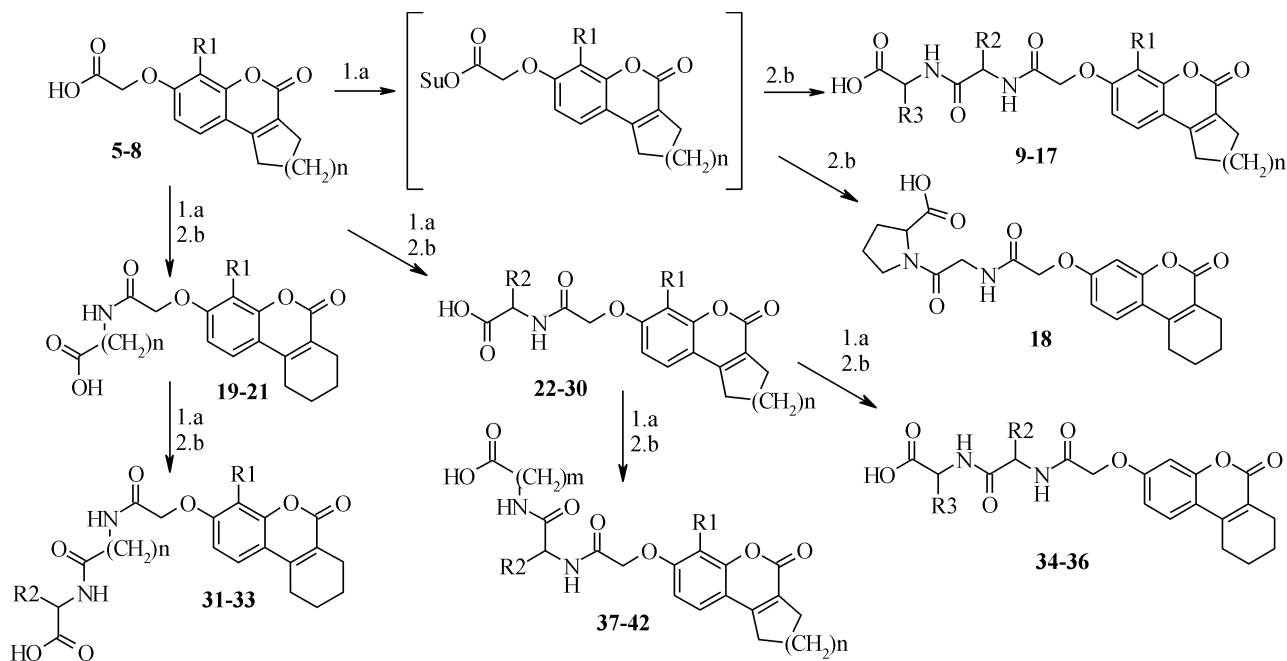
ваних ефірів, що широко використовується в пептидному синтезі [5]. Для активації карбоксильної функції було обрано N-гідроксисукцинімідний ефір, для якого характерна висока реакційна здатність та відсутність рацемізації у продуктів реакції.

Взаємодією кислот 5-8 с N-гідроксисукцинімідом в абсолютному діоксані з використанням в якості конденсуючого агента діізопропілкарбодііміду були отримані відповідні N-гідроксисукцинімідні ефіри. Сполуки 9-31 синтезовані реакцією N-гідроксисукцинімідних ефірів з натрієвими солями гліцил-гліцину (9-11, 17), аланіл-аланіну (12), аланіл-валіну (13), валіл-валіну (14), гліцил-фенілаланіну (15), аланіл-триптофану (16), гліцил-проліну (18), γ -аміноасляної кислоти (19, 21), β -аланіну (20), фенілаланіну (22, 23), гліцину (24), валіну (25), норваліну (26), лейцину (27, 29), ме-

тіоніну (28, 30) в суміші діоксан-вода (1:1) з наступним ацидолізом утворених солей. Виділені амінокислотні похідні мають вільну карбоксильну функцію, яку можна активувати аналогічним способом та приєднати наступний залишок амінокислоти — так було одержано похідні 31-42. У спектрах ПМР виділених сполук присутні сигнали кумаринового циклу, дипептидного фрагменту, амідних зв'язків при 8,02-8,46 м.ч. і карбоксильної групи при 12,11-12,69 м.ч.

Експериментальна частина

Перебіг реакцій та чистоту отриманих продуктів контролювали методом ТШХ на пластинках Merck 60 F254 у системах хлороформ — метанол (9:1) і (95:5). Температуру плавлення визначали на блоці Кофлера. Спектри ПМР вимірювали на спектро-



9. R1=R2=R3=H, n=1; 10. R1=CH₃, R2=R3=H, n=1; 11. R1=R2=R3=H, n=2; 12. R1=H, R2=R3=CH₃, n=2; 13. R1=H, R2=CH(CH₃)₂, R3=CH₃, n=2; 14. R1=H, R2=R3=CH(CH₃)₂, n=2; 15. R1=R2=H, R3=CH₂C₆H₅, n=2; 16. R1=H, R2=CH₃, R3=CH₂Indol, n=2; 17. R1=CH₃, R2=R3=H, n=2; 19. R1=H, n=3; 20. R1=CH₃, n=2; 21. R1=CH₃, n=3; 22. R1=H, R2=CH₂C₆H₅, n=1; 23. R1=CH₃, R2=CH₂C₆H₅, n=1; 24. R1=R2=H, n=2; 25. R1=H, R2=CH(CH₃)₂, n=2; 26. R1=H, R2=(CH₂)₂CH₃, n=2; 27. R1=H, R2=CH₂CH(CH₃)₂, n=2; 28. R1=H, R2=(CH₂)₂SCH₃, n=2; 29. R1=CH₃, R2=CH₂CH(CH₃)₂, n=2; 30. R1=CH₃, R2=(CH₂)₂SCH₃, n=2; 31. R1=H, R2=CH₂C₆H₅, n=3; 32. R1=CH₃, R2=(CH₂)₂SCH₃, n=2; 33. R1=CH₃, R2=CH(CH₃)₂, n=3; 34. R2=H, R3=(CH₂)₃CH₃; 35. R2=CH(CH₃)₂, R3=(CH₂)₂CH₃; 36. R2=CH₂CH(CH₃)₂, R3=H; 37. R1=H, R2=CH₂C₆H₅, n=1, m=3; 38. R1=CH₃, R2=CH₂C₆H₅, n=1, m=2; 39. R1=H, R2=(CH₂)₂CH₃, n=2, m=3; 40. R1=H, R2=(CH₂)₂SCH₃, n=2, m=2; 41. R1=CH₃, R2=CH₂CH(CH₃)₂, n=2, m=3; 42. R1=CH₃, R2=(CH₂)₂SCH₃, n=2, m=3;
- a. N-гідроксисукцинімід, діізопропілкарбодіімід;
b. натрієва сіль амінокислоти (дипептиду).

Схема 2

метрах Varian VXR-300 і Varian Mercury-400 відносно ТМС (внутрішній стандарт). Дані елементного аналізу всіх сполук відповідають обчисленим.

Загальна методика синтезу заміщених 7-карбоксиметокси-3,4-циклопента та 3,4-циклогексакумаринів (5-8). У гарячий розчин 0,05 Моль вихідного кумарину (1-10) в 100 мл абсолютного ацетону додають 20,7 г (0,15 Моль) поташу, потім при інтенсивному перемішуванні і нагріванні (50-56°C) вносять 4,75 мл (0,055 Моль) метилхлорацетату та йодид калію в каталітичній кількості. Реакційну суміш витримують протягом 1-2 год при інтенсивному перемішуванні (перебіг реакції контролюють методом ТШХ). Неорганічний осад відфільтровують, ацетон випарюють у вакуумі, залишок розчиняють у 150 мл ізопропанолу, до розчину додають 175 мл 5%-вого водного розчину гідрокарбонату натрію (0,1 Моль). Реакційну суміш кип'яють на протязі 3-4 год (перебіг реакції контролюють методом ТШХ), потім розводять 400 мл води і підкислюють соляною кислотою до рН=4. Осад фільтрують, кристалізують з водного ізопропанолу.

Загальна методика синтезу N-(7-(карбонілметокси)-3,4-циклопента та 3,4-циклогексакумарин) амінокислот (19-31) і дипептидів (9-18, 32-44). До розчину 3 ммоль кислоти і 0,38 г (3,3 ммоль) N-гідроксисукциніміду в 20 мл абсолютного діоксану при інтенсивному перемішуванні додають 0,52 мл (3,3 ммоль) діізопропілкарбодііміду. Реакційну суміш витримують при перемішуванні протягом 2 год (перебіг реакції контролюють методом ТШХ). До утвореного активованого ефіру додають розчин 3,3 ммоль відповідної амінокислоти або дипептиду і 0,28 г (3,3 ммоль) гідрокарбонату натрію в 20 мл води. Суміш перемішують протягом 2-4 год (перебіг реакції контролюють методом ТШХ). Після завершення реакції відфільтровують осад діізопропілсечовини, до фільтрату додають 200 мл води і підкислюють до рН=5-6. Утворений осад фільтрують та кристалізують з водного етанолу.

N-[2-(4-Оксо-1,2,3,4-тетрагідроциклопента[с]-7-хроменілокси)ацетил]гліцилгліцин (9): вихід — 91%, брутто-формула $C_{18}H_{18}N_2O_7$, Т.пл. — 215-216°C. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 2.15 (2H, м, 2-CH₂), 2.76 (2H, м, 1-CH₂), 3.05 (2H, м, 3-CH₂), 3.81 (4H, м, 7-OCH₂CONHCH₂CONHCH₂), 4.61 (2H, с, 7-OCH₂), 6.97 (2H, м, 6-Н, 8-Н), 7.45 (1H, д, J=9 Гц, 9-Н), 8.17 (1H, т, J=6 Гц, 7-OCH₂CONHCH₂CONHCH₂), 8.44 (1H, т, J=6 Гц, 7-OCH₂CONHCH₂CONHCH₂), 12.51 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(6-Метил-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідроциклопента[с]-7-хроменілокси)ацетил]гліцилгліцин (10): вихід — 88%, брутто-формула $C_{19}H_{20}N_2O_7$, Т.пл. — 232-233°C. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 2.17 (2H, м, 2-CH₂), 2.39 (3H, с, 6-CH₃), 2.78 (2H, м, 1-CH₂), 3.05 (2H, м, 3-CH₂), 3.78 (2H, д, J=7 Гц, 7-OCH₂CONHCH₂CONHCH₂), 3.84 (2H, д, J=7 Гц, 7-OCH₂CONHCH₂CONHCH₂),

4.64 (2H, с, 7-OCH₂), 6.92 (1H, д, J=8 Гц, 8-Н), 7.33 (1H, д, J=8 Гц, 9-Н), 8.13 (1H, т, J=6.5 Гц, 7-OCH₂CONHCH₂CONHCH₂), 8.17 (1H, т, J=6.5 Гц, 7-OCH₂CONHCH₂CONHCH₂), 12.45 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]гліцилгліцин (11): вихід — 85%, брутто-формула $C_{19}H_{20}N_2O_7$, Т.пл. — 214-216°C. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 1.74 (4H, м, 8-CH₂, 9-CH₂), 2.40 (2H, м, 10-CH₂), 2.78 (2H, м, 7-CH₂), 3.80 (4H, м, 3-OCH₂CONHCH₂CONHCH₂), 4.65 (2H, с, 3-OCH₂), 6.99 (2H, м, 2-Н, 4-Н), 7.66 (1H, д, J=8.5 Гц, 1-Н), 8.27 (1H, т, J=6 Гц, 3-OCH₂CONHCH₂CONHCH₂), 8.44 (1H, т, J=6 Гц, 3-OCH₂CONHCH₂CONHCH₂), 12.63 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]аланіл-аланін (12): вихід — 81%, брутто-формула $C_{21}H_{24}N_2O_7$, Т.пл. — 247-248°C. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 0.89 (6H, т, J=6 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₃)CONHCH(CH₃)), 1.79 (4H, м, 8-CH₂, 9-CH₂), 2.43 (2H, м, 10-CH₂), 2.77 (2H, м, 7-CH₂), 4.22 (1H, т, J=7 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₃)CONHCH(CH₃)), 4.42 (1H, т, J=7 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₃)CONHCH(CH₃)), 4.58 (2H, уш. с, 3-OCH₂), 6.89 (1H, д, J=2.5 Гц, 4-Н), 6.93 (1H, дд, J=8.5 Гц, J=2.5 Гц, 2-Н), 7.57 (1H, д, J=8.5 Гц, 1-Н), 8.07 (1H, д, J=7 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₃)CONHCH(CH₃)), 8.19 (1H, д, J=7 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₃)CONHCH(CH₃)), 12.41 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]валілаланін (13): вихід — 88%, брутто-формула $C_{23}H_{28}N_2O_7$, Т.пл. — 207-209°C. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 0.89 (6H, т, J=7 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₃)), 1.30 (3H, д, J=8 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₃)), 1.80 (4H, м, 8-CH₂, 9-CH₂), 2.11 (1H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₃)), 2.43 (2H, м, 10-CH₂), 2.77 (2H, м, 7-CH₂), 4.44 (1H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₃)), 4.56 (3H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₃)), 6.90 (1H, д, J=2 Гц, 4-Н), 6.93 (1H, дд, J=8.5 Гц, J=2 Гц, 2-Н), 7.56 (1H, д, J=8.5 Гц, 1-Н), 8.04 (1H, д, J=8 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₃)), 8.13 (1H, д, J=9 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₃)), 12.53 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]валілвалін (14): вихід — 82%, брутто-формула $C_{25}H_{32}N_2O_7$, Т.пл. — 127-128°C. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 0.88 (12H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH(CH₃)₂)), 1.80 (4H, м, 8-CH₂, 9-CH₂), 2.11 (2H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH(CH₃)₂)), 2.41 (2H, м, 10-CH₂), 2.76 (2H, м, 7-CH₂), 4.13 (1H, т, J=8.5 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH(CH₃)₂)), 4.40 (1H, т, J=8.5 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH(CH₃)₂)), 4.65 (2H, уш. с, 3-OCH₂), 6.87 (1H,

д, J=2 Гц, 4-Н), 6.91 (1Н, дд, J=8.5 Гц, J=2 Гц, 2-Н), 7.54 (1Н, д, J=8.5 Гц, 1-Н), 7.89 (1Н, д, J=8.5 Гц, 3-ОСН₂СОННСН(СН(СН₃)₂)СОННСНСН(СН₃)₂), 8.01 (1Н, д, J=8.5 Гц, 3-ОСН₂СОННСН(СН(СН₃)₂)СОННСНСН(СН₃)₂), 12.49 (1Н, уш. с, СООН).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]гліцилфенілаланін (15): вихід — 79%, брутто-формула C₂₆H₂₆N₂O₇, Т.пл. — 176-178°C. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 1.72 (4Н, м, 8-СН₂, 9-СН₂), 2.39 (2Н, м, 10-СН₂), 2.75 (2Н, м, 7-СН₂), 2.85-3.08 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСНСН₂Ph), 2.85-3.08 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСНСН₂Ph), 3.78 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСНСН₂Ph), 4.45 (1Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСНСН₂Ph), 4.62 (2Н, с, 3-ОСН₂), 6.96-7.00 (2Н, м, 2-Н, 4-Н), 7.22 (5Н, м, Ph), 7.63 (1Н, д, J=8.5 Гц, 1-Н), 8.29 (1Н, д, J=7 Гц, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСНСН₂Ph), 8.31 (1Н, т, J=7 Гц, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСНСН₂Ph), 12.81 (1Н, уш. с, СООН).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]аланілтриптофан (16): вихід — 83%, брутто-формула C₂₉H₂₉N₃O₇, Т.пл. — 181-183°C. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 1.10 (1Н, м, 3-ОСН₂СОННСН(СН₃)СОННСНСН₂(индол-3-ил)), 1.26 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН(СН₃)СОННСНСН₂(индол-3-ил)), 1.77 (4Н, м, 8-СН₂, 9-СН₂), 2.41 (2Н, м, 10-СН₂), 2.74 (2Н, м, 7-СН₂), 3.04 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН(СН₃)СОННСНСН₂(индол-3-ил)), 4.46 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН(СН₃)СОННСНСН₂(индол-3-ил)), 4.56 (2Н, уш. с, 3-ОСН₂), 6.88-7.10 (5Н, м, 2-Н, 4-Н, (индол-3-ил)), 7.29 (1Н, д, J=8 Гц, 1-Н), 7.47-7.56 (2Н, м, индол-3-ил), 8.03-8.20 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН(СН₃)СОННСНСН₂(индол-3-ил)), 10.73 (1Н, с, NH (индол-3-ил)), 12.70 (1Н, уш. с, СООН).

N-[2-(4-Метил-6-оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]гліцилгліцин (17): вихід — 78%, брутто-формула C₁₉H₂₀N₂O₇, Т.пл. — 227-229°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 1.74 (4Н, м, 8-СН₂, 9-СН₂), 2.27 (3Н, с, 4-Ме), 2.39 (2Н, м, 10-СН₂), 2.73 (2Н, м, 7-СН₂), 3.85 (4Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСН₂), 4.68 (2Н, с, 3-ОСН₂), 6.96 (1Н, д, J=8 Гц, 2-Н), 7.66 (1Н, д, J=8 Гц, 1-Н), 8.26 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСН₂), 12.64 (1Н, уш. с, СООН).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]гліцилпролін (18): вихід — 75%, брутто-формула C₂₂H₂₄N₂O₇, Т.пл. — 146-148°C. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 1.80 (4Н, м, 8-СН₂, 9-СН₂), 1.89-2.02 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСН₂СН₂СН₂СН), 2.11-2.19 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСН₂СН₂СН₂СН), 2.40 (2Н, м, 10-СН₂), 2.75 (2Н, м, 7-СН₂), 3.43-3.60 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСН₂СН₂СН₂СН), 3.87-4.03 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСН₂СН₂СН₂СН), 4.28 (1Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСН₂СН₂СН₂СН), 4.60 (2Н,

с, 3-ОСН₂), 6.89 (1Н, д, J=3 Гц, 4-Н), 6.93 (1Н, дд, J=8.5 Гц, J=3 Гц, 2-Н), 7.55 (1Н, д, J=8.5 Гц, 1-Н), 8.14 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СОННСН₂СН₂СН₂СН), 12.52 (1Н, уш. с, СООН).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]-γ-амінобутанова кислота (19): вихід — 68%, Т.пл. — 171-172°C, брутто-формула C₁₉H₂₁NO₆. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 1.72 (6Н, м, СН₂-8, СН₂-9, 3-ОСН₂СОННСН₂СН₂СН₂), 2.22 (2Н, т, 3-ОСН₂СОННСН₂СН₂СН₂), 2.39 (2Н, м, СН₂-10), 2.74 (2Н, м, СН₂-7), 3.15 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СН₂СН₂), 4.58 (2Н, с, 3-ОСН₂СОННСН₂СН₂СН₂), 6.92 (1Н, д, J=2.4, Н-4), 6.97 (1Н, дд, J_{2,4}=2.4, J_{2,1}=9.0, Н-2), 7.62 (1Н, д, J=9.0, Н-1), 8.19 (1Н, т, J=5.4, СОНН), 12.05 (1Н, уш. с., СООН).

N-[2-(4-Метил-6-оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]-β-аланін (20): вихід — 81%, брутто-формула C₁₉H₂₁NO₆, Т.пл. — 242-244°C. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 1.73 (4Н, м, 8-СН₂, 9-СН₂), 2.27 (3Н, с, 4-СН₃), 2.37-2.50 (4Н, м, 10-СН₂, 3-ОСН₂СОННСН₂СН₂), 2.71 (2Н, м, 7-СН₂), 3.36 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СН₂), 4.59 (2Н, с, 3-ОСН₂), 6.87 (1Н, д, J=8.5 Гц, 2-Н), 7.45 (1Н, д, J=8.5 Гц, 1-Н), 8.04 (1Н, т, J=5 Гц, 3-ОСН₂СОНН), 12.31 (1Н, уш. с, СООН).

N-[2-(4-Метил-6-оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]-γ-амінобутанова кислота (21): вихід — 72%, Т.пл. — 183-185°C, брутто-формула C₁₀H₂₃NO₆. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 1.64 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СН₂СН₂), 1.79 (4Н, м, СН₂-8, СН₂-9), 2.13 (2Н, т, 3-ОСН₂СОННСН₂СН₂СН₂СН₂), 2.31 (3Н, с, 4-СН₃), 2.41 (2Н, м, СН₂-10), 2.72 (2Н, м, СН₂-7), 3.12 (2Н, м, 3-ОСН₂СОННСН₂СН₂СН₂), 4.51 (2Н, с, 3-ОСН₂СОННСН₂СН₂СН₂), 6.75 (1Н, д, J=9.0, Н-2), 7.39 (1Н, д, J=9.0, Н-1), 7.93 (1Н, т, J=5.4, СОНН), 11.95 (1Н, уш. с., СООН).

N-[2-(4-Оксо-1,2,3,4-тетрагідроциклопента[с]-7-хроменілокси)ацетил]фенілаланін (22): вихід — 71%, брутто-формула C₂₃H₂₁NO₆, Т.пл. — 199-201°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 2.17 (2Н, м, 2-СН₂), 2.78 (2Н, м, 1-СН₂), 3.02 (4Н, м, 3-СН₂, 7-ОСН₂СОННСНСН₂Ph), 4.56 (3Н, уш. с, 7-ОСН₂, 7-ОСН₂СОННСНСН₂Ph), 6.81 (2Н, м, 6-Н, 8-Н), 7.17-7.25 (5Н, м, Ph), 7.42 (1Н, д, J=9 Гц, 9-Н), 8.07 (1Н, д, J=7 Гц, 7-ОСН₂СОННСНСН₂Ph), 12.77 (1Н, уш. с, СООН).

N-[2-(6-Метил-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідроциклопента[с]-7-хроменілокси)ацетил]фенілаланін (23): вихід — 78%, брутто-формула C₂₄H₂₃NO₆, Т.пл. — 229-231°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 2.16 (2Н, м, 2-СН₂), 2.26 (3Н, с, 6-СН₃), 2.79 (2Н, м, 1-СН₂), 3.01-3.15 (4Н, м, 3-СН₂, 7-ОСН₂СОННСНСН₂Ph), 4.59 (3Н, м, 7-ОСН₂, 7-ОСН₂СОННСНСН₂Ph), 6.81 (2Н, д, J=8 Гц, 8-Н), 7.17-7.25 (6Н, м, 9-Н, Ph), 8.07 (1Н, д, J=7 Гц, 7-ОСН₂СОННСНСН₂Ph), 12.45 (1Н, уш. с, СООН).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]глїцин (24): вихід — 61%, Т.пл. — 229-231°C, брутто-формула C₁₇H₁₇NO₆. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 1.73 (4Н, м, CH₂-8, CH₂-9), 2.40 (2Н, м, CH₂-10), 2.76 (2Н, м, CH₂-7), 3.83 (2Н, д, J=6.0, 3-OCH₂CONHCH₂), 4.65 (2Н, с, 3-OCH₂CONHCH₂), 6.96 (1Н, д, J=2.4, Н-4), 7.00 (1Н, дд, J_{2,4}=2.4, J_{2,1}=9.0, Н-2), 7.64 (1Н, д, J=9.0, Н-1), 8.45 (1Н, т, CONH), 12.40 (1Н, уш. с., COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]валін (25): вихід — 54%, Т.пл. — 177-179°C, брутто-формула C₂₀H₂₃NO₆. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 0.91 (6Н, д, J=6.9, 3-OCH₂CONHCH₂CH(CH₃)₂), 1.74 (4Н, м, CH₂-8, CH₂-9), 2.11 (1Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH(CH₃)₂), 2.40 (2Н, м, CH₂-10), 2.78 (2Н, м, CH₂-7), 4.21 (1Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH(CH₃)₂), 4.73 (2Н, с, 3-OCH₂CONHCH₂CH(CH₃)₂), 6.90 (1Н, д, J=2.4, Н-4), 7.01 (1Н, дд, J_{2,4}=2.4, J_{2,1}=9.0, Н-2), 7.59 (1Н, д, J=9.0, Н-1), 8.43 (1Н, д, J=8.4, CONH), 12.78 (1Н, уш. с., COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]норвалін (26): вихід — 68%, Т.пл. — 172-174°C, брутто-формула C₂₀H₂₃NO₆. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 0.87 (3Н, т, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.33 (2Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.73 (6Н, CH₂-8, CH₂-9, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH₂CH₃), 2.39 (2Н, м, CH₂-10), 2.73 (2Н, м, CH₂-7), 4.30 (1Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH₂CH₃), 4.67 (2Н, с, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH₂CH₃), 6.91 (1Н, д, J=2.4, Н-4), 6.95 (1Н, дд, J_{2,4}=2.4, J_{2,1}=9.0, Н-2), 7.58 (1Н, д, J=9.0, Н-1), 8.35 (1Н, д, J=8.1, CONH), 12.50 (1Н, уш. с., COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]лейцин (27): вихід — 52%, Т.пл. — 160-161°C, брутто-формула C₂₁H₂₅NO₆. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 0.82 (3Н, д, J=5.7, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH(CH₃)₂), 0.88 (3Н, д, J=5.7, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH(CH₃)₂), 1.59 (3Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH(CH₃)₂), 1.73 (4Н, м, CH₂-8, CH₂-9), 2.40 (2Н, м, CH₂-10), 2.77 (2Н, м, CH₂-7), 4.29 (1Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH(CH₃)₂), 4.66 (2Н, с, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH(CH₃)₂), 6.92 (1Н, д, J=2.4, Н-4), 6.97 (1Н, дд, J_{2,4}=2.4, J_{2,1}=9.0, Н-2), 7.63 (1Н, д, J=9.0, Н-1), 8.37 (1Н, д, J=8.1, CONH), 12.50 (1Н, уш. с., COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]метіонін (28): вихід — 49%, Т.пл. — 129-130°C, брутто-формула C₂₀H₂₃NO₆S. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 1.74 (4Н, м, CH₂-8, CH₂-9), 1.97 (2Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 2.03 (3Н, с, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 2.40 (2Н, м, CH₂-10), 2.45 (2Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 2.76 (2Н, м, CH₂-7), 4.42 (1Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 4.67 (2Н, с, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 6.93 (1Н, д, J=2.4, Н-4), 6.97 (1Н, дд, J_{2,4}=2.4, J_{2,1}=9.0, Н-2), 7.62 (1Н, д,

J=9.0, Н-1), 8.42 (1Н, д, J=7.5, CONH), 12.40 (1Н, уш. с., COOH).

N-[2-(4-Метил-6-оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]лейцин (29): вихід — 63%, Т.пл. — 232-234°C, брутто-формула C₂₂H₂₇NO₆. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 0.88 (6Н, д, J=5.7, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH(CH₃)₂), 1.58 (2Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH(CH₃)₂), 1.78 (5Н, м, CH₂-8, CH₂-9, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH(CH₃)₂), 2.20 (3Н, с, CH₃-4), 2.38 (2Н, м, CH₂-7), 2.71 (2Н, м, CH₂-7), 4.30 (1Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH(CH₃)₂), 4.68 (2Н, дд, J=14.8, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH(CH₃)₂), 6.89 (1Н, д, J=9.2, Н-2), 7.46 (1Н, д, J=9.2, Н-1), 8.28 (1Н, д, J=8, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH(CH₃)₂), 12.68 (1Н, уш. с., COOH).

N-[2-(4-Метил-6-оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]метіонін (30): вихід — 58%, Т.пл. — 204-205°C, брутто-формула C₂₁H₂₅NO₆S. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J/Гц): 1.75 (4Н, м, CH₂-8, CH₂-9), 1.96 (2Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 2.02 (3Н, с, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 2.32 (3Н, с, CH₃-4), 2.41 (2Н, м, CH₂-10), 2.48 (2Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 2.74 (2Н, м, CH₂-7), 4.41 (1Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 4.69 (2Н, с, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 6.92 (1Н, д, J_{2,1}=9.0, Н-2), 7.47 (1Н, д, J=9.0, Н-1), 8.36 (1Н, д, J=7.5, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 12.75 (1Н, уш. с., COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]-γ-амінобутират фенілаланіну (31): вихід — 71%, брутто-формула C₂₈H₃₀N₂O₇, Т.пл. — 159-161°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 1.59 (2Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH₂CONHCH₂Ph), 1.73 (4Н, м, 8-CH₂, 9-CH₂), 2.07 (2Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH₂CONHCH₂Ph), 2.40 (2Н, м, 10-CH₂), 2.75 (2Н, м, 7-CH₂), 2.88 (2Н, м, 3-OCH₂CONH(CH₂)₃CONHCH₂Ph), 3.04 (2Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CONHCH₂Ph), 4.42 (1Н, м, 3-OCH₂CONH(CH₂)₃CONHCH₂Ph), 4.57 (2Н, с, 3-OCH₂), 6.94-6.98 (2Н, м, 2-Н, 4-Н), 7.22 (5Н, м, Ph), 7.62 (1Н, д, J=9 Гц, 1-Н), 8.13 (2Н, м, 2NH), 12.68 (1Н, уш. с., COOH).

N-[2-(4-Метил-6-оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]-β-аланілметіонін (32): вихід — 59%, брутто-формула C₂₄H₃₀N₂O₇S, Т.пл. — 136-138°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 1.72-1.99 (6Н, м, 8-CH₂, 9-CH₂, 3-OCH₂CONH(CH₂)₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 2.00 (3Н, с, 3-OCH₂CONH(CH₂)₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 2.26 (3Н, с, 4-CH₃), 2.30-2.50 (6Н, м, 10-CH₂, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 2.75 (2Н, м, 7-CH₂), 3.35 (2Н, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 4.31 (1Н, м, 3-OCH₂CONH(CH₂)₂CONHCH₂CH₂SCH₃), 4.60 (2Н, с, 3-OCH₂), 6.92 (1Н, д, J=8.5 Гц, 2-Н), 7.49 (1Н, д, J=8.5 Гц, 1-Н), 8.01 (1Н, т, J=5 Гц, 3-OCH₂CONH(CH₂)₂CONHCH₂CH₂SCH₃).

CH₂CH₂SCH₃), 8.22 (1H, д, J=7 Гц, 3-OCH₂CONH(CH₂)₂CONHCHCH₂CH₂SCH₃), 11.91 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(4-Метил-6-оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6H-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]-γ-амінобутират валіну (33): вихід — 64%, брутто-формула C₂₅H₃₂N₂O₇, Т.пл. — 153-154°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 0.86 (6H, д, J=6 Гц, 3-OCH₂CONH(CH₂)₃CONHCHCH(CH₃)₂), 1.75 (6H, м, 8-CH₂, 9-CH₂, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH₂CONHCHCH(CH₃)₂), 2.05 (1H, м, 3-OCH₂CONH(CH₂)₃CONHCHCH(CH₃)₂), 2.20 (2H, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH₂CONHCHCH(CH₃)₂), 2.26 (6H, с, 4-CH₃), 2.39 (2H, м, 10-CH₂), 2.73 (2H, м, 7-CH₂), 3.15 (2H, м, 3-OCH₂CONHCH₂CH₂CH₂CONHCHCH(CH₃)₂), 4.15 (1H, м, 3-OCH₂CONH(CH₂)₃CONHCHCH(CH₃)₂), 4.61 (2H, с, 3-OCH₂), 6.88 (1H, д, J=8.5 Гц, 2-H), 7.48 (1H, д, J=8.5 Гц, 1-H), 7.80 (1H, д, J=8 Гц, 3-OCH₂CONH(CH₂)₃CONHCHCH(CH₃)₂), 7.96 (1H, т, J=5 Гц, 3-OCH₂CONH(CH₂)₃CONHCHCH(CH₃)₂), 12.44 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6H-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]гліцилнорлейцин (34): вихід — 72%, брутто-формула C₂₃H₂₈N₂O₇, Т.пл. — 182-184°C. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 0.82 (3H, т, J=6 Гц, CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.22 (4H, м, CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.61 (2H, м, CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.72 (4H, м, 8-CH₂, 9-CH₂), 2.40 (2H, м, 10-CH₂), 2.77 (2H, м, 7-CH₂), 3.82 (2H, м, 3-OCH₂CONHCH₂CONHCH(CH₂)₃CH₃), 4.19 (1H, м, 3-OCH₂CONHCH₂CONHCH(CH₂)₃CH₃), 4.65 (2H, с, 3-OCH₂), 6.97 (1H, д, J=2.5 Гц, 4-H), 7.00 (1H, д, J=8.5 Гц, J=2.5 Гц, 2-H), 7.65 (1H, д, J=8.5 Гц, 1-H), 8.18 (1H, д, J=8 Гц, 3-OCH₂CONHCH₂CONHCH(CH₂)₃CH₃), 8.35 (1H, т, J=6 Гц, 3-OCH₂CONHCH₂CONHCH(CH₂)₃CH₃), 12.64 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6H-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]валінонорвалін (35): вихід — 58%, брутто-формула C₂₅H₃₂N₂O₇, Т.пл. — 160-162°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 0.88 (9H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₂)₂CH₃), 1.32 (2H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCHCH₂CH₂CH₃), 1.55-1.90 (6H, м, 8-CH₂, 9-CH₂, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCHCH₂CH₂CH₃), 2.01 (1H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₂)₂CH₃), 2.40 (2H, м, 10-CH₂), 2.77 (2H, м, 7-CH₂), 4.25-4.45 (2H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₂)₂CH₃), 4.66 (2H, с, 3-OCH₂), 6.87 (2H, м, 2-H, 4-H), 7.54 (1H, д, J=8.5 Гц, 1-H), 7.94 (1H, д, J=8 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₂)₂CH₃), 8.22 (0.6H, д, J=7 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₂)₂CH₃), 8.34 (0.4H, д, J=7 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH(CH₃)₂)CONHCH(CH₂)₂CH₃), 12.45 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6H-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]лейцилгліцин (36): вихід — 52%, брутто-формула C₂₃H₂₈N₂O₇, Т.пл. — 133-

135°C. Спектр ПМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 0.89 (6H, д, J=6.5 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH(CH₃)₂)CONHCH₂), 1.24 (1H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH(CH₃)₂)CONHCH₂), 1.54 (2H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH(CH₃)₂)CONHCH₂), 1.79 (4H, м, 8-CH₂, 9-CH₂), 2.42 (2H, м, 10-CH₂), 2.75 (2H, м, 7-CH₂), 4.44 (1H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH(CH₃)₂)CONHCH₂), 4.60 (2H, м, 3-OCH₂), 6.82-7.01 (2H, м, 2-H, 4-H), 7.54 (1H, д, J=8 Гц, 1-H), 8.11 (1H, д, J=7 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH(CH₃)₂)CONHCH₂), 8.24 (1H, т, J=6 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH(CH₃)₂)CONHCH₂), 12.43 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(4-Оксо-1,2,3,4-тетрагідроциклопента[с]-7-хроменілокси)ацетил]фенілаланіл-γ-аміномасляна кислота (37): вихід — 68%, брутто-формула C₂₇H₂₈N₂O₇, Т.пл. — 162-163°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 1.61 (2H, м, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONHCH₂CH₂CH₂), 2.15 (4H, м, 2-CH₂, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONHCH₂CH₂CH₂), 2.75 (2H, м, 1-CH₂), 2.99 (2H, м, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONH(CH₂)₃), 3.03 (4H, м, 3-CH₂, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONHCH₂CH₂CH₂), 4.55 (3H, уш. с, 7-OCH₂, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONH(CH₂)₃), 6.84 (2H, м, 6-H, 8-H), 7.19 (5H, м, Ph), 7.42 (1H, д, J=9 Гц, 9-H), 8.05 (1H, т, J=5 Гц, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONH(CH₂)₃), 8.19 (1H, д, J=7 Гц, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONH(CH₂)₃), 11.96 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(6-Метил-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідроциклопента[с]-7-хроменілокси)ацетил]фенілаланіл-β-аланін (38): вихід — 75%, брутто-формула C₂₈H₃₀N₂O₇, Т.пл. — 171-173°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 2.14 (2H, м, 2-CH₂), 2.23 (3H, с, 6-CH₃), 2.34 (1H, м, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONHCH₂CH₂), 2.75 (2H, м, 1-CH₂), 2.86-3.01 (2H, м, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONH(CH₂)₂), 3.03 (2H, м, 3-CH₂), 3.23 (2H, м, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONHCH₂CH₂), 4.56 (3H, уш. с, 7-OCH₂, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONH(CH₂)₂), 6.70 (1H, д, J=8.5 Гц, 8-H), 7.19 (6H, м, Ph, 9-H), 8.02 (1H, д, J=7.5 Гц, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONH(CH₂)₂), 8.15 (1H, т, J=6 Гц, 7-OCH₂CONHCH(CH₂Ph)CONH(CH₂)₂), 12.15 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6H-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]норваліл-γ-аміномасляна кислота (39): вихід — 62%, брутто-формула C₂₄H₃₀N₂O₇, Т.пл. — 164-165°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 0.85 (3H, т, J=6 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂CH₃)CONH(CH₂)₃), 1.25 (2H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂CH₃)CONH(CH₂)₃), 1.50-1.76 (8H, м, 8-CH₂, 9-CH₂, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂CH₃)CONHCH₂CH₂CH₂), 2.21 (3H, т, J=7 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂CH₃)CONHCH₂CH₂CH₂), 2.40 (2H, м, 10-CH₂), 2.76 (2H, м, 7-CH₂), 3.09 (2H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂CH₃)CONHCH₂CH₂CH₂), 4.27 (1H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂CH₃)CONH(CH₂)₃), 4.67 (2H, с, 3-

OCH₂), 6.93 (2H, м, 6-Н, 8-Н), 7.61 (1H, д, J=9 Гц, 9-Н), 8.03 (1H, т, J=5 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂CH₃)CONH(CH₂)₃), 8.15 (1H, д, J=8 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂CH₃)CONH(CH₂)₃), 12.05 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(6-Оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]метіоніл-β-аланін (40): вихід — 64%, брутто-формула C₂₃H₂₈N₂O₇S, Т.пл. — 168-169°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 1.73-1.99 (6H, м, 8-CH₂, 9-CH₂, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONH(CH₂)₂), 2.00 (3H, с, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONH(CH₂)₂), 2.38 (6H, м, 10-CH₂, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONH(CH₂)₂), 2.77 (2H, м, 7-CH₂), 3.27 (2H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONHCH₂CH₂), 4.36 (1H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONH(CH₂)₂), 4.67 (2H, с, 3-OCH₂), 6.95 (2H, м, 6-Н, 8-Н), 7.63 (1H, д, J=9 Гц, 9-Н), 8.11 (1H, т, J=5 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONH(CH₂)₂), 8.25 (1H, д, J=8 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONH(CH₂)₂), 12.26 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(4-Метил-6-оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]лейцил-γ-аміномасляна кислота (41): вихід — 53%, брутто-формула C₂₄H₃₀N₂O₇, Т.пл. — 128-130°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 0.86 (6H, т, J=6 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH(CH₃)₂)CONH(CH₂)₃), 1.50-1.74 (9H, м, 8-CH₂, 9-CH₂, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH(CH₃)₂)CONHCH₂CH₂CH₂), 2.25 (5H, м, 4-CH₃, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH(CH₃)₂)CONHCH₂CH₂CH₂), 2.40 (2H, м, 10-CH₂), 2.74

(2H, м, 7-CH₂), 3.06 (2H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH(CH₃)₂)CONHCH₂CH₂CH₂), 4.33 (1H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH(CH₃)₂)CONH(CH₂)₃), 4.69 (2H, с, 3-OCH₂), 6.91 (1H, д, J=8.5 Гц, 2-Н), 7.47 (1H, д, J=8.5 Гц, 1-Н), 8.03 (2H, м, 2NH), 11.91 (1H, уш. с, COOH).

N-[2-(4-Метил-6-оксо-7,8,9,10-тетрагідро-6Н-бензо[с]-3-хроменілокси)ацетил]метіоніл-γ-аміномасляна кислота (42): вихід — 62%, брутто-формула C₂₅H₃₂N₂O₇S, Т.пл. — 180-182°C. Спектр ПМР (300 МГц, DMSO-d₆, δ, м.д., J, Гц): 1.60-2.05 (11H, м, 8-CH₂, 9-CH₂, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONHCH₂CH₂CH₂), 2.15-2.26 (5H, м, 4-CH₃, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONHCH₂CH₂CH₂), 2.40 (4H, м, 10-CH₂, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONH(CH₂)₃), 2.75 (2H, м, 7-CH₂), 3.09 (2H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONHCH₂CH₂CH₂), 4.37 (1H, м, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONH(CH₂)₃), 4.70 (2H, с, 3-OCH₂), 6.93 (1H, д, J=8 Гц, 2-Н), 7.48 (1H, д, J=8 Гц, 1-Н), 8.03 (1H, т, J=5 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONH(CH₂)₃), 8.14 (1H, д, J=7 Гц, 3-OCH₂CONHCH(CH₂CH₂SCH₃)CONH(CH₂)₃), 11.89 (1H, уш. с, COOH).

Висновки

1. Використовуючи реакцію Вільямсона та метод активованих ефірів, ми одержали ряд дипептидних похідних 7-гідрокси 3,4-циклопента та 3,4-циклогексакумаринів.

2. Будову синтезованих сполук доведено даними елементного аналізу і ПМР-спектроскопії.

Література

1. Гаразд М.М., Гаразд Я.Л., Шилин С.В., Хиля В.П. // ХПС. — 2002. — С. 338.
2. Веселовская М.В., Шилин С.В., Гаразд М.М., Хиля В.П. // ХПС. — 2003. — С. 132.
3. Zafaruddin Ahmad S., Desai R.D. // Proc.-Ind. Acad. Sci. Sect. A, 5. — 1937. — 277.
4. Confalone P.N., Confalone D.L. // Tetrahedron. — 1983. — Vol. 39. — P. 1265.
5. Гершкович А.А., Кибирев В.К. Химический синтез пептидов. — К.: Наукова думка, 1992. — С. 71.

Надійшла до редакції 23.10.2007 р.

УДК 615.015.11:547.7/8

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 1-АРИЛ-4-[(НАФТАЛИМИДО)БУТИЛ]ПИПЕРАЗИНА. СИНТЕЗ И НЕЙРОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА

С.Г.Соболева, Т.Л.Карасева*, А.В.Замковая*, С.А.Андронати*

Одесский национальный университет им. И.И.Мечникова,
* Физико-химический институт им. А.В.Богатского НАН Украины
65080, г. Одесса, Люстдорфская дор., 86. E-mail: physchem@paso.net

Ключевые слова: нафталимидо(алкил)пиперазины; синтез; структура; анксиолитические свойства

Синтезированы новые производные 1-арил-4-[(нафталимидо)бутил]пиперазина и изучены их нейротропные свойства. Некоторые из полученных соединений продемонстрировали более высокую в сравнении с буспироном антидепрессивную и анксиолитическую активность. Показано влияние полярных и гидрофобных свойств имидного фрагмента производных арилпиперазина на их фармакологическую активность.

THE NOVEL 1-ARYL-4-[(NAPHTHALIMIDO)BUTYL]PIPERAZINE DERIVATIVES. THE SYNTHESIS AND NEUROTROPIC PROPERTIES

S.G.Soboleva, T.L.Karasyova, A.V.Zamkovaya, S.A.Andronati

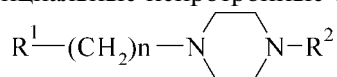
The novel 1-aryl-4-[(naphthalimido)butyl]piperazine derivatives have been synthesized and their neurotropic properties have been studied. Some of the compounds synthesized demonstrated antidepressant and anxiolytic activities, which are higher than ones of buspirone. The influence of polar and hydrophobic properties of the imide fragment of arylpiperazine derivatives on their pharmacological activity has been demonstrated.

НОВІ ПОХІДНІ 1-АРИЛ-4-[(НАФТАЛІМІДО)БУТИЛ]ПІПЕРАЗИНУ. СИНТЕЗ І НЕЙРОТРОПНІ ВЛАСТИВОСТІ

С.Г.Соболева, Т.Л.Карасьова, А.В.Замкова, С.А.Андронати

Синтезовані нові похідні 1-арил-4-[(нафталімідо)бутил]піперазину та вивчені їх нейротропні властивості. Деякі з одержаних сполук продемонстрували антидепресивну та анксиолітичну активність, вищу за буспірон. Показано вплив полярних і гідрофобних властивостей імідного фрагменту похідних арилпіперазину на їх фармакологічну активність.

В настоящее время производные арил(гетарил)пиперазинов I интенсивно изучаются как перспективные потенциальные нейротропные средства [1].



I
R¹ - имидный (амидный) терминальный фрагмент;
R² - арил, гетарил, n = 1 - 8.

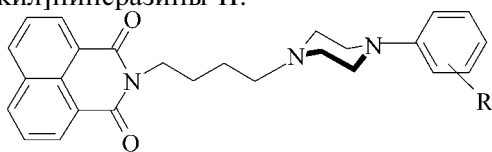
Фармакологический спектр этих веществ включает такие важные свойства как анксиолитические, нейролептические, антидепрессивные и др. В организме человека молекулярными мишенями соединений являются серотониновые (5-НТ_{1А}), дофаминовые (D₁ — D₂) или адренергические (α₁) рецепторы. Препараты данного ряда (буспирон, гепирон, ипсапирон, тандоспирон, флезиноксан и др.) характеризуются большей селективностью анксиолитического действия в сравнении с бензодиазепиновыми анксиолитиками [2-4]. Эти препараты образуют лиганд-рецепторные комплексы с постсинаптическими 5-НТ_{1А} рецепторами ЦНС

и, как следствие, подавляют синтез ц-АМФ и активность пирамидальных нейронов [5].

Арил(гетарил)пиперазиновая часть молекулы соединений I содержит два центра связывания с рецептором — высокоосновный атом азота пиперазинового кольца и ароматическое ядро (бензольное или гетарильное). Недостаточно выяснена роль терминального фрагмента R¹ в связывании веществ I с рецептором. Высказывалось предположение о том, что он, играя роль “гидрофобного якоря”, увеличивает связывание лиганда с рецептором [3, 4].

Другая точка зрения: фрагмент R¹ является третьим центром связывания лигандов I с 5-НТ_{1А} рецептором за счет полярных и гидрофобных взаимодействий. Ранее нами были синтезированы арилпиперазины типа I с различными арильными заместителями R², имидными фрагментами R¹ и различной длиной спейсера (-(CH₂)_n-), изучена связь между структурой лигандов I, их аффинитетом к рецепторам ЦНС и нейротропными свойствами [1, 6-15].

В работе [15] изучались 1-арил-4-[(нафталими-до)алкил]пиперазины II.



II

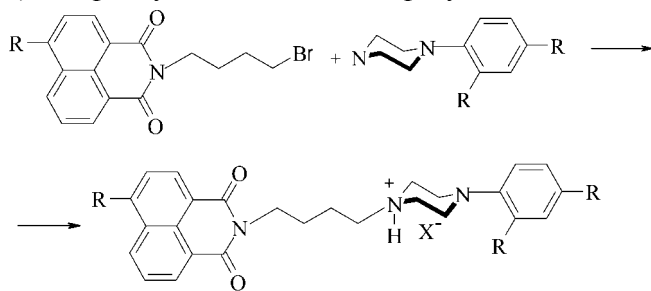
R = CH₃, H, Cl

Было показано, что в ряду этих веществ имеются перспективные соединения, обладающие высоким аффинитетом к 5-HT_{1A} рецепторам и анксиолитическими свойствами.

Представлялось интересным оценить влияние заместителей различной природы не только в арильном фрагменте, но и в имидном.

С этой целью нами были синтезированы N-(арилпиперазинил)бутил-нафталимиды III и сопоставлены их свойства со свойствами соответствующих незамещенных в нафталимидном ядре соединений II, описанных ранее [15].

Соединения III в виде гидробромидов (2-4, табл. 1) получали кипячением соответствующих N-(δ-бромбутил)нафталимидов IV с 1-арилпиперазинами в бутаноле. В этих условиях получить соединение III (R² = R³ = H, R¹ = NO₂) в виде гидробромида не удалось. С выходом 31% это соединение в виде гидрохлорида I было получено кипячением 4-нитро-N-(δ-бромбутил)-1,8-нафталимида с 1-фенилпиперазином в изопропанол в присутствии поташа с последующей обработкой полученного основания HCl. Промежуточные соединения — бромбутилнафталимиды IV получали алкилированием соответствующих нафталимидов 1,4-дибромбутаном в ацетоне в присутствии поташа.



III

R¹ = H, NO₂, C₆H₅CO; R² = H, CH₃; R³ = H, Cl; X = Br, Cl

Структура соединений 1-4 подтверждена методами ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и спектроскопии ПМР. В ИК-спектрах веществ присутствуют 2 интенсивные полосы поглощения карбонильных групп имидного фрагмента в области 1650-1750 см⁻¹, СН-связей метиленовых групп (2860-2960 см⁻¹) и ароматических фрагментов (3030-3090 см⁻¹). Масс-спектры веществ содержат пики молекулярных ионов их оснований. Спектры ПМР содержат сигналы протонов ароматической и алифатической частей молекул в соответствии с расчетным соотношением интенсивностей сигналов (табл. 1).

Результаты фармакологического изучения соединений III и ранее описанных нами арилпиперазинилбутилнафталимидов 5-7 [15] представлены в табл. 2.

Как следует из данных таблицы, нитрозамещенные соединения 1 и 2 вызывают резкое уменьшение числа наказуемых взятий воды животными в сравнении с соответствующими соединениями 5 и 6, не содержащими этой группы в нафталимидном ядре. При этом соединение 2 проявляет лишь слабо выраженную анксиолитическую активность, тогда как несодержащий нитрогруппу аналог 6 по активности превосходит буспирон. Введение бензоильной группы в положение 4 нафталимидного ядра не приводит к снижению количества наказуемых взятий воды (соединения 3 и 4 в сравнении с соединениями 7 и 6). Вещество 4 даже превосходит по активности аналог 6.

Заместители R¹ (NO₂, C₆H₅CO) увеличивают в различной степени полярность имидного фрагмента, но противоположным образом влияют на его липофильность: нитрогруппа снижает величину logP приблизительно на 0,4, тогда как бензоильная группа увеличивает величину logP приблизительно на 1,5. В целом полученные данные относительно связи структуры и свойств не противоречат представлениям о влиянии как полярных, так и гидрофобных характеристик имидного фрагмента соединений I на их свойства.

Из литературы известно, что производные 1-арилпиперазина буспирон, ипсапирон и др. проявляют антидепрессивные свойства в опытах на мышах и крысах по тесту форсированного плавания Порсолта, и этот эффект опосредован их связыванием с серотониновыми рецепторами подтипов 5-HT_{1A} и 5-HT_{1B} ЦНС [17].

Проведенные исследования показали, что соединения, которые проявляли самую высокую анксиолитическую активность (4, 6), обладали также антидепрессивным эффектом и на 20-24%, соответственно снижали время иммобилизации мышей в тесте форсированного плавания Порсолта. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, изучавших антидепрессивные и анксиолитические свойства лигандов 5-HT_{1A} рецепторов [2].

Соединения (1-7) проявили выраженный седативный эффект, который оценивали в "открытом поле" в дозе 10 мг/кг по сравнению с буспироном. По-видимому, это связано с влиянием этих веществ на дофаминергическую систему, что характерно для буспирона и его аналогов [17]. Все изученные соединения обладали низкой токсичностью в опытах на мышах при внутрибрюшинном введении, их LD₅₀ ≥ 400 мг/кг.

Экспериментальная химическая часть

Индивидуальность веществ контролировали методом ТСХ на пластинах "Silufol UV 254" в системе элюентов бутанол:уксусная кислота:вода (2:1:1), проявители — УФ-свет и пары йода.

Таблица 1

1-Арил-4-[(нафталимидо)бутил]пиперазины (III)

| № соед. | R ¹ | R ² | R ³ | X | Тпл., °С (растворитель) | Выход, % | M ⁺ | Спектры ПМР, хим. сдвиги |
|------------|----------------------------------|-----------------|----------------|----|----------------------------|-------------|----------------|--|
| 1 | NO ₂ | H | h | Cl | 218-220 | 31 | 458 | 1.6 м (2H, CH ₂ CH ₂ $\overset{4}{\text{CH}_2}$ CH ₂); 1.77 м (2H, CH ₂ $\overset{4}{\text{CH}_2}$ CH ₂ CH ₂); 2.46 м (2H, CH ₂ -N ⁴); 2.60 м (4H, CH ₂ -N ⁴ $\overset{4}{\text{CH}_2}$); 3.09 м (4H, $\overset{1}{\text{CH}_2}$ -N ¹); 4.20 тр (2H, $\overset{-\text{CO}}{\text{N}}-\text{CH}_2$); 6.81-7.27 м (5H), 8.08 м (1H), 8.52-8.70 м (4H) - ароматические протоны; 9.46 с (1H, $\overset{1}{\text{H}}$) |
| 2 | NO ₂ | H | Cl | Br | 235-240 | 38 | 492 | 1.64 м (2H, CH ₂ CH ₂ $\overset{4}{\text{CH}_2}$ CH ₂); 1.77 м (2H, CH ₂ $\overset{4}{\text{CH}_2}$ CH ₂ CH ₂); 2.46 м (2H, CH ₂ -N ⁴); 2.60 м (4H, CH ₂ -N ⁴ $\overset{4}{\text{CH}_2}$); 3.09 м (4H, $\overset{1}{\text{CH}_2}$ -N ¹); 4.22 тр (2H, $\overset{-\text{CO}}{\text{N}}-\text{CH}_2$); 7.00 д (2H), 7.18 д (2H), 8.02 д (2H), 8.40 м (3H) - ароматические протоны |
| 3 | C ₆ H ₅ CO | CH ₃ | H | Br | 218-220 | 42 | 531 | 1.76 уш. с (4H, CH ₂ CH ₂ $\overset{4}{\text{CH}_2}$ CH ₂); 2.28 с (3H, CH ₃); 3.04 уш. с (6H, CH ₂ -N ⁴ $\overset{4}{\text{CH}_2}$); 3.35 ум. с (4H, $\overset{1}{\text{CH}_2}$ -N ¹); 4.15 уш. (2H, $\overset{-\text{CO}}{\text{N}}-\text{CH}_2$); 7.00-7.20 м (4H), 7.60 м (2H), 7.81 м (3H), 7.96 м (2H), 8.27 д (1H), 8.59 д (2H) - ароматические протоны; 9.62 с (1H, $\overset{1}{\text{H}}$) |
| 4 | C ₆ H ₅ CO | H | Cl | Br | 248-250 | 63 | 551 | 1.65 м (2H, CH ₂ CH ₂ $\overset{4}{\text{CH}_2}$ CH ₂); 1.70 м (2H, CH ₂ $\overset{4}{\text{CH}_2}$ CH ₂ CH ₂); 2.45 м (2H, CH ₂ -N ⁴); 2.92 м (4H, CH ₂ -N ⁴ $\overset{4}{\text{CH}_2}$); 3.04 уш. с (4H, $\overset{1}{\text{CH}_2}$ -N ¹); 4.15 тр (2H, $\overset{\text{CO}}{\text{N}}-\text{CH}_2$); 7.10 м (4H), 7.60 м (2H), 7.81 м (3H), 7.96 м (2H), 8.27 д (1H), 8.59 тр (2H) - ароматические протоны; 9.82 с (1H, $\overset{1}{\text{H}}$) |

ИК-спектры записаны на спектрофотометре "Specord IR 75" в таблетках KBr. Масс-спектры записаны на масс-спектрометре MX-1321, ионизирующее напряжение — 70 эВ, температура камеры ионизации — 200°С. Спектры ¹H ЯМР записаны на приборе Varian WXP-300 с рабочей частотой 299,95 МГц в растворе ДМСО-d₆, внутренний стандарт ТМС.

4-Нитронафталимидобутилбромид

2 г (0,008 Моль) 4-нитронафталимида, 20 г сухого растертого в порошок поташа и 4,3 г (0,02 Моль) 1,4-дибромбутана в 50 мл ацетона кипятили 24 часа. Горячую смесь фильтровали, осадок промывали горячим ацетоном. Фильтрат упаривали в вакууме, а остаток кристаллизовали из петролейного эфира (40-60°С). Получали 1,8 г (60%) 4-нитронафталимидобутилбромида, Тпл. — 130-132°С.

Аналогично из 4-бензоилнафталимида получали 4-бензоилнафталимидобутилбромид. Выход — 66%, Тпл. — 120-122°С.

1-Фенил-4-[4-(4-нитро-1,8-нафталимидо)бутил]пиперазин (1)

Смесь 0,8 г (0,0024 Моль) 4-нитро-N-бромбутил-1,8-нафталимида, 0,39 г (0,0024 Моль) 1-фе-

нилпиперазина и 0,7 г (0,0048 Моль) безводного поташа кипятили 24 часа в изопропиловом спирте. Горячую реакционную среду отделяли от поташа, который промывали горячим изопропанолом. Спиртовый раствор кипятили с активированным углем. Спирт отгоняли, остаток растворяли в ацетоне и подкисляли раствором HCl в этаноле. Выпавший осадок перекристаллизовывали из изопропилового спирта. Выход — 0,44 г (31%), Тпл. — 218-220°С.

1-(о-Толлил)-4-[4-(4-бензоил-1,8-нафталимидо)бутил]пиперазин (3)

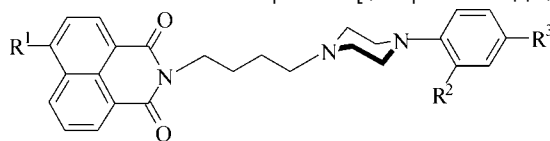
Смесь 0,6 г (0,0014 Моль) 4-бензоил-N-бромбутил-1,8-нафталимида и 0,25 г (0,0014 Моль) 1-(о-толил)-пиперазина в 5 мл бутанола кипятили 48 часов. Охлаждали, выпавший осадок отфильтровывали, промывали ацетоном, эфиром и кристаллизовали из изопропилового спирта. Выход — 0,36 г (42%), Тпл. — 218-220°С. Аналогично получали соединения 2 и 4.

Экспериментальная фармакологическая часть

Фармакологическое изучение веществ проведено на белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г и мышах-самцах массой 18-20 г.

Таблица 2

Нейрофармакологические свойства 1-арил-4-[(нафталимидо)бутил]пиперазинов



| № соед. | R ¹ | R ² | R ³ | X | Количество наказуемых взятый воды | Время иммобилизации (%) | Общая двигательная активность |
|----------|----------------------------------|-----------------|----------------|-----|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| 1 | NO ₂ | H | H | Cl | 7,4±3* | 108 | 16,1±2,2* |
| 2 | NO ₂ | H | Cl | Br | 23,4±4,1* | 112 | 14,2±1,8* |
| 3 | C ₆ H ₅ CO | CH ₃ | H | Br | 18,4±4,3 | 104,6 | 10,0±1,5* |
| 4 | C ₆ H ₅ CO | H | Cl | Br | 95,6±12,6** | 75,5 | 9,2±1,2* |
| 5 | H | H | H | *** | 19,4±4,1 | 117 | 13,6±1,7* |
| 6 | H | H | Cl | Br | 76,5±5* | 80,2 | 10,6±1,7* |
| 7 | H | CH ₃ | H | *** | 13,5±1,01 | 95,7 | 10,2±1,2* |
| Буспирон | - | - | - | | 50,2±4,9* | 78 | 17,4±4* |
| Контроль | - | - | - | | 14,8±1,3 | 100 | 24,5±3,2 |

* - при P ≤ 0,05 по сравнению с контролем,

** - при P ≤ 0,05 по сравнению с буспионом,

*** - соединения 5 и 7 - основания.

Анксиолитические свойства изучали на модели “конфликтной ситуации” [18] при столкновении питьевого и оборонительного рефлексов в момент потребления воды из поилки. Критерием оценки анксиолитического эффекта было увеличение числа актов потребления воды животными, несмотря на “наказующую” стимуляцию — ноцицептивное (электроболевое) раздражение. Антидепрессивную активность оценивали по методу форсированного плавания, который широко используется для скрининга как типичных, так и атипичных антидепрессантов. Этот метод предназначен для создания стрессового состояния у мышей путем принудительного плавания. Влияние препарата оценивали по сокращению времени позы иммобилизации животных, находящихся в воде по сравнению с контролем [19].

Для оценки двигательной активности использовали методику “открытое поле” [18].

Токсичность соединений изучали при постоянной температуре окружающей среды на инди-

видуально содержащихся животных. Оценку результатов проводили через 24 часа после введения веществ [20].

Исследуемые вещества и буспирон (буспар, “Bristol Mayers” США) вводили по 10 мг/кг внутривенно.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критериев Стьюдента [21].

Выводы

1. На основе полученных данных подтвержден ранее сделанный вывод о влиянии полярных и гидрофобных свойств имидного фрагмента производных арилпиперазинов на их фармакологические свойства.

2. Показана перспективность поиска эффективных анксиолитиков в ряду арилпиперазинов, содержащих в качестве терминального фрагмента остаток замещенных нафталимидов.

Литература

1. Андронати С.А., Макан С.Ю. Азотсодержащие гетероциклические соединения — лиганды серотониновых рецепторов. Азотистые гетероциклы и алкалоиды. / Ред. В.Г.Карцев, Г.А.Толстикова. — М.: Иридиум-пресс, 2001. — С. 20-30.
2. Chustecka Z. Richmond. — UK: PJB Publications Ltd, 1988. — P. 1-128.
3. New J.S. // Review. — 1990. — Vol. 10, №3. — P. 338.
4. Харин Н.А., Комиссаров И.В., Комиссарова Р.А. // Фармакол. и токсикол. — 1991. — Т. 54, №3. — С. 70-75.
5. Glitz D.A., Rohl R. // Drugs. — 1991. — Vol. 41, №1. — P. 11-18.
6. Андронати С.А., Варавва В.М., Соболева С.Г. и др. // Докл. АН СССР. — 1992. — Т. 327, №3. — С. 341-344.
7. Андронати С.А., Симонов Ю.А., Чумаков Ю.М. и др. // ЖОХ. — 1996. — Т. 66, №10. — С. 1736-1746.
8. Андронати С.А., Колодеев Г.Е., Макан С.Ю. и др. // Докл. АН Украины. — 1994. — №8. — С. 126-131.
9. Сава В.М., Макан С.Ю., Колодеев Г.Е., Андронати С.А. // Вісник фармації. — 1998. — №3-4. — С. 54-57.
10. Андронати С.А., Симонов Ю.А., Дворкин А.А. и др. // Докл. АН Украины. — 1993. — №12. — С. 136-140.
11. Гданец М., Симонов Ю.А., Чумаков Ю.М. // ЖОХ. — 1997. — Т. 67, №11. — С. 147-153.

12. Бондарев М.Л., Калюский А.В., Шапиро Ю.А., Андронати С.А. // *Укр. хим. журн.* — 1991. — Т. 57, №9. — С. 986-991.
13. *Andronati S.A., Voronina T.A., Sava V.M. et al. Molecular recognition and inclusion / Ed A.W.Coleman. — Kluwer Academic publishers, Netherlands, 1998. — P. 245-249.*
14. Карасева Т.Л., Лобасюк Б.А., Соболева С.Г. // *Нейрофизиол.* — 2000. — Т. 37, №1. — С. 11-15.
15. Андронати С.А., Воронина Т.А., Карасева Т.Л. и др. // *Докл. АН Украины.* — 2004. — №4. — С. 169-174.
16. Devid D.J.P., Hascoet M.V.M., Colombel M.C. et al. // *Psychopharm.* — 2001. — Vol. 153. — P. 443-449.
17. Молодавкин Г.М., Воронина Т.А. // *Эксперим. и клин. фармакол.* — 1997. — Т. 60, №2. — С. 3-6.
18. Вихляев Ю.И., Воронина Т.А. *Характеристика фармакологических свойств феназепам. Феназепам.* — К., 1982. — С. 87-100.
19. *Offel M., Lattmann P., Singh H. et al. // Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* — 2006. — Vol. 339. — P. 163-173.
20. Вихляев Ю.И., Воронина Т.А. *Фармакология феназепам. Новые лекарственные препараты.* — Экспресс-информация ВНИИМИ. — 1978. — С. 2-6.
21. Лакин Г.Ф. *Биометрия.* — М.: Высш. шк., 1990. — С. 49.

Надійшла до редакції 15.10.2007 р.

УДК 547.856.1:577.15]:539.26

[(2-R-3H-ХІАЗОЛІН-4-ІЛІДЕН)ГІДРАЗОНО]- α-(β-, γ-)КАРБОНОВІ КИСЛОТИ ТА ЇХ ЕСТЕРИ В РЕАКЦІЇ АМІНОЛІЗУ

С.І.Коваленко, О.Ю.Воскобойник, О.В.Карпенко,
І.В.Омельченко*, О.В.Шишкін*, Н.О.Нестерова, Д.Ю.Скоріна

Запорізький державний медичний університет
69035, м. Запоріжжя, вул. Маяковського, 26. E-mail: kovalenkosergiy@gmail.com

* НТК “Інститут монокристалів” НАН України

Ключові слова: [(2-R-3H-хіназолін-4-іліден)гідразоно]-α-(β-, γ-)карбонові кислоти; функціональні похідні; геометрична ізомерія; [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназоліни; перегрупування Діброта

Розроблені методи синтезу амідів [(2-R-3H-хіназолін-4-іліден)гідразоно]-α-(γ-)карбонових кислот амінолізом відповідних естерів або кислот. Показано, що [(2-R-3H-хіназолін-4-іліден)гідразоно]-α-(γ-)карбонові кислоти в умовах карбонілдіімідазольного синтезу з амінами утворюють відповідні аміді або [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназоліни. Напрямок перебігу реакції залежить від E-, Z-ізомерії відповідних гідразонокислот та електронного вкладу замісників у систему сопряження. [1,2,4]Триазино[2,3-с]хіназолінові системи утворюються в результаті рециклізаційної ізомеризації (перегрупування Діброта) відповідних [4,3-с]-серій в умовах кислотного та основного каталізу.

[(2-R-3H-QUINAZOLINE-4-ILYDEN)HYDRAZONO]-(α-(β-, γ-)CARBOXYLIC ACIDS AND THEIR ESTERS IN THE AMONOLYSIS REACTION

S.I.Kovalenko, A.Yu.Voskoboynik, A.V.Karpenko, I.V.Omelchenko, O.V.Shishkin, N.A.Nesterova, D.Yu.Skorina

The methods of the preparative synthesis of [(2-R-3H-quinazoline-4-ilyden)hydrasono]-α-(γ)carboxylic acids by the amonolysis reaction of the corresponding esters or acids have been developed. [(2-R-3H-quinazoline-4-ilyden)hydrasono]-α-(γ) carboxylic acids in the conditions of carbonyldiimidazolic synthesis with amines have been shown to form the corresponding amides or [1,2,4]triazino[2,3-c]quinazoline systems. The direction of the reaction proceeding depends on E-, Z-isomerism and the electronic contribution of substituents in the conjugation system. The [1,2,4]triazino[2,3-c]quinazoline systems are formed as a result of the recyclisating izomerisation (Dimrot's rearrangement) of the corresponding [4,3-c]-series in the conditions of acid and basic catalysis.

[(2-R-3H-ХІАЗОЛІН-4-ИЛИДЕН)ГИДРАЗОНО]-(α-(β-,γ-)КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ И ИХ ЭФИРЫ В РЕАКЦИИ АМИНОЛИЗА

С.И.Коваленко, А.Ю.Воскобойник, А.В.Карпенко, И.В.Омельченко, О.В.Шишкин, Н.А.Нестерова, Д.Ю.Скорина

Разработаны методы синтеза амидов [(2-R-3H-хинозолин-4-илиден)гидразоно]- α-(γ)-карбонových кислот аминолизом соответствующих эфиров или кислот. Показано, что [(2-R-3H-хинозолин-4-илиден)гидразоно]- α-(γ)-карбонových кислоты в условиях карбонилдиимидазольного синтеза с аминами образуются соответствующие амиды или [1,2,4]триазино[2,3-с]хинозолины. Направление протекания реакции зависит от E-, Z-изомерии гидразонокислот и электронного вклада заместителей в систему сопряжения. [1,2,4]Триазино[2,3-с]хинозолиновые системы образуются в результате рециклизационной изомеризации (перегруппировка Димрота) соответствующих [4,3-с]-серий в условиях кислотного и основного катализа.

У медичній практиці знаходять широке застосування аміді арил(гетерил)карбонових кислот як лікарські засоби з різнобічною біологічною дією на організм [3]. Класичні методи синтезу яких засновані на взаємодії складних естерів, хлорангідридів та ангідридів кислот з амоніаком та його заміщеними. Останнім часом у препаратив-

ному синтезі амідів широко використовують методи активації карбоксильної групи кислот з наступним амінолізом утворених інтермедіатів. Різні підходи до методів синтезу цих сполук в основному залежать від електрофільності вихідних речовин і утворених продуктів реакції. З врахуванням зазначеного метою роботи була розробка препара-

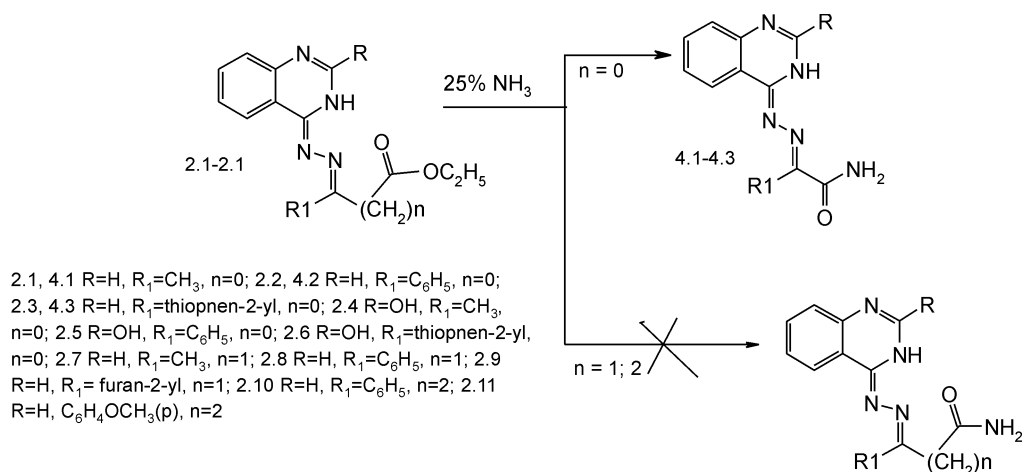


Схема 1

тивних методів синтезу амідів [(2-R-3H-хіназолін-4-іліден)гідразоно]-α-(β-, γ-)карбонових кислот амінолізом відповідних кислот та їх естерів.

Як вихідні сполуки в амонолізі нами використані естери [(2-R-3H-хіназолін-4-іліден)гідразоно]-α-(β-, γ-)карбонових кислот (2.1-2.11), одержані за відомими методами [1, 6], а саме конденсацією [(3H)-хіназолін-4-іліден]гідразину (1.1) та його оксопохідного (1.2) з естерами α-(β-, γ-)кетокарбонових кислот. Встановлено, що взаємодія естерів 2.1-2.3 з 25% розчином амоніаку при кімнатній температурі протягом 48 год (у випадку 2.2 — 24 год) приводить до утворення відповідних амідів 3.1-3.3 (схема 1). Подовження вуглеводневого ланцюга на метиленову (2.7-2.9) та етиленову (2.10, 2.11) групу у зазначених ефірів призводить до негативного результату амонолізу. Амоноліз також не мав місця для естерів 2-R-2-{[2-оксо-2,3-дигідро-1H-хіназолін-4-іліден]гідразоно}оцтових кислот (2.4-2.6). Зниження реакційної здатності естерів 2.4-2.11 у даній реакції можна пояснити електронодонорним впливом як хіназолінового циклу, так і аліфатичного ланцюга на електрофільність карбоксильної групи. Використання у зазначеній реакції амінів також не привело до бажаного результату.

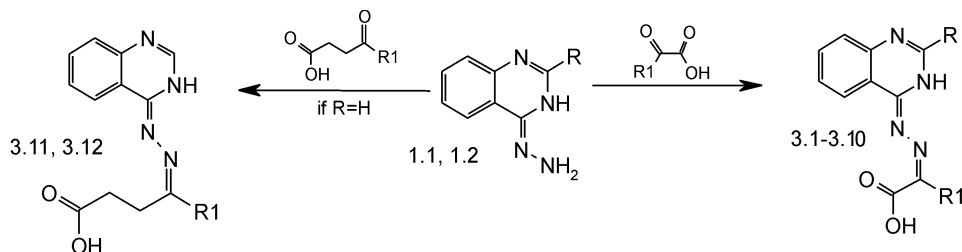
Враховуючи зазначене, нами була проведена спроба синтезу амідів шляхом активації карбоксильної групи кислот 3.1-3.12. Кислоти 3.1-3.12

були синтезовані за відомою методикою [5] шляхом взаємодії [(3H)-хіназолін-4-іліден]гідразину (1.1) та його оксопохідного (1.2) з α-(γ-)кетокарбоновими кислотами (схема 2).

Активацію карбоксильної групи кислот 3.1-3.12 проводили карбонілдіімідазолом у безводному діоксані, в подальшому до утвореного імідазоліду кислоти додавали морфолін. Результати досліджень показали, що гідразонокислоти 3.5, 3.10 у вищевказаних умовах утворюють аміді 4.4, 4.5, тоді як сполуки 3.2-3.4, 3.7-3.9 циклізуються у відповідні триазинохіназолінові системи 5.1-5.6 (схема 3). Така гетероциклізація для гідразонокислот (3.2-3.4, 3.7-3.9) спостерігається і без додавання морфоліну. Слід відмітити, що у випадку кислот 3.1, 3.6 у результаті реакції взагалі виділені вихідні речовини.

Що стосується 4-арил-4-{{(3H)-хіназолін-4-іліден}гідразоно}бутанових кислот (3.11, 3.12), то вони також в умовах карбонілдіімідазольного синтезу утворюють відповідні морфоліди 4.6, 4.7 (схема 4).

Неоднозначна направленість перебігу реакції амонолізу, на нашу думку, може бути пов'язана з різною конфігурацією гідразонокислот та електронними ефектами замісників. Вірогідно, у E-ізомерів (3.1, 3.5, 3.6, 3.10) замісник з електронодонорним ефектом, по-перше, приводить до зниження електрофільності карбоксильної групи, по-друге, зазначена функціональна група стерич-



- 3.1 R=H, R₁=CH₃; 3.2 R=H, R₁=C₆H₅; 3.3 R=H, R₁=(n)-CH₂C₆H₄; 3.4 R=H, R₁=(n)-CH₂OC₆H₄; 3.5 R=H, R₁=thiophen-2-yl;
 3.6 R=OH, R₁=CH₃; 3.7 R=OH, R₁=C₆H₅; 3.8 R=OH, R₁=(n)-CH₂C₆H₄; 3.9 R=OH, R₁=(n)-CH₂OC₆H₄; 3.10 R=OH, R₁=thiophen-2-yl;
 3.11 R=H, R₁=C₆H₅; 3.12 R₁=(n)-CH₂OC₆H₄

Схема 2

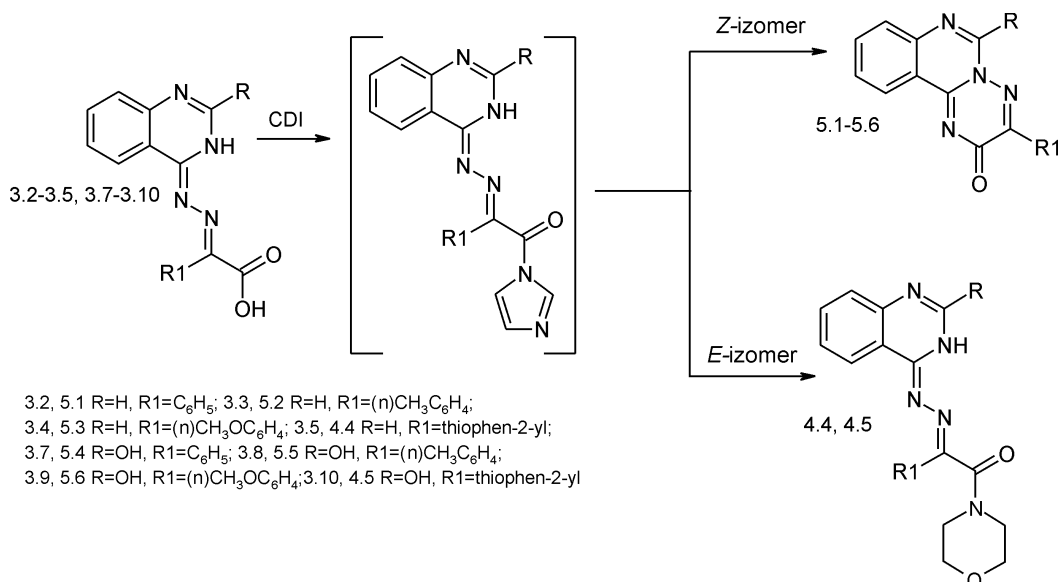


Схема 3

но недоступна для атаки атомом N(3) хіназолінового циклу, і в даному випадку утворюються відповідні амідні (4.4, 4.5). Для Z-ізомерів (3.2-3.4, 3.7-3.9) електроакцепторний замісник підвищує електрофільність карбоксильної групи, і її просторова наближеність до N(3)-атома приводить до циклізації у відповідні триазинохіназоліни (5.1-5.6).

Для обґрунтування даного ствердження нами детально проаналізовані спектральні характеристики відповідних кислот (3.1-3.11). Так, хромато-мас-спектральне дослідження сполук 3.1-3.12 в умовах "м'якої" іонізації (APCI) дозволило в кожному випадку зареєструвати пік квазімолекулярного іона [MH]⁺. Винятком є сполуки 3.3, 3.7, 3.8, 3.9 у спектрі яких спостерігається 2 піки з однаковою молекулярною масою, що вказує на існування суміші E-, Z-ізомерів (табл. 2). На існування сполук 3.1-3.12 у вигляді геометричних ізомерів вказують також сильнополюльні хімічні зсуви протонів H-2 (на 0,5-0,27 м.ч.) та H-5 (на 0,56-0,22 м.ч.) для Z-ізомерів (3.2-3.4) по відношенню до E-ізомерів (3.1, 3.5), що узгоджується з даними рентгеноструктурного аналізу та ¹H ЯМР в ДМСО-d₆ для гідрозонів 4-гідразінохіназоліну [4]. На нашу

думку, зазначені хімічні зсуви для H-2 у Z-ізомерів можуть пояснюватися утворенням водневого зв'язку за рахунок зближення карбоксильної групи та протону екзоциклічного атома N-3 хіназоліну та внутрішньомолекулярними атрактивними взаємодіями C(5)-H(5)...COOH, що позначається на константах спин-спинової взаємодії H-5 (табл. 2). У спектрах сполуки 3.5 спостерігається подвоєння та значний зсув сигналів протонів H-2 та H-5 хіназолінової системи у слабкопольну частину спектра, що підтверджує їх існування у вигляді суміші E-, Z-ізомерів: 96:4. Стабільність E-ізомера у зазначеної сполуки може бути пояснена наявністю електрононадлишкового гетероциклу. Що стосується сполуки 3.10, то за рахунок введення електродонорного замісника спостерігається рівнозначна суміш (50:50) ізомерів, що позначається також на хімічному зсуві H-5 (табл. 2). Аналіз мас-спектрів відповідних кислот (3.1-3.13) показав, що для сполук 3.2, 3.5 та 3.6 характеристичними є фрагментарні іони з m/z 145 та 171, а для оксопідних 3.10, 3.11 з m/z 161 та 187. Беручи до уваги особливості виконання експерименту, а саме прямий метод введення зразка, нами було

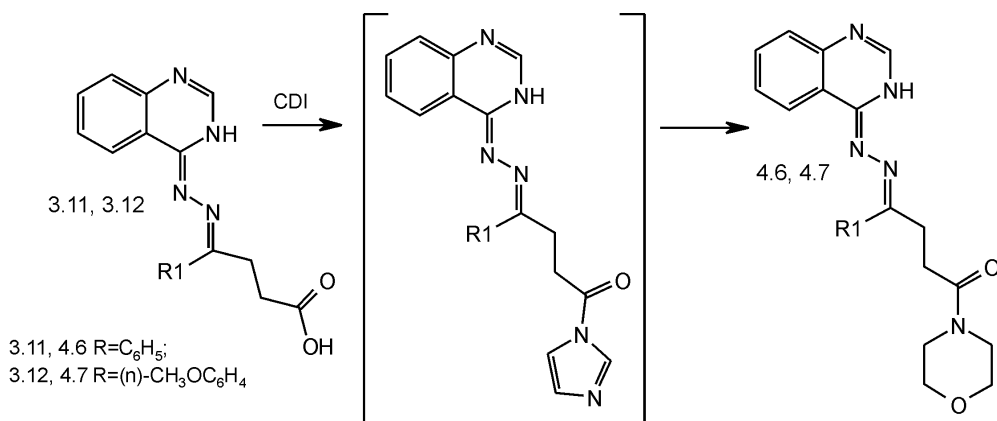


Схема 4

Таблиця 1

Фізико-хімічні властивості синтезованих сполук

| № сполуки | R | R1 | Т. пл., °С | Вихід, % | Знайдено, N (%) | Емпірична формула* | Вираховано, N (%) |
|-----------|----|--|------------|----------|-----------------|---|-------------------|
| 3.1 | H | CH ₃ | 206-208 | 82,6 | 24,38 | C ₁₁ H ₁₀ N ₄ O ₂ | 24,34 |
| 3.2 | H | C ₆ H ₅ | 208-210 | 92,5 | 19,21 | C ₁₆ H ₁₂ N ₄ O ₂ | 19,17 |
| 3.3 | H | p-CH ₃ C ₆ H ₄ | 194-196 | 88,1 | 18,32 | C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₂ | 18,29 |
| 3.4 | H | p-CH ₃ OC ₆ H ₄ | 184-186 | 86,8 | 17,35 | C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₃ | 17,38 |
| 3.5 | H | тіофен-2-іл | 166-168 | 80,5 | 18,75 | C ₁₄ H ₁₀ N ₄ O ₂ S | 18,78 |
| 3.6 | OH | CH ₃ | 252-254 | 77,2 | 22,71 | C ₁₁ H ₁₀ N ₄ O ₃ | 22,75 |
| 3.7 | OH | C ₆ H ₅ | 280-282 | 77,6 | 18,21 | C ₁₆ H ₁₂ N ₄ O ₃ | 18,17 |
| 3.8 | OH | p-CH ₃ C ₆ H ₄ | 266-268 | 87,0 | 17,42 | C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₃ | 17,38 |
| 3.9 | OH | p-CH ₃ OC ₆ H ₄ | 280-282 | 82,8 | 16,61 | C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₄ | 16,56 |
| 3.10 | OH | тіофен-2-іл | 206-208 | 85,9 | 17,84 | C ₁₄ H ₁₀ N ₄ O ₃ S | 17,82 |
| 3.11 | H | C ₆ H ₅ | 196-198 | 62,5 | 17,52 | C ₁₈ H ₁₆ N ₄ O ₂ | 17,49 |
| 3.12 | H | p-CH ₃ OC ₆ H ₄ | 228-230 | 77,7 | 15,93 | C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃ | 15,99 |
| 4.1 | H | CH ₃ | 212-214 | 65,2 | 30,58 | C ₁₁ H ₁₁ N ₅ O | 30,55 |
| 4.2 | H | C ₆ H ₅ | 274-276 | 98,2 | 24,09 | C ₁₆ H ₁₃ N ₅ O | 24,04 |
| 4.3 | H | тіофен-2-іл | 248-250 | 54,4 | 23,74 | C ₁₄ H ₁₁ N ₅ OS | 23,55 |
| 4.4 | H | тіофен-2-іл | 186-188 | 80,64 | 19,02 | C ₁₈ H ₁₇ N ₅ O ₂ S | 19,06 |
| 4.5 | OH | тіофен-2-іл | >320 | 62,9 | 18,36 | C ₁₈ H ₁₇ N ₅ O ₃ S | 18,32 |
| 4.6 | H | C ₆ H ₅ | 168-170 | 49,64 | 18,01 | C ₂₂ H ₂₃ N ₅ O ₂ | 17,98 |
| 4.7 | H | p-CH ₃ OC ₆ H ₄ | 202-204 | 71,51 | 16,74 | C ₂₃ H ₂₅ N ₅ O ₃ | 16,70 |
| 5.1 | H | C ₆ H ₅ | 246-248 | 65,3 | 20,43 | C ₁₆ H ₁₀ N ₄ O | 20,43 |
| 5.2 | H | p-CH ₃ C ₆ H ₄ | 250-252 | 52,1 | 19,43 | C ₁₇ H ₁₂ N ₄ O | 19,43 5.3 |
| 5.4 | OH | C ₆ H ₅ | >320 | 91,9 | 19,30 | C ₁₆ H ₁₀ N ₄ O ₂ | 19,30 |
| 5.5 | OH | p-CH ₃ C ₆ H ₄ | >320 | 99,5 | 18,41 | C ₁₇ H ₁₂ N ₄ O ₂ | 18,41 |
| 5.6 | OH | p-CH ₃ OC ₆ H ₄ | >320 | 99,5 | 17,49 | C ₁₇ H ₁₂ N ₄ O ₃ | 17,49 |

Примітка: * - сполуки 3.1-3.10 за фізико-хімічними властивостями відповідають даним літератури [5].

зроблено припущення, що за даних умов сполуки зазнають часткової внутрішньомолекулярної циклізації, і як наслідок, до аналізатора надходять фрагментарні іони деструкції як гідразонокислот (m/z 145 та 161), так і триазинохіназолінів (m/z 171 та 187) [6]. Важливо відмітити, що для сполук 3.5 та 3.10 останні мають найбільшу інтенсивність, а для сполук 3.2, 3.6, 3.11 максимальним є пік, який відповідає деструкції гідразонокислот (m/z 145, 161). Вищенаведені дані також вказують на можливість існування гідразонокислот у вигляді E- (3.1, 3.5, 3.6, 3.10) та Z- (3.2-3.4, 3.7-3.9) ізомерів.

Хроматомас-спектральне дослідження сполук 4.1-4.7 в умовах "м'якої" іонізації (APCI) дозволило в кожному випадку зареєструвати пік квазімолекулярного іона $[MH]^+$. 1H ЯМР-спектри амідів 4.1, 4.2, 4.3 характеризуються сигналами магнітно-нееквівалентних протонів амідної групи, які спостерігаються як однопротонні синглети при 8.45-8.09 та 7.52-7.20 м.ч., що однозначно підтверджує будову даних речовин. Що стосується морфолідів 4.5, 4.6, то в 1H ЯМР-спектрі для них

спостерігаються аліфатичні сигнали морфолінового фрагменту при 3,71-2,99 м.ч. (табл. 2).

Для доведення будови сполук 5.1-5.3, а саме гетероциклізації гідразонокислот 3.2-3.4 з наступним перегрупуванням Дімрота відповідних [4,3-с]-у [2,3-с]-ізомери нами були порівняні спектральні характеристики (1H ЯМР-, ^{13}C ЯМР-, мас-спектри) останніх з 3-R-2H-[1,2,4]-триазино[2,3-с]хіназолін-2-онами, які одержані з [(3H)-хіназолін-4-іліден]гідразину (1.1) та відповідних естерів в умовах кислотного каталізу [6]. Слід відмітити, що сполуки 5.1-5.3 за хімічними зсувами сигналів протону та вуглецю у спектрах повністю співпадають з останніми. Крім того, сполуки 5.1-5.3 мають подібний мас-розпад до відповідних [2,3-с]-ізомерів, а саме основний напрямок фрагментації молекулярних іонів пов'язаний з розривом зв'язків C(2)—C(3) та N(4)—N(5) та утворенням частки з m/z 171, що має найбільшу інтенсивність у спектрі. Все вищезазначене надає можливість їх характеризувати як відповідні [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолінові системи і підтверджує, що незалежно

Таблиця 2

Спектральні характеристики синтезованих сполук

| № сполуки | ¹ H ЯМР-спектр, δ (ppm) | [MH] ⁺ , m/z* |
|-----------|---|--------------------------|
| 3.1 | 12,00с (1H, 3-NH), 8,33д (1H, H-5, J=8,2), 8,13с (1H, H-2), 7,78т (1H, H-6), 7,62д (1H, H-8), 7,53т (1H, H-7), 2,26 (с., 3H, CH ₃) | 230 |
| 3.2 | 12,26с (1H, 3-NH), 8,23д (1H, H-5, J=7,6), 7,85с (1H, H-2), 7,63т (1H, H-6, J=6,8), 7,95-7,90с (2H, H-2, H-6 Ph), 7,50д (1H, H-8, J=8,2), 7,45-7,35м (4H, H-7 Quin, H-3, H-4, H-5 Ph) | 293 |
| 3.3 | 11,83с (1H, 3-NH), 8,13д (1H, H-5, J=7,7), 7,93с (1H, H-2), 7,84д (2H, H-2, H-6 Ph, J=8,1), 7,71т (1H, H-6, J=7,5), 7,55д (1H, H-8, J=7,7), 7,47т (1H, H-7, J=7,7), 7,34д (2H, H-3, H-5 Ph, J=7,9), 2,38с (3H, CH ₃) | 307 (50:50) |
| 3.4 | 11,81с (1H, 3-NH), 8,11д (1H, H-5, J=7,5), 7,91с (1H, H-2), 7,86д (2H, H-3, H-5 Ph, J=8,9), 7,69т (1H, H-6, J=7,9), 7,53д (1H, H-8, J=8,3), 7,46т (1H, H-7, J=7,7), 7,08д (2H, H-2, H-6 Ph, J=8,9), 3,85с (3H, OCH ₃) | 323 |
| 3.5 | 8,71/8,20с (1H, H-2), 8,47/7,91д (1H, H-5, J=8,9), 7,70т (1H, H-6, J=7,1), 7,75д (1H, H-3 Thiop), 7,65д (1H, H-8, J=2,5), 7,60-7,48м (2H, H-6 Quin, H-5 Thiop), 7,18т (1H, H-4 Thiop, J=4,4) | 299 (96:4) |
| 3.6 | 12,37с (1H, COOH); 11,40с (1H, 1-NH), 11,05с (1H, 3-NH), 8,18д (1H, H-5, J=8,2), 7,55т (1H, H-7, J=7,6), 7,16м (2H, H-6, H-8), 2,26с (3H, CH ₃) | 305 |
| 3.7 | 12,63с (1H, COOH), 11,56/10,85с (1H, 1-NH), 11,06/10,62с (1H, 3-NH), 8,03д (1H, H-4 Ph), 7,99д (2H, H-5, J=7,9), 7,51м (5H, H-6 Quin, H-2, H-3, H-5, H-6 Ph), 7,13м (2H, H-7, H-8) | 305 (80:20) |
| 3.8 | 12,66с (1H, COOH); 11,60/10,82с (1H, 1-NH), 11,09/10,59с (1H, 3-NH), 7,98д (1H, H-5, J=7,6), 7,91д (2H, H-3, H-5 Ph, J=8,4), 7,53т (1H, H-6, J=7,0), 7,44д (2H, H-3, H-5 Ph, J=8,0), 7,10м (2H, H-7, H-8), 2,35с (3H, CH ₃) | 309 (80:20) |
| 3.9 | 11,49с (1H, COOH); 11,42/10,77с (1H, 1-NH), 11,03/10,47с (1H, 3-NH), 7,98м (2H, H-5 Quin, H-3, H-5 Ph), 7,53т (1H, H-6, J=7,5), 7,15м (2H, H-7, H-8), 7,03д (2H, H-3, H-5 Ph), 3,84с (3H, OCH ₃) | 323 (50:50) |
| 3.10 | 11,63с (1H, COOH), 11,20с (1H, 1-NH), 10,94с (1H, 3-NH), 8,38д (1H, H-5 Thiop J=4,4), 7,93д (1H, H-3 Thiop, J=5,2), 7,80/7,49д (1H, H-5), 7,65/7,56т (1H, H-6, J=7,3), 7,31-7,11м (3H, H-7, H-8 Quin, H-4 Thiop) | 341 (50:50) |
| 3.11 | - | 321 |
| 3.12 | - | 352 |
| 4.1 | 11,99с. уш (1H, 3-NH), 8,26д (1H, H-5), 7,96д (1H, H-2), 7,70т (1H, H-6), 7,54д (1H, H-8), 7,46т (1H, H-7), 8,19; 7,25с (2H, NH ₂), 2,18с (3H, CH ₃) | 229 |
| 4.2 | 12,03с., уш (1H, 3-NH), 8,23д (1H, H-5), 8,02с (1H, H-3 Thiop), 8,06д (1H, H-2), 7,89т (1H, H-6), 7,75д (1H, H-8), 7,54-7,35м (6H, H-7 Quin, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6 Ph), 8,45; 7,52с (2H, NH ₂) | 292 |
| 4.3 | 12,19с., уш (1H, 3-NH), 8,49д (1H, H-5), 8,41д (1H, H-3 Thiop), 8,06д (1H, H-2), 7,79т (1H, H-6), 7,84д (1H, H-5 Thiop), 7,63д (1H, H-8), 7,58т (1H, H-8), 7,17т (1H, H-4 Thiop), 8,34; 7,48с (2H, NH ₂) | 298/299 |
| 4.4 | - | 368/370 |
| 4.5 | 8,34д (1H, H-5 Thiop), 8,15с (1H, H-3 Thiop), 7,90д (1H, H-5), 7,59т (1H, H-6), 7,36т (1H, H-7), 7,17т (1H, H-4 Thiop), 7,04т (1H, H-8), 3,71т (4H, -CH ₂ -O-CH ₂ -), 2,99т (4H, -CH ₂ -N-CH ₂ -) | 384/386 |
| 4.6 | 12,42с., уш (1H, 3-NH), 8,19д (1H, H-5), 8,06д (2H, H-2, H-6 Ph), 7,85с (1H, H-2), 7,62т (1H, H-6), 7,41м (5H, H-7, H-8, H-3, H-4, H-5 Ph), 3,51т (2H, -CH ₂ -CH ₂), 3,41т (2H, -CH ₂ -CH ₂), 3,12м (8H, -CH ₂ -O-CH ₂ -, -CH ₂ -N-CH ₂ -) | 390 |
| 4.7 | - | 420 |
| 5.1 | 9,09с (1H, H-6), 8,59дд (1H, H-11, ³ J=8,1, ⁴ J=0,8), 8,21д (2H, H ₂ , H ⁶ Ph, ³ J=8,2, ⁴ J=1,2), 8,05дт (1H, H-9, ³ J=8,2, ⁴ J=1,3), 7,95д (1H, H=8, J=8,0), 7,83дт (1H, H-10, ³ J=8,0, ⁴ J=0,8), 7,58м (3H, H-3, H-4, H-5 Ph) | 275 |
| 5.2 | 8,81с (1H, H-6), 8,67д (1H, H-11, J=8,1), 8,22д (2H, H ₂ , H ⁶ Ph, J=8,2), 7,97т (1H, H-9, J=8,0), 7,89д (1H, H-8, J=7,9), 7,77т (1H, H-10, J=7,8), 7,28д (2H, H-3, H-5 Ph, J=8,2), 2,46с (3H, CH ₃) | 289 |
| 5.3 | 9,06с (1H, H-6), 8,57д (H, H-11, J=7,8), 8,31д (2H, H ₂ , H ⁶ Ph, J=8,2), 8,03т (1H, H-9, J=7,8), 7,94д (1H, H-8, J=7,9), 7,81т (1H, H-10, J=7,8), 7,11д (2H, H-3, H-5 Ph, J=8,2), 3,85с (3H, CH ₃) | 305 |
| 5.4 | 12,37с (1H, 1-NH), 8,29д (1H, H-8, J=8,0), 7,75т (1H, H-9, J=7,4), 7,35т (1H, H-10, J=7,8), 7,29д (1H, H-11, J=8,0), 8,19 (д. 2H, J=7,4, H ₂ , H ⁶ Ph), 7,55 (м. 3H, H ₃ , H ₄ , H ⁵ Ph) | 291 |
| 5.5 | 12,36с (1H, 1-NH), 8,28д (1H, H-8, J=7,8), 7,76т (1H, H-9, J=7,8), 7,35т (1H, H-10), 7,30д (1H, H-11, J=8,0), 8,13д (2H, H-2, H-6 Ph, J=8,2), 7,35д (2H, H-3, H-5 Ph, J=8,0), 2,39с (3H, CH ₃) | 305 |
| 5.6 | 12,35с (1H, 1-NH), 8,27м (3H, H-8 Quin, H-2, H-6 Ph), 7,75т (1H, H-9, J=7,4), 7,35т (1H, H-10, J=7,4), 7,30д (1H, H-11, J=8,2), 7,07д (2H, H-3, H-5 Ph, J=8,9), 3,84с (3H, OCH ₃) | 321 |

Примітка: * - співвідношення E/Z-ізомерів.

від методів одержання (кислотний або основний каталіз) дана гетероциклізація супроводжується рециклізаційною ізомеризацією по типу перегрупування Діброта [6, 7, 10].

Мас-спектр (ЕУ) сполуки 5.4 характеризується низькоінтенсивним піком молекулярного іона. Пік уламкового іона з m/z 187, який має найбільшу інтенсивність у спектрі, виникає за рахунок роз-

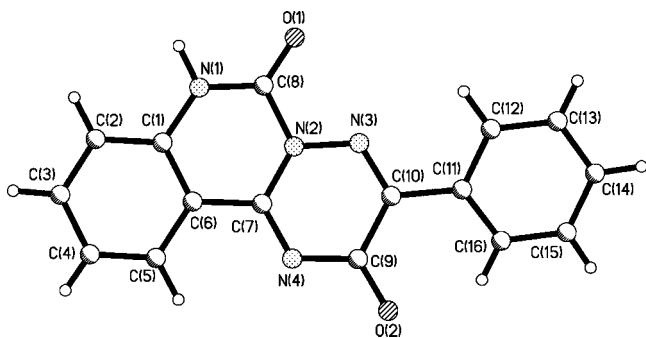


Рис. 1. Будова 3-феніл-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2,6(7H)-діону (5.4) та схема нумерації атомів.

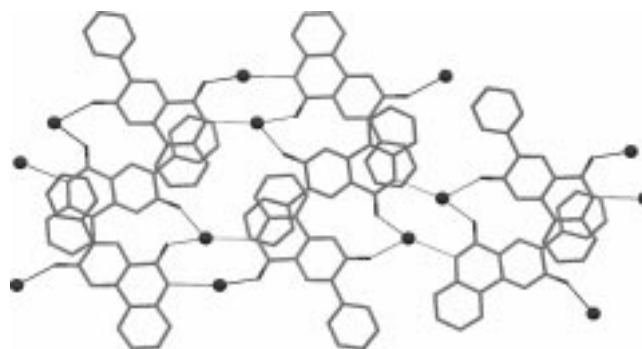


Рис. 2. Упаковка молекул у кристалі сполуки 5.4.

риву зв'язків C(2)—C(3) та N(3)—N(4). Спектри ¹H ЯМР синтезованих сполук 5.4-5.6 характеризуються класичною розкладкою протонів триазинохіназоліну і значним діаманітним зсувом цих же протонів. Очевидно, що наведені спектральні дані не дозволяють повністю диференціювати, які ізомерні системи ([4,3-с] або [2,3-с]) утворились. З урахуванням того, що зазначені системи нам не вдалося синтезувати альтернативним методом синтезу [1], в подальшому проведено рентгеноструктурне дослідження сполуки 5.4 (рис. 1, 2). Сполука 5.4 існує у вигляді кристалогідрату складу 1:1. Конденсований поліциклічний фрагмент практично плоский (середньоквадратичні відхилення атомів не перевищують 0.03 Å). Фенільний замісник незначно розвернутий відносно цієї площини (торсійний кут C(9)—C(10)—C(11)—C(16) 18.9(2)°, недивлячись на наявність слабкого внутрішньомолекулярного водневого зв'язку C(16)—H(16)...O(2) (H...O 2.22 Å, C—H...O 125°) та атрактивної взаємодії N(3)...H(12) 2.43 Å (сума ван-дер-ваальсових радіусів [9] 2.67 Å), яку не можна трактувати як водневий зв'язок через незначну величину кута C—H...N (99°). У молекулі також присутній укорочений контакт N(4)...H(5) 2.53 Å (2.67 Å), який обумовлений плоскою геометрією поліциклічного фрагменту. В піримідиновому циклі зв'язки N(2)—C(8) 1.434(1)Å і C(1)—N(1) 1.386(2) Å подовжені (середнє значення [2] 1.352 Å і 1.353 Å відповідно), а C(6)—C(7) 1.447(2) Å укорочена (середнє

значення 1.476 Å для спряжених систем), що, вірогідно, вказує на переважне супряження бензольного кільця C(1)...C(6) з триазиноновим у порівнянні з амідною групою піримідинового фрагменту.

У кристалі молекули утворюються двовимірні шари (рис. 2), в яких молекули зв'язані за рахунок водневих зв'язків за участю молекули води N(1)—H(1N)...O(1W) (H...O 1.81 Å, N—H...O 172°), O(1W)—H(2W)...O'(2) [x-1,-y+3/2,z-1/2] (H...O' 1.97 Å, O—H...O' 171°) та O(1W)—H(1W)...O'(1) [-x,-y+2,-z] (H...O' 2.06 Å, O—H...O' 167°), а також за рахунок стекинг-взаємодії поміж π-системою трициклічного фрагменту і фенільним замісником сусідньої у кристалі молекули, яка зв'язана з опорною операцією симетрії [1-x, -0.5+y, 0.5-z] (центр зв'язку C(12)—C(13) розташований над центром центрального кільця трициклу на відстані 3.31 Å, кут поміж площинами фрагментів складає 14°). Шари зв'язані між собою також за рахунок стекинг-взаємодій між молекулами, зв'язаними операцією симетрії [1-x, 2-y, -z] (атом N(1) розташований над центром бензольного кільця на відстані 3.36 Å, кут поміж площинами π-систем складає 15°).

Отже встановлено, що відповідні 2-R-2-[2-оксо-(2,3-дигідро-1H-хіназолін-4-іліден)гідразоно]оцтові кислоти (3.7-3.9) в умовах карбонілімідазолідного синтезу утворюють відповідні [1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолінові системи, які ускладнюються рециклізаційною ізомеризацією (перегрупування Дім-

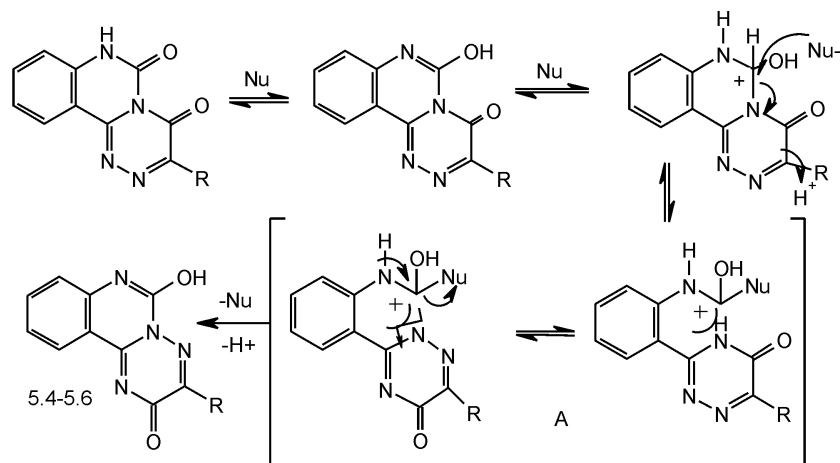


Схема 5

рота) у відповідні [2,3-с]-серії [6, 10], як і у випадку гідразонокислот 3.2-3.4. Зазначене перегрупування відбувається в результаті атаки нуклеофілом (імідазолом) положення 6 анельованої s-триазинової [4,3-с]-системи з утворенням інтермедіату А внаслідок розриву зв'язку N(5)—C(6) з наступним обертанням триазинового кільця та замиканням в анельовані системи 5.4-5.6 (схема 5) [10].

Таким чином, перегрупування Дімрота для 3-R-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-2-онів можливе як в умовах кислотного каталізу [6], так і основного каталізу, тоді як 3-R-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-2,6(7H)-діони перегрупуються у відповідні [2,3-с]-серії тільки в умовах основного каталізу.

Експериментальна частина

Вивчення фізико-хімічних властивостей синтезованих сполук проводили згідно з методами, наведеними у Державній фармакопеї України (ДФУ, вид. 1) [14]. Температуру плавлення визначали капілярним способом (2.2.14) на приладі ПТП (М). ¹H ЯМР-спектри реєстрували на спектрофотометрі ядерного магнітного резонансу “Мегасигу 400”, розчинник DMSO-d₆, внутрішній стандарт — тетраметилсилан. Хроматомас-спектральні дослідження проводили на приладі Agilent 1100 Series LC/MSD System, спосіб іонізації — хімічна іонізація при атмосферному тиску (APCI). Мас-спектри (ЕУ) одержані на приладі Varian 1200L, іонізація електронним ударом (70 eV) при прямому введенні зразка.

Синтез [(3H)-хіназолін-4-іліден]гідразину (1.1), 4-гідразоно-3,4-дигідро-1H-хіназолін-2-ону (1.2) та естерів [2-R-3H-хіназолін-4-іліден]гідразоно[α-(β-, γ-)карбонових кислот (2.1-2.11) здійснено за відомими методами] [1, 5, 6].

2-R-2-[(3H-Хіназолін-4-іліден)гідразоно]оцтові кислоти (3.1-3.6, табл. 1). До суспензії 0,8 г (0,005 Моль) [(3H)-хіназолін-4-іліден]гідразину (1.1) в 15 мл пропанолу-2 додають 0,005 Моль α-кетокрбонової кислоти та витримують при температурі кипіння розчинника протягом 10-15 хв, охолоджують, осад відфільтровують. Очищують переосадженням.

Мас-спектр (ЕУ) сполуки 3.2, m/z (I%): 308 (1,7), 307 (8,4), 306 (25,4), 261 (35,7), 259 (9,7), 233 (5,7), 215 (53,1), 214 (9,3), 197 (20,6), 196 (10,8), 171 (11,7), 170 (10,3), 146 (17,1), 145 (100,0), 144 (20,4), 130 (5,2), 129 (18,0), 118 (30,0), 117 (25,3), 116 (15,5), 103 (15,0), 102 (11,6), 93 (6,9), 91 (56,8), 90 (37,8), 89 (11,2), 77 (6,5), 76 (7,6), 75 (5,4).

Мас-спектр (ЕУ) сполуки 3.5, m/z (I%): 322 (3,8), 278 (28,3), 277 (6,3), 235 (4,8), 234 (7,7), 233 (16,6), 218 (5,4), 206 (6,5), 205 (7,7), 172 (8,5), 171 (100), 170 (11,5), 149 (9,2), 145 (24,9), 144 (10,5), 143 (5,1), 134 (6,8), 133 (50,4), 129 (37,0), 120 (6,1), 118 (11,4), 117 (6,8), 103 (23,3), 102 (15,7).

Мас-спектр (ЕУ) сполуки 3.6, m/z (I%): 289 (1,9), 255 (12,7), 254 (83,4), 253 (24,1), 220 (8,3),

171 (37,8), 170 (9,4), 160 (16,4), 146 (6,1), 145 (100,0), 144 (14,8), 130 (11,1), 129 (20,7), 126 (6,9), 126 (5,1), 124 (5,2), 118 (42,8), 111 (8,9), 110 (9,9), 109 (17,0), 104 (7,1), 103 (59,2), 102 (17,9), 97 (12,2), 96 (24,2), 95 (17,5), 91 (5,8), 90 (17,4), 76 (24,7), 75 (9,1), 70 (11,2).

2-R-2-[2-Оксо-(2,3-дигідро-1H-хіназолін-4-іліден)гідразоно]оцтові кислоти (3.7-3.11, табл. 1). До суспензії 0,88 г (0,005 Моль) 4-гідразоно-3,4-дигідро-1H-хіназолін-2-ону (1.2) в 10 мл метанолу додають 0,005 Моль α-кетокрбонової кислоти та витримують при температурі кипіння розчинника протягом 10-15 хв, охолоджують, осад відфільтровують.

Мас-спектр (ЕУ) сполуки 3.10, m/z (I%): 338 (4,4), 294 (27,4), 293 (5,4), 236 (8,8), 233 (30,2), 222 (11,0), 221(22,9), 195 (10,1), 188 (10,9), 187 (100,0), 180 (19,0), 179 (10,3), 163 (8,2), 162 (22,9), 149 (22,1), 145 (27,6), 135 (13,0), 133 (34,7), 129 (15,4), 126 (24,6), 121 (10,6,2), 118 (38,2), 117 (11,9), 114 (9,2), 106 (10,5), 102, (8,2).

Мас-спектр (ЕУ) сполуки 3.11, m/z (I%): 314 (2,2), 271 (5,6), 270 (37,3), 269 (25,3), 187 (38,8), 186 (6,5), 162 (13,3), 161 (100,0), 146 (5,7), 145 (21,2), 144 (5,0), 133 (11,9), 132 (6,3), 119 (10,7), 118 (96,4), 117 (21,0), 110 (12,1), 109 (20,6), 105 (6,2), 103 (5,7), 102 (7,8), 96 (31,9), 95 (10,3), 91 (36,9), 90 (42,3), 89 (5,3), 76 (9,2), 75 (5,9), 70 (8,3).

4-Арил-4-[(3H)-хіназолін-4-іліден]гідразоно]бутанові кислоти (3.12-3.13, табл. 1). До суспензії 0,8 г (0,005 Моль) [(3H)-хіназолін-4-іліден]гідразину (1.1) в 30 мл пропанолу-2 додають 0,005 Моль відповідної γ-кетокрбонової кислоти, 1 краплю хлористоводневої кислоти та кип'ятять протягом 1 год, охолоджують, осад відфільтровують та сушать. Одержані сполуки не потребують додаткового очищення.

Аміди [(3H-хіназолін-4-іліден)гідразоно]карбонових кислот (4.1-4.3, табл. 1). До суспензії 0,01 М відповідних ефірів [(3H-хіназолін-4-іліден)гідразоно]карбонових кислот (2.1, 2.2, 2.5) в 5 мл спирту етилового додають 10 мл 25% водного розчину амоніаку і залишають при кімнатній температурі на 48 год (у випадку сполуки 2.2 — 24 год). Розчинник відганяють під вакуумом, до осаду додають 10 мл холодної води. Осади відфільтровують, промивають невеликою кількістю холодної води, сушать. Сполуки 4.1-4.3 кристалізують із суміші етанол-вода (2:1, 4.1), пропанол-2-вода (1:3, 4.2, 4.3).

Морфоліди 2-(тіофен-2-іл)-2-[(2-R-3H-хіназолін-4-іліден)гідразоно]оцтових кислот (4.4, 4.5, табл. 1). До суспензії 0,005 Моль відповідної кислоти (3.6, 3.11) в 15 мл діоксану додають 0,81 г (0,0055 М) карбонілдіімідазолу та нагрівають при неінтенсивному кипінні протягом 30 хв, далі додають 0,44 г (0,0055 М) морфоліну та нагрівають на протязі 1 год. Суміш охолоджують, виливають у воду, розчин доводять до рН=7, осади, що утворилися, фільтрують, сушать. Синтезовані сполуки кристалізують із діоксану.

Морфоліди 4-R-4-[(3H)-хіназолін-4-ілден]гідразоно}бутанових кислот (4.6, 4.7, табл. 1). До розчину 0,005 М відповідної кислоти (3.12, 3.13) у діоксані додають 0,81 г (0,0055 М) карбонілдіімідазолу та нагрівають при неінтенсивному кипінні протягом 1 год, далі додають 0,44 г (0,0055 М) морфоліну та нагрівають протягом 3 год. Суміш охолоджують, виливають у воду, розчин доводять до рН=7, осади що утворилися, фільтрують, сушать. Синтезовані сполуки кристалізують із пропанолу-2.

3-R-2H-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-2-они (5.1-5.3, табл. 1). До суспензії 0,005 М відповідної 2-арил-2-[(3H)-хіназолін-4-ілден]гідразоно}оцтової кислоти (3.3-3.5) у 10 мл діоксану додають 0,9 г (0,0055 М) карбонілдіімідазолу. Суміш нагрівають при температурі 80°C протягом 1 год, охолоджують, осад що утворився, фільтрують, сушать. Сполуки 5.1-5.3 для аналізу кристалізують із суміші ДМФА-вода (1:1, 5.2, 5.3) або діоксану (5.1).

¹³C ЯМР (δ) сполуки 5.1: 160,4 (2-С), 151,7 (3-С), 151,3 (11b-С), 144,7 (6-С), 144,2 (7a-С), 135,9 (9-С), 132,2 (1-С_{фен}), 131,7 (4-С_{фен}), 129,8 (2, 6-С_{фен}), 129,7 (11-С), 128,7 (3, 5-С_{фен}), 128,2 (10-С), 125,9 (8-С), 119,8 (11a-С).

Мас-спектр (ЕУ) сполуки 5.1, m/z (I%): 275 (4,7), 274 (2,1), 248 (4,3), 205 (3,3), 172 (9,8), 171 (100,0), 143 (3,7), 129 (14,2), 103 (11,1), 102 (6,2), 77 (3,3), 76 (19,5), 75 (6,3), 74 (2,7), 64 (5,5), 63 (20,3), 62 (11,2), 61 (3,0), 52 (4,9), 51 (5,5), 50 (6,9).

Мас-спектр (ЕУ) сполуки 5.2, m/z (I%): 172 (8,4), 171 (100), 143 (5,5), 129 (50,2), 117 (33,4), 116 (45,7), 103 (5,9), 102 (27,1).

Мас-спектр (ЕУ) сполуки 5.3, m/z (I%): 304 (3,1), 276 (8,1), 190 (7,4), 187 (5), 172 (8,8), 171 (100), 169 (7,7), 134 (6,6), 133 (58,8), 132 (7,2), 129 (33,9), 111 (5,7), 102 (13,4).

3-R-2H-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-2,6(7H)-діони (5.4-5.6, табл. 1). До суспензії 0,005 М від-

повідної 2-арил-2-[[2-оксо-2,3-дигідро-(1H)-хіназолін-4-ілден]гідразоно}оцтової кислоти (3.8-3.10) у 10 мл діоксану додають 0,9 г (0,0055 М) карбонілдіімідазолу. Суміш нагрівають протягом 1 год, охолоджують, осад, що утворився, фільтрують, сушать. Сполуки 5.4-5.7 для аналізу кристалізують із суміші ДМФА-вода.

¹³C ЯМР (δ) сполуки 5.4: 160,4 (2-С), 154,4 (6-С), 149,6 (3-С), 145,3 (11b-С), 138,8 (7a-С), 136,1 (9-С), 132,7 (1-С_{фен}), 131,4 (4-С_{фен}), 129,6 (2, 6-С_{фен}), 128,7 (3, 5-С_{фен}), 126,9 (11-С), 124,0 (10-С), 116,0 (8-С), 113,5 (11a-С).

Мас-спектр (ЕУ) сполуки 5.4, m/z (I%): 290 (7,7), 263 (6,3), 188 (12,6), 187 (100), 171 (6,3), 159 (30,6), 145 (20,8), 144 (8,8), 117 (9,9), 103 (23,4).

Рентгеноструктурний аналіз сполуки 5.4 був виміряний на дифрактометрі "Хсалибур-3" (МоК α випромінювання, ССD-детектор, графітовий монохроматор, ω -сканування, $2\theta_{\max} = 60^\circ$), параметри елементарної комірки та інтенсивності 12226 відображень (4415 незалежних, $R_{\text{int}} = 0.021$). Кристали сполуки 5.4 моноклінні, $C_{16}H_{10}N_4O_2 \cdot 2H_2O$, при 23,198С $a = 11.2859(4)$, $b = 9.5357(3)$, $c = 13.8766(6)$ А°, $\beta = 113.185(5)^\circ$, $V = 1372.78(9)$ А°³, $M_r = 308.30$, $Z = 4$, просторова група P2₁/c, $d_{\text{вир}} = 1.492$ Нг/см³, μ (МоК α) = 0.107 мм⁻¹, F(000) = 640. Структура розшифрована прямим методом по комплексу програм SHELXTL [11]. Положення атомів водню виявлені із різницевого синтезу електронної щільності і уточнені ізотропно. Структура уточнена по F² повноматричним МНК в анізотропному наближенні для неводневих атомів до $wR_2 = 0.126$ по 3921 відображень ($R_1 = 0.041$ по 2341 відображень з $F > 4\sigma$ (F), $S = 0.98$). Повний набір рентгеноструктурних параметрів (координати атомів, значення довжин зв'язків та кутів) сполуки 5.4 задепоновано в Кембриджському банку кристалграфічних даних (CCDC №671039).

Література

1. Коваленко С.І., Воскобойник О.Ю., Карпенко О.В. // ЖОФХ. — 2007. — Т. 5. — Вип. 4 (20). — С.54-62.
2. Зефіров Ю.В. // Кристаллография. — 1997. — Т. 42, №5. — С. 936-958.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — 15-е изд. перераб., испр. и доп. — М.:ООО "Изд-во Новая Волна", 2005. — 1200 с.
4. Карпенко О.В., Нестерова Н.О., Воскобойник О.Ю., Коваленко С.І. // Вопр. химии и хим. технол. — 2005. — №3. — С. 39-44.
5. Воскобойник О.Ю., Коваленко С.І., Карпенко О.В., Нестерова Н.О. // Фармац. журн. — 2007. — №5. — С.70-76.
6. Karpenko O.V., Kovalenko S.I., Chekotylo O.O., Shyshkyna S.V. // Heterocycles. — 2007. — Vol. 71, Iss. 3. — P. 619-626.
7. Karpenko A.V., Kovalenko S.I., Shishkina S.V., Shishkin O.V. // Monatshefte fuer Chemie. — Chemical Monthly. — 2006. — Vol. 137, №12. — P. 1543-1549.
8. Armarego W.L.F. Quinazolines. The chemistry of heterocyclic compounds. — N.-Y. etc. Interscience publ. Ltd., 1967.
9. Burgi H.B., Dunitz J.D. Structure correlation. // VCH Weinheim. — 1994. — Vol. 2. — P. 741-784.
10. Potts K.T., Brugel E.G. // J. Org. Chem. — 1970. — Vol. 35, №10. — P. 3448-3451.
11. Sheldrick G.M. SHELXTL PLUS. PC Version. A system of computer programs for the determination of crystal structure from X-ray diffraction data. — 1998. — Rev. 5.1.

Надійшла до редакції 18.12.2007 р.

УДК 547.963.1

СИНТЕЗ β -АРИЛТИОГЛИКОЗИДОВ N-АЦЕТИЛМУРАМОИЛ-L-АЛАНИЛ-D-ИЗОГЛУТАМИНА

А.Е.Земляков, В.Н.Цикалова, Л.Р.Азизова, В.Я.Чирва

Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского,
95007, г. Симферополь, пр. Акад. Вернадского, 4. E-mail: alex_z@crimea.edu*Ключевые слова: гликопептиды; мурамоилдипептид; гликозиды мурамоилдипептида; арилтиогликозиды*

Взаимодействием перацетата α -D-глюкозаминилхлорида с тиофенолами в ацетонитриле в присутствии триэтиламина были синтезированы β -фенил-, β -п-толил- и β -п-трет-бутилфенил-1-тиа-N-ацетилглюкозаминиды. Полученные на их основе 4,6-O-изопропилиден-N-ацетил-D-мурамовые кислоты конденсировали с L-Ala-D-iGln-OBn и деблокировали, что привело к целевым β -арилтиогликозидам N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина.

THE SYNTHESIS OF β -ARYLTHIOGLYCOSIDES OF N-ACETYLMURAMYL-L-ALANYL-D-ISOGLUTAMINE

A. Ye. Zemlyakov, V. N. Tsikalova, L. R. Azizova, V. Ya. Chirva

β -Phenyl-, β -p-tolyl- and β -p-tert-butylphenyl-1-thia-N-acetylglucosaminides have been synthesized by the interaction of α -D-glucosaminylchloride peracetate with the thiophenols in the presence of triethylamine. 4,6-O-isopropyliden-N-acetylmuramic acids obtained on the basis of these compounds have been condensed with L-Ala-D-iGln-OBn with their subsequent deprotection that leads to the target β -arylthioglycosides of N-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-isoglutamine.

СИНТЕЗ β -АРИЛТИОГЛИКОЗИДІВ N-АЦЕТИЛМУРАМОЇЛ-L-АЛАНИЛ-D-ИЗОГЛУТАМІНУ

О.Є.Земляков, В.М.Цикалова, Л.Р.Азізова, В.Я.Чирва

Взаємодією перацетату α -D-глюкозамінілхлориду з тиофенолами в ацетонітрилі у присутності триетиламіну були синтезовані β -феніл-, β -п-толил- і β -п-трет-бутилфеніл-1-тіа-N-ацетилглюкозамініди. Отримані на їхній основі 4,6-O-ізопропіліден-N-ацетил-D-мурамові кислоти конденсували з L-Ala-D-iGln-OBn і деблокували, що привело до цільових β -арилтіоглікозидів N-ацетилмурамоїл-L-аланіл-D-ізоглутаміну.

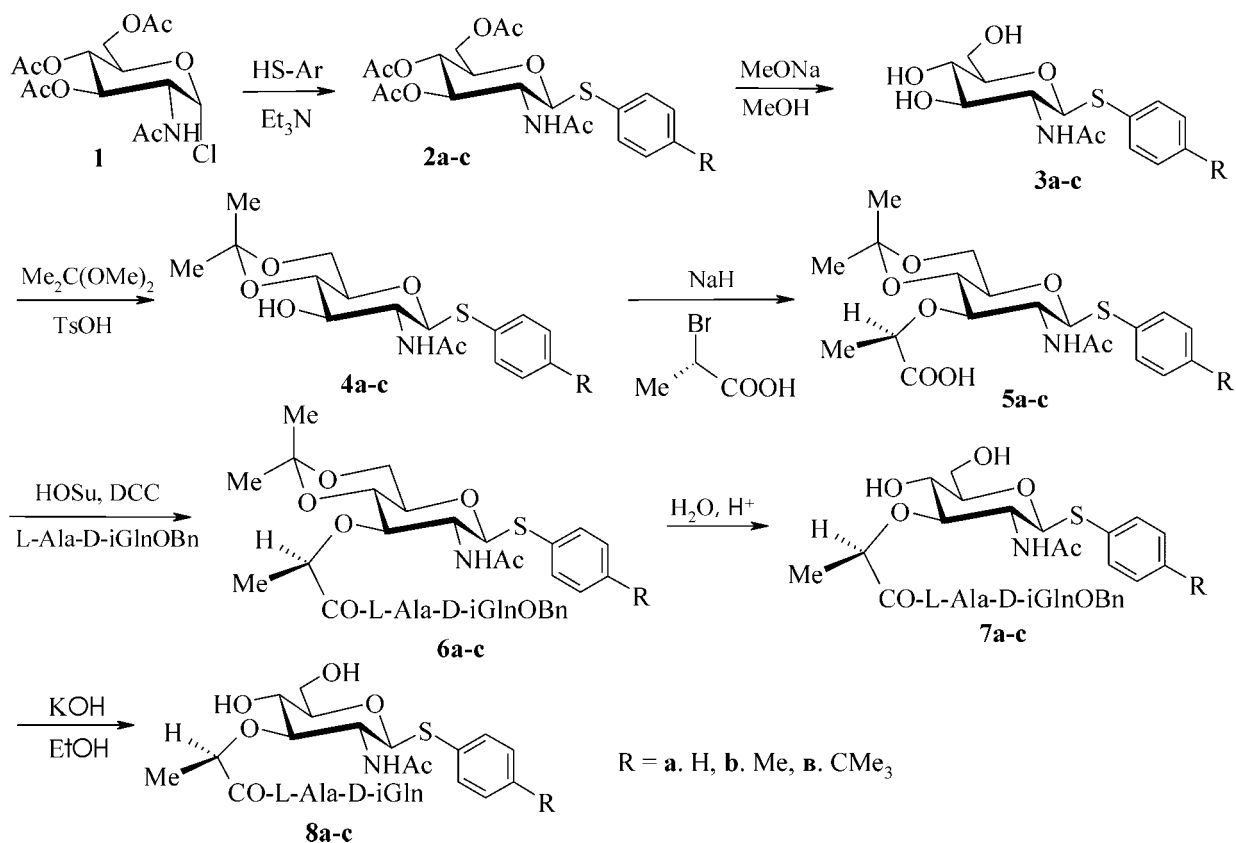
Среди многочисленных производных N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина (мурамоилдипептида, MDP) значительное место занимают гликозидные производные. Такие модификации мурамоилдипептида во многих случаях обладают высокой биологической активностью. В частности, иммуностимулирующее действие, превышающее эффект самого MDP, было выявлено для широкой группы O- β -алкил- [1, 2] и O- β -арилгликозидов MDP [1-3]. В отличие от широко исследуемых O-гликозидов мурамоилдипептида к настоящему времени было получено только три S-гликозида MDP, соответственно, β -метил-, β -бутил- и β -гексадецил-1-тиа-мурамоилдипептиды [4]. Возможно, по причине меньшей адьювантной активности этих соединений по сравнению с MDP дальнейшее изучение этой группы веществ не проводилось. Эти результаты контрастировали с полученными в том же тесте стимуляции гиперчувствительности замедленного типа данными о высокой активности для 1-S-ацил-MDP [4, 5]. Да и сам 1-тиа-мурамоилдипептид обладал адьювантным действием, близким к самому мурамоилдипептиду [4].

В рамках исследований по изучению взаимосвязей между строением гликозидных производ-

ных мурамоилдипептида и их биологической активностью нами осуществлен синтез ранее не описанных β -фенил-, β -п-толил- и β -п-трет-бутилфенилгликозидов 1-тиа-N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина 8a-c. Сравнение иммуностимулирующего действия этих соединений с соответствующими O-арилгликозидами [1, 6] позволит выявить влияние природы гетероатома у гликозидного центра на биологическую активность.

Синтез гликозидов MDP осуществлялся по приведенной ниже схеме. Ключевым моментом в синтезе β -арилтиогликозидов мурамоилдипептида является получение β -арил-1-тиа-N-ацетилглюкозаминидов. Из большого количества возможных методов мы выбрали простую методику [7], построенную на взаимодействии при комнатной температуре перацетилированного α -D-глюкозаминилхлорида 1 с тиофенолами в ацетонитриле в присутствии избытка триэтиламина. Эта методика позволила быстро и с хорошими выходами (52-78%) получить гликозиды 2a-c.

Строение этих соединений было доказано ^1H -ЯМР-спектроскопией (табл. 1). Наряду с сигналами протонов гликозидного остатка были идентифицированы сигналы ароматических протонов фенильной группы агликона, представленные дву-



Схема

мья мультиплетами с δ 7,30 и 7,50 м.д. для гликозида 2a и п-фениленовой группировки для соединений 2b,c — два дублета с δ 7,12, 7,33 и 7,41, 7,44 м.д. Синглеты протонов метильной и трет-бутильной групп гликозидов 2b,c имеют ХС 2,35 и 1,32 м.д.

Сигналы аномерного протона (δ 4,78–4,85 м.д.) смещены в сильное поле по сравнению с соответствующими O-гликозидами (δ 5,20–5,28 м.д.) [1, 6]. КССВ равная 10–10,5 Гц характерна для S-1,2-транс-D-глюкозаминидов и существенно отличается от J_{1,2} 8 Гц у O- β -арилгликозидов.

N-Ацетил-D-мурамовые кислоты 5a-c получены из дезацетилированных производных 3a-c путем

введения 4,6-O-изопропилиденовой защиты и последующего алкилирования свободной гидроксильной группы у С3 в производных 4a-c действием гидрида натрия и L-2-бромпропионовой кислоты в диоксане. Бензиловый эфир L-аланил-D-изоглутамина конденсировали с N-гидроксисукцинимидными эфирами этих кислот и получили гликопептиды 6a-c, в которых кислотным гидролизом удалили ацетальную защиту.

Структуру соединений 7a-c подтвердили ¹H-ЯМР-спектрами, в которых интерпретировали сигналы протонов агликона, гликозидного остатка и лактилдипептидной компоненты. Эти спектры близ-

Таблица 1

¹H-ЯМР-спектры гликозидов 2a-c*

| Протон | 2a | 2b | 2c |
|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| H1 (J _{1,2}) | 4,85д (10) | 4,78д (10,5) | 4,82д (10,5) |
| H2 (J _{2,3}) | 4,04ддд (10,5) | 3,99ддд (10) | 4,02ддд (10) |
| H3 (J _{3,4}) | 5,23дд (9,5) | 5,22дд (9,5) | 5,23дд (9,5) |
| H4 (J _{4,5}) | 5,06дд (10) | 5,05дд (9,5) | 5,07дд (9,5) |
| H5 (J _{5,6a} ; J _{5,6b}) | 3,73ддд (2,5; 5,5) | 3,70ддд (3; 5) | 3,71ддд (2,5; 5) |
| H6a,b (J _{6a,6b}) | 4,14дд, 4,24дд (12,5) | 4,17дд, 4,22дд (12,5) | 4,18дд, 4,23дд (12) |
| NAc, OAc | 1,99с, 2,02с, 2,03с, 2,08с | 2,00с, 2,02с, 2,03с, 2,09с | 2,00с, 2,02с, 2,03с, 2,08с |
| NH (J _{2,NH}) | 5,26д (9) | 5,63д (9) | 5,60д (9) |
| SAr | 7,30м, 7,50м | 2,35с, 7,12д, 7,41д | 1,32с, 7,33д, 7,44д |

* Растворитель - CDCl₃. Рабочая частота - 400 МГц, для соединения 2a - 300 МГц.

Таблица 2

Характеристические сигналы ^1H -ЯМР-спектров соединений 7a-с, 8a-с и MDP*

| Сигналы групп | 7a | 7b | 7c | 8a | 8b | 8c | β -MDP [8] |
|-----------------------------|--------------|------------------------|------------------------|--------------|------------------------|------------------------|------------------|
| SAr | 7,36м | 2,26с, 7,12д, 7,32д | 1,25м, 7,33д, 7,37д | 7,11-7,24м | 2,27с, 7,13д, 7,33д | 1,26м, 7,32д, 7,36д | - |
| GlcNAc: H1 ($J_{1,2}$ Гц) | 4,75д (10,5) | 4,67д (10) | 4,69д (10) | 4,75д (10) | 4,66д (10,5) | 4,70д (10) | 4,41д |
| NAc | 1,79с | 1,78с | 1,78с | 1,79с | 1,79с | 1,79с | 1,77с |
| NHAc | 7,97д | 7,99д | 7,98д | 7,98д | 7,94д | 7,97д | 7,93д |
| C4-OH | 5,36д | 5,37д | н.д. | 5,58д | н.д. | н.д. | 6,60д |
| C6-OH | 4,66т | 4,67т | н.д. | 4,69ут | н.д. | н.д. | 4,24т |
| CH_2CHCO | 1,24д | 1,23д | 1,25м | 1,25д | 1,25д | 1,26м | 1,23д |
| Ala: CH_3 | 1,25д | 1,24д | 1,25м | 1,25д | 1,25д | 1,26м | 1,24д |
| NH | 7,41д | 7,42д | 7,44д | 7,11-7,24м | 7,39д | 7,46д | 7,51д |
| iGln: CO_2R | 5,08с, 7,36м | 5,08с, 7,36м | 5,08с, 7,36д | 12,48ус | н.д. | н.д. | - |
| γ - CH_2 | 2,36т | 2,35т | 2,35т | 2,10т | 2,09т | 2,08т | 2,20т |
| β - CH_2 | 1,80м, 2,02м | 1,73м, 2,01м | 1,76м, 2,01м | 1,74м, 1,95м | 1,75м, 1,95м | 1,72м, 1,93м | 1,69м, 1,94м |
| CONH_2 | 7,10с, 7,30с | 7,13с, 7,33с | 7,13с, 7,30с | 6,79с, 7,24с | 6,76с, 7,27с | 6,73с, 7,28с | 7,11с, 7,33с |
| NH | 8,09д | 8,13д | 8,13д | 8,28д | 8,25д | 8,10д | 8,10д |

* Растворитель - DMSO-d₆. Рабочая частота - 300 МГц, для соединений 7b, 7c - 400 МГц.

Условные сокращения: ус - уширенный синглет, ут - уширенный триплет, н.д. - не детектировано.

ки к ^1H -ЯМР-спектрам соответствующих О-арил-гликозидов мурамоилдипептида [1, 6] (табл. 2).

Каталитический гидролиз бензильного эфира в остатке изоглутамина гликопептидов 7a-с был затруднен из-за ингибирующего действия атомов серы в S-гликозидах. Поэтому на заключительной стадии бензильные эфиры в соединениях 7a-с удалили омылением, действуя раствором КОН в 95% этаноле, что позволило получить целевые арилтиогликозиды MDP 8a-с. Полноту протекания щелочного гидролиза и отсутствие изомеризации подтвердили ^1H -ЯМР-спектроскопией гликопептидов 8a-с. ^1H -ЯМР-спектры этих соединений отличаются от спектров соответствующих производных 7a-с только отсутствием сигналов протонов бензильного эфира. В спектре соединения 8a также детектирован широкий синглет протона карбоксильной группы с ХС 12,48 м.д. В целом спектры этих гликопептидов аналогичны данным, полученным для самого MDP [8] (табл. 2).

Экспериментальная часть

Температуры плавления определяли на приборе ПТП, оптическое вращение при 20-25°C — на поляриметре Polamat-A (λ 546 нм). Спектры ^1H -ЯМР получены на приборах Varian VXR-300 (300 МГц) и Varian Mercury 400 (400 МГц), внутренний стандарт — Me₄Si. Приведены химические сдвиги (δ -шкала) и константы спин-спиновой взаимодействия (J, Гц).

ТСХ проводили на пластинках Sorbfil-AФВ-УФ (ЕСорбполимерФ, Россия). Вещества обнаруживали УФ (254 нм) и 5% раствором серной кислоты в этаноле с последующим нагреванием до

200-300°C. Использовали системы растворителей: бензол — пропанол-2, 10:1 (А), хлороформ — пропанол-2, 20:1 (Б); хлороформ — пропанол-2, 10:1 (В); хлороформ — пропанол-2, 3:1 (Г). Колонную хроматографию (КХ) проводили на силикагеле Merck 230-400 меш. Данные элементного анализа ключевых соединений соответствуют расчетным значениям.

Использовали тиофенол и п-тиокрезол (Merck), п-трет-бутилтиофенол (Acros).

Фенил-2-ацетида-3,4,6-тетра-О-ацетил-2-дезоксид-1-тиа- β -D-глюкопиранозид (2a). К раствору 1,25 г (3,42 ммоль) α -хлорида 1 в 20 мл ацетонитрила добавили 0,35 мл (3,42 ммоль) тиофенола и 0,94 мл (6,78 ммоль) ТЕА. Смесь перемешивали при комнатной температуре. Через 20 мин (контроль ТСХ в системах А, Б) выпавшие соли отфильтровывали и фильтрат упаривали. Остаток растворили в 20 мл хлороформа, который промыли 5 мл воды. Органический слой высушили безводным Na₂SO₄ и упарили. Остаток перекристаллизовали из изопропилового спирта и получили 1,15 г (77%) гликозида 2. Т.пл. — 195-197°C, $[\alpha]_{546}^{20} = 31^\circ$ (с 1,0; хлороформ). Лит. данные [9]: Т.пл. — 200°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 39,1^\circ$ (хлороформ). ^1H -ЯМР (табл. 1).

Аналогично из 1,94 г (5,31 ммоль) α -хлорида 1, 0,73 г (5,88 ммоль) п-тиокрезоло и 1,47 мл (10,62 ммоль) ТЕА получили 1,88 г (78%) гликозида 2b. Т.пл. — 213-216°C, $[\alpha]_{546}^{20} = 39,5^\circ$ (с 1,0; хлороформ). Лит. данные [9]: Т.пл. — 215-216°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 21,5^\circ$ (хлороформ). ^1H -ЯМР (табл. 1). Таким же образом из 1,75 г (4,79 ммоль) α -хлорида 1, 0,89 г (5,30 ммоль) 4-трет-бутилтиофенола и 1,66 мл (11,98 ммоль) ТЕА после очистки КХ (элюент:

бензол — пропанол-2, 100:1 → бензол — пропанол-2, 20:1) получили 1,23 г (52%) гликозида 2с. Т.пл. — 169-175°C, $[\alpha]_{546}$ — 23° (с 1,0 хлороформ). Лит. данные [9]: Т.пл. — 185°C, $[\alpha]_D$ — 20,3° (хлороформ). ¹H-ЯМР (табл. 1).

Фенил-2-ацетамидо-2-дезоксид-1-тиа-β-D-глюкопиранозид (3а). 1,0 г (2,28 ммоль) ацетата 2а растворили в 20 мл сухого метанола и добавили 0,2 мл 0,1 н. раствор метилата натрия в метаноле. Выпавший при стоянии осадок отфильтровали, промыли холодным метанолом. Маточный раствор нейтрализовали катионитом КУ-2 (H⁺), смолу промыли метанолом. Фильтрат упарили и соупарили с бензолом. Общий выход соединения 3а — 0,64 г (90%). Т.пл. — 210-214°C, $[\alpha]_{546}$ — 2° (с 1,0; этанол).

По той же методике из 1,0 г (2,28 ммоль) ацетата 2b выделили 1 г (97%) соединения 3b. Т.пл. — 225-228°C, $[\alpha]_{546}$ — 4,2° (с 1,0; этанол — хлороформ). Аналогично из 0,69 г (1,39 ммоль) ацетата 2с получили 0,49 г (96%) соединения 3с. Т.пл. — 183-186°C (с разл.), $[\alpha]_{546}$ + 14,5° (с 1,0; этанол).

Фенил-2-ацетамидо-2-дезоксид-4,6-О-изопропилден-1-тиа-β-D-глюкопиранозид (4а). Суспензию 0,5 г (1,60 ммоль) вещества 3а в 20 мл сухого ТНФ нагрели при перемешивании до 50-55°C и добавили 0,59 мл (4,45 ммоль) 2,2-диметоксипропана и 10 мг TsOH. Через 1 час (контроль ТСХ в системе В) реакционную смесь охладили, нейтрализовали пиридином и упарили. Остаток очистили КХ (элюент: бензол-пропанол-2, 50:1 → бензол — пропанол-2, 10:1). Выход ацетата 4а — 0,5 г (89%). Т.пл. — 138-140°C, $[\alpha]_{546}$ 50° (с 0,67; хлороформ).

Вышеописанным методом из 0,5 г (1,53 ммоль) вещества 3b и 0,8 мл (6,12 ммоль) 2,2-диметоксипропана получили 0,42 г (75%) ацетата 4b. Т.пл. — 215-220°C (с разл.), $[\alpha]_{546}$ — 112° (с 1,0; хлороформ). Таким же методом из 0,47 г (1,27 ммоль) вещества 3с и 0,68 мл (5,19 ммоль) 2,2-диметоксипропана синтезировали 0,45 г (87%) ацетата 4с. Т.пл. — 175-178°C, $[\alpha]_{546}$ 54° (с 1,0; хлороформ).

Фенил-2-ацетамидо-2-дезоксид-4,6-О-изопропилден-3-О-(D-1-карбокситил)-1-тиа-β-D-глюкопиранозид (5а). К суспензии 0,5 г (1,42 ммоль) соединения 4а в 20 мл сухого диоксана при перемешивании порциями добавляли 4 экв. гидрида натрия. Реакционную смесь нагрели до 95°C, выдерживали при этой температуре 1 ч и после охлаждения до 65°C прилили 0,19 мл (2,13 ммоль) S-2-бромпропионовой кислоты и выдержали при 65°C еще 3 ч (контроль ТСХ в системе В). После охлаждения избыток гидрида натрия разложили водой и упарили. Остаток растворили в 50 мл воды, раствор подкислили 1 н. HCl до pH 3-4 и экстрагировали мурамовую кислоту хлороформом (3 x 20 мл). Экстракт отмыли водой (10 мл), затем хлороформный слой высушили безводным Na₂SO₄, упарили и соупарили с бензолом. Выход кислоты 5а составил 0,58 г (96%). Аморфное вещество.

Аналогичным образом из 0,4 г (1,09 ммоль) соединения 4b получили 0,89 г (83%) кислоты 5b.

Аморфное вещество. Подобным методом получения из 0,43 г (1,05 ммоль) соединения 4с синтезировали 0,45 г (88%) кислоты 5с. Аморфное вещество.

Бензиловый эфир О-(фенил-2-ацетамидо-2,3-дидезокси-1-тиа-β-D-глюкопиранозид-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамина (7а). К раствору 0,58 г (1,36 ммоль) кислоты 5а в 20 мл сухого ТНФ при перемешивании добавили 0,19 г (1,63 ммоль) HOSu и 0,35 г (1,63 ммоль) DCC. Через 5 ч отфильтровали осадок дициклогексилмочевины и промыли его растворителем. К фильтрату прибавили трифторацетат бензилового эфира L-аланил-D-изоглутамина (получен обработкой 570 мг (1,36 ммоль) соответствующего Вос-производного трифторуксусной кислотой с последующим упариванием досуха) и 0,25 мл (1,77 ммоль) ТЕА. По окончании реакции (контроль ТСХ в системе В) реакционную смесь упарили. Остаток растворили в 50 мл хлороформа, раствор промыли 15 мл 1 н. HCl, 15 мл насыщенного раствора NaHCO₃ и 15 мл воды. Органический слой высушили безводным Na₂SO₄ и упарили.

Полученный гликопептид 6а растворили при нагревании на кипящей водяной бане в 10 мл 70% уксусной кислоты и выдержали при этой температуре 15 мин (контроль ТСХ в системе В). Раствор упарили досуха, остаток соупарили с толуолом. Выход аморфного гликопептида 7а — 0,7 г (92%); $[\alpha]_{546}$ + 22° (с 0,67; этанол). ¹H-ЯМР (табл. 2).

Аналогично из 0,48 г (1,09 ммоль) кислоты синтезировали 0,25 г (56%) гликопептида 7b; $[\alpha]_{546}$ — 23° (с 1,0; этанол). ¹H-ЯМР — см. табл. 2. На основе 0,45 г (0,94 ммоль) кислоты 5с получено 0,30 г (44%) соединения 7с; Т.пл. — 203-207°C, $[\alpha]_{546}$ — 39,5° (с 1,0; этанол). ¹H-ЯМР (табл. 2).

О-(Фенил-2-ацетамидо-2,3-дидезокси-1-тиа-β-D-глюкопиранозид-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамин (8а). Бензиловый эфир 7а (0,15 г, 0,22 ммоль) растворили в 10 мл 95% этанола, содержащего 25 мг (0,44 ммоль) КОН, и перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч (контроль ТСХ в системе Г). Раствор нейтрализовали катионитом КУ-2(H⁺), смолу промыли этанолом, отфильтровали. Фильтрат упарили. Выход аморфного гликопептида 8а составил 0,11 г (85%); $[\alpha]_{546}$ — 12° (с 0,67; этанол). ¹H-ЯМР (табл. 2).

Таким же методом из бензилового эфира 7b (0,15 г, 0,22 ммоль) получили 0,10 г (77%) гликопептида 8b, $[\alpha]_{546}$ — 23° (с 1,0; этанол). ¹H-ЯМР (табл. 2). По той же методике 0,15 г (0,21 ммоль) бензилового эфира 7с превратили в 0,13 г (97%) соединения 8с; $[\alpha]_{546}$ — 23° (с 1,0; этанол). ¹H-ЯМР (табл. 2).

Выводы

Осуществлен синтез новых тиофенольных гликозидов мурамоилдипептида с агликонами различной липофильности: β-фенил-, β-п-толил- и β-п-трет-бутилфенил-1-тиа-N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутаминов.

Литература

1. Земляков А.Е., Цикалов В.В., Калюжин О.В. и др. // *Биоорг. химия*. — 2003. — Т. 29, №3. — С. 316-322.
2. Караулов А.В., Калюжин О.В., Земляков А.Е. // *Рос. биотерапевт. журн.* — 2000. — Т. 1. — С. 35-39.
3. Земляков А.Е., Цикалова В.Н., Цикалов В.В. и др. // *Биоорг. химия*. — 2005. — Т. 31, №6. — С. 1-7.
4. Hasegawa A., Hioki Y., Kiso M. et al. // *J. Carbohydr. Chem.* — 1982-1983. — Vol. 1, №3. — P. 317-323.
5. Ishida H., Kigawa K., Kitagawa M. et al. // *Agric. Biol. Chem.* — 1991. — Vol. 55, №2. — P. 585-587.
6. Земляков А.Е., Цикалова В.Н., Цикалов В.В. и др. // *ЖОФХ*. — 2003. — Т. 2, Вып. 3 (7). — С. 17-20.
7. Пат. США 5874548. 1999 // <http://patft.uspto.gov/netahtml/search-bool.html>.
8. Femand-Jian S., Perly B., Level M. // *Carbohydr. Res.* — 1987. — Vol. 162. — P. 23-32.
9. Shimadate T., Ghiba S., Inouye K. et al. // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* — 1982. — Vol. 55, №11. — P. 3552-3554.

Надійшла до редакції 06.03.2006 р.

УДК 547.75:547.83

СИНТЕЗ ТА АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ 2-АМІНО-3-*R*-БЕНЗОІЛ-*N*-(4-МЕТОКСИФЕНІЛ)- 1-ІНДОЛІЗИНКАРБОКСАМІДІВ

А.Р.Хайрулін, А.М.Демченко*, О.С.Смольський*, М.О.Лозинський

Інститут органічної хімії НАН України,
02094, м.Київ, вул. Мурманська, 5. E-mail: khairulin@online.ua

* Інститут фармакології і токсикології АМН України

Ключові слова: броміди 2-бромо-1-(2-оксо-2-арилетил)піридинію; 2-ціано-*N*-(4-метоксифеніл)ацетамід; антиоксидантна активність

Реакцією бромідів 2-бромо-1-(2-оксо-2-арилетил)піридинію з 2-ціано-*N*-(4-метоксифеніл)ацетамідом синтезовані нові 2-аміно-3-*R*-бензоіл-*N*-(4-метоксифеніл)-1-індолізінкарбоксаміди. Вивчені антиоксидантні властивості синтезованих сполук.

THE SYNTHESIS AND ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF 2-AMINO-3-*R*-BENZOYL-*N*-(4-METHOXYPHENYL)-1-INDOLYZINE CARBOXAMIDES

A.R.Khairulin, A.M.Demchenko, A.S.Smolsky, M.O.Loizinsky

The synthesis of new 2-amino-3-*R*-benzoyl-*N*-(4-methoxyphenyl)-1-indolyzine carboxamides has been performed by the reaction of 2-bromo-1-(2-oxo-2-arylethyl)pyridinium bromides with 2-cyano-*N*-(4-methoxyphenyl)acetamide. The antioxidative properties of the compounds synthesized have been studied.

СИНТЕЗ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА 2-АМИНО-3-*R*-БЕНЗОИЛ-*N*-(4-МЕТОКСИФЕНИЛ)-1-ИНДОЛИЗИНКАРБОКСАМИДОВ

А.Р.Хайрулин, А.М.Демченко, А.С.Смольский, М.О.Лозинский

Реакцией бромидов 2-бромо-1-(2-оксо-2-арилэтил)пиридиния с 2-циано-*N*-(4-метоксифеніл)ацетамидом синтезированы новые 2-амино-3-*R*-бензоил-*N*-(4-метоксифеніл)-1-индолизинкарбоксамиды. Изучены антиоксидантные свойства синтезированных соединений.

Похідним індолізіну притаманні різноманітні біологічні властивості. Вони можуть використовуватись як антимікробні [1], протизапальні [2] та серцево-судинні препарати [3]. У зв'язку з цим дослідження фізіологічної активності нових похідних індолізіну є перспективним напрямком у сучасній фармакології. Нещодавно нами повідомлялось [4], що 2-аміно-*N*-арил-3-(тієн-2-ілкарбоніл)-індолізін-1-карбоксаміди в дослідіах *in vitro* проявили себе як сполуки з високою антиоксидантною активністю. Продовжуючи дослідження, в даній роботі ми синтезували ряд нових 2-аміно-3-*R*-бензоіл-*N*-(4-метоксифеніл)-1-індолізінкарбоксамідів і дослідили їх антиоксидантні властивості за умов штучного окисного стресу.

Синтез 2-аміно-3-*R*-бензоіл-*N*-(4-метоксифеніл)-1-індолізінкарбоксамідів 3а-*j* здійснювався шляхом взаємодії бромідів 2-бромо-1-(2-оксо-2-арилетил) піридинію 1а-*j* [5] з 2-ціано-*N*-(4-метоксифеніл)ацетамідом 2 та триетиламіном у середовищі абсолютного ДМФА [6] (схема).

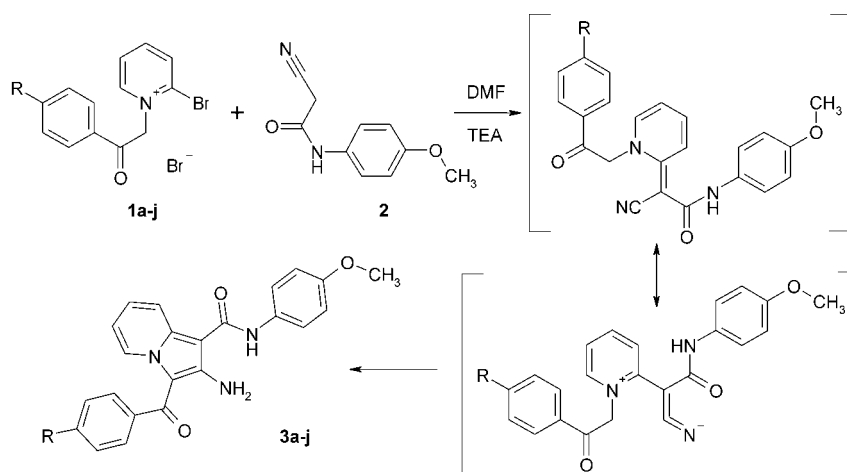
Синтезовані нові сполуки 3а-*j* — світло-жовті або жовті кристалічні речовини, розчинні в толуолі, ДМФА, важко розчинні у спиртах, нерозчинні у воді та діетиловому етері. Склад і структури всіх

синтезованих сполук доведені даними ЯМР ¹H спектроскопії (табл. 2) та елементного аналізу (табл. 1).

Антиоксидантну активність (АОА) синтезованих сполук оцінювали за ступенем інгібування активних форм NO *in vitro* згідно з рекомендаціями [7]. Метод заснований на здатності натрію нітропрусиду до автоокиснення під дією світла з утворенням NO [8].

Індукцію NO викликали дією на проби з натрію нітропрусидом світла з люмінесцентного джерела потужністю 40 Вт. Опромінення проводили протягом 60 хв при 20°C. Інкубаційна суміш містила 4 мл 0,001% розчину натрію нітропрусиду, 0,5 мл 0,01% розчину аскорбінової кислоти та досліджувані речовини (0,5 мл) із кінцевими значеннями титру у загальній інкубаційній суміші відповідно 3 · 10⁻³, 3 · 10⁻⁵ та 3 · 10⁻⁷ мг/мл.

Ефективність гальмування утворення активних форм NO визначали за мірою інгібування окиснення аскорбінової кислоти шляхом реєстрації зміни оптичної густини досліджуваного розчину при довжині хвилі 265 нм на спектрофотометрі СФ-26. АОА виражали у відсотках інгібування окиснення аскорбінової кислоти. Для отримання результатів зміни оптичної густини до-



R = H (a), Br (b), Cl (c), F (d), Me (e), Et (f), iPr (g), MeO (h), EtO (i), NO₂ (j).

Схема

Таблица 1

Структурні та фізико-хімічні властивості
2-аміно-3-R-бензоїл-N-(4-метоксифеніл)-1-індолізінкарбоксамідів 3a-j

| Сполука | R | Емпірична формула | Зайдено, % Вирахувано, % | | | Т.пл., °C | Вихід, % |
|---------|------------------------------------|---|-----------------------------|--------------|----------------|-----------|----------|
| | | | C | H | N | | |
| 3a | H | C ₂₃ H ₁₉ N ₃ O ₃ | 71.3 71.6 | 4.56 4.96 | 10.8 10.9 | 212-215 | 75 |
| 3b | Br | C ₂₃ H ₁₈ BrN ₃ O ₃ | 58.8 59.5 | 3.88 3.91 | 9.12 9.05 | 235-237 | 84 |
| 3c | Cl | C ₂₃ H ₁₈ ClN ₃ O ₃ | 64.5 65.8 | 4.2 4.3 | 9.92 10.01 | 215-217 | 80 |
| 3d | F | C ₂₃ H ₁₈ FN ₃ O ₃ | 66.2 68.4 | 4.5 4.5 | 10.22 10.42 | 190-193 | 79 |
| 3e | CH ₃ | C ₂₄ H ₂₁ N ₃ O ₃ | 72.12 72.14 | 5.24 5.3 | 10.63 10.5 | 225-227 | 72 |
| 3f | CH ₃ CH ₂ | C ₂₅ H ₂₅ N ₃ O ₃ | 72.5 72.6 | 5.44 5.6 | 10.35 10.1 | 220-223 | 76 |
| 3g | (CH ₃) ₂ CH | C ₂₆ H ₂₅ N ₃ O ₃ | 73.4 73.1 | 5.8 5.89 | 10.1 9.83 | 207-209 | 78 |
| 3h | CH ₃ O | C ₂₄ H ₂₁ N ₃ O ₄ | 69.3 69.3 | 5.02 5.1 | 10.6 10.1 | 210-212 | 70 |
| 3i | CH ₃ CH ₂ O | C ₂₅ H ₂₃ N ₃ O ₄ | 69.7 69.9 | 5.16 5.4 | 9.82 9.8 | 204-206 | 69 |
| 3j | NO ₂ | C ₂₃ H ₁₈ N ₄ O ₅ | 63.7 64.1 | 4.15 4.2 | 12.91 13.02 | 198-200 | 71 |

Таблица 2

Спектри ЯМР ¹H сполук 3a-j

| Сполука | Хімічні зсуви, δ, м.д. (DMCO-d ₆) |
|---------|--|
| 3a | 3.73 с (3H, OMe), 5.76 с (2H, NH ₂), 6.88-7.60 м (11H, аром. + індоліз.), 7.76 д (1H ⁸ індоліз.), 9.3 д (1H ⁵ індоліз.), 9.51 с (1H, NH) |
| 3b | 3.73 с (3H, OMe), 5.74 с (2H, NH ₂), 6.89-7.77 м (11H, аром. + індоліз.), 9.27 д (1H ⁵ індоліз.), 9.5 с (1H, NH) |
| 3c | 3.73 с (3H, OMe), 5.76 с (2H, NH ₂), 6.88-7.60 м (10H, аром. + індоліз.), 7.76 д (1H ⁸ індоліз.), 9.3 д (1H ⁵ індоліз.), 9.51 с (1H, NH) |
| 3d | 3.73 с (3H, OMe), 5.75 с (2H, NH ₂), 6.89-7.68 м (10H, аром. + індоліз.), 7.8 д (1H ⁸ індоліз.), 9.3 д (1H ⁵ індоліз.), 9.49 с (1H, NH) |
| 3e | 2.5 с (3H, Me), 3.73 с (3H, OMe), 5.76 с (2H, NH ₂), 6.9-7.56 м (10H, аром. + індоліз.), 7.76 д (1H ⁸ індоліз.), 9.27 д (1H ⁵ індоліз.), 9.52 с (1H, NH) |
| 3f | 1.4 т (3H, CH ₃), 3.73 с (3H, OMe), 4.0 кв. (2H, CH ₂), 5.67 с (2H, NH ₂), 6.84-7.55 м (10H, аром. + індоліз.), 7.77 д (1H ⁸ індоліз.), 9.24 д (1H ⁵ індоліз.), 9.402 с (1H, NH) |
| 3g | 0.805 д (3H, CH ₃), 0.961 д (3H, CH ₃), 2.33 секст. (1H CH), 3.74 с (3H, OMe), 5.66 с (2H, NH ₂), 6.83-7.55 м (10H, аром. + індоліз.), 7.76 д (1H ⁸ індоліз.), 9.24 д (1H ⁵ індоліз.), 9.41 с (1H, NH) |
| 3h | 3.73 с (3H, OMe), 3.87 с (3H, OMe), 5.75 с (2H, NH ₂), 6.89-7.68 м (10H, аром. + індоліз.), 7.8 д (1H ⁸ індоліз.), 9.3 д (1H ⁵ індоліз.), 9.49 с (1H, NH) |
| 3i | 1.39 т (3H, CH ₃), 3.74 с (3H, OMe), 4.10 к. (2H, CH ₂), 5.67 с (2H, NH ₂), 6.84-7.55 м (10H, аром. + індоліз.), 7.77 д (1H ⁸ індоліз.), 9.24 д (1H ⁵ індоліз.), 9.402 с (1H, NH) |
| 3j | 3.74 с (3H, OMe), 5.74 с (2H, NH ₂), 6.89-7.77 м (11H, аром. + індоліз.), 9.27 д (1H ⁵ індоліз.), 9.5 с (1H, NH) |

Таблиця 3

Антирадикальна активність 2-аміно-3-R-бензоїл-N-(4-метоксифеніл)-1-індолізін-карбоксамідів 3a-j

| Сполука | Титр, мг/мл | Оптична густина | | | АОА, % |
|---------|--------------------|-----------------|-----------------|------------------------|--------|
| | | до інкубації | після інкубації | зміна оптичної густини | |
| 3a | Контроль | 0,525±0,002 | 0,1585±0,033 | 0,3665 | 0,0 |
| | 3•10 ⁻³ | 0,595±0,002 | 0,472±0,013 | 0,123 | 66,4 |
| | 3•10 ⁻⁵ | 0,521±0,005 | 0,260±0,036 | 0,261 | 28,9 |
| | 3•10 ⁻⁷ | 0,512±0,006 | 0,177±0,032 | 0,335 | 8,7 |
| 3b | Контроль | 0,525±0,002 | 0,080±0,012 | 0,445 | 0,0 |
| | 3•10 ⁻³ | 0,551±0,001 | 0,270±0,004 | 0,280 | 37,0 |
| | 3•10 ⁻⁵ | 0,526±0,005 | 0,200±0,023 | 0,326 | 26,8 |
| | 3•10 ⁻⁷ | 0,523±0,007 | 0,253±0,033 | 0,270 | 39,3 |
| 3c | Контроль | 0,525±0,002 | 0,1585±0,033 | 0,3665 | 0,0 |
| | 3•10 ⁻³ | 0,564±0,007 | 0,382±0,005 | 0,182 | 50,3 |
| | 3•10 ⁻⁵ | 0,523±0,014 | 0,269±0,045 | 0,254 | 30,7 |
| | 3•10 ⁻⁷ | 0,503±0,002 | 0,259±0,023 | 0,243 | 33,5 |
| 3d | Контроль | 0,525±0,002 | 0,080±0,012 | 0,445 | 0,0 |
| | 3•10 ⁻³ | 0,560±0,002 | 0,320±0,025 | 0,240 | 46,1 |
| | 3•10 ⁻⁵ | 0,512±0,003 | 0,209±0,030 | 0,302 | 32,1 |
| | 3•10 ⁻⁷ | 0,510±0,010 | 0,286±0,001 | 0,224 | 49,6 |
| 3e | Контроль | 0,461±0,007 | 0,385±0,012 | 0,076 | 0,0 |
| | 3•10 ⁻³ | 0,521±0,005 | 0,464±0,007 | 0,057 | 25,4 |
| | 3•10 ⁻⁵ | 0,468±0,009 | 0,397±0,012 | 0,070 | 7,50 |
| | 3•10 ⁻⁷ | 0,454±0,006 | 0,381±0,006 | 0,224 | 4,80 |
| 3f | Контроль | 0,461±0,007 | 0,385±0,012 | 0,076 | 0,0 |
| | 3•10 ⁻³ | 0,505±0,002 | 0,417±0,009 | 0,088 | -15,8 |
| | 3•10 ⁻⁵ | 0,469±0,001 | 0,395±0,002 | 0,074 | 2,20 |
| | 3•10 ⁻⁷ | 0,475±0,017 | 0,377±0,013 | 0,098 | -28,9 |
| 3g | Контроль | 0,461±0,007 | 0,385±0,012 | 0,076 | 0,0 |
| | 3•10 ⁻³ | 0,478±0,005 | 0,403±0,005 | 0,075 | 0,90 |
| | 3•10 ⁻⁵ | 0,483±0,019 | 0,370±0,018 | 0,113 | -49,1 |
| | 3•10 ⁻⁷ | 0,454±0,004 | 0,328±0,003 | 0,126 | -65,4 |
| 3h | Контроль | 0,512±0,001 | 0,402±0,001 | 0,110 | 0,0 |
| | 3•10 ⁻³ | 0,547±0,005 | 0,416±0,011 | 0,131 | -18,8 |
| | 3•10 ⁻⁵ | 0,425±0,012 | 0,306±0,005 | 0,119 | 30,4 |
| | 3•10 ⁻⁷ | 0,506±0,005 | 0,300±0,013 | 0,205 | 14,9 |
| 3i | Контроль | 0,512±0,001 | 0,402±0,001 | 0,110 | 0,0 |
| | 3•10 ⁻³ | 0,550±0,008 | 0,436±0,009 | 0,114 | -3,60 |
| | 3•10 ⁻⁵ | 0,505±0,002 | 0,395±0,010 | 0,110 | 12,9 |
| | 3•10 ⁻⁷ | 0,514±0,007 | 0,318±0,043 | 0,196 | -110,0 |
| 3j | Контроль | 0,500±0,001 | 0,385±0,001 | 0,115 | 0,0 |
| | 3•10 ⁻³ | 0,586±0,004 | 0,436±0,006 | 0,150 | -30,3 |
| | 3•10 ⁻⁵ | 0,514±0,016 | 0,308±0,005 | 0,206 | -10,5 |
| | 3•10 ⁻⁷ | 0,498±0,011 | 0,257±0,017 | 0,241 | -63,3 |

слідних розчинів паралельно проводили контрольну пробу, що не містила розчинів препаратів. При цьому оптичну густина розчинів вимірювали до та після інкубації. Математичну обробку отриманих даних проводили методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента [9].

Слід відмітити, що речовина 3a зменшує свою АОА прямо пропорційно концентрації (із зменшення титру речовини її АОА зменшується відповідно).

Характерно, що антирадикальна активність сполук 3d, 3b, 3c практично не залежить від кінцевої концентрації титру. При цьому для речовин 3b та 3d їх найменша концентрація (10⁻⁷ мг/мл) харак-

теризується максимальним значенням АОА, відповідно 39,3 та 49,6%. Це наводить на думку про можливість використання мінімальних концентрацій у подальших дослідженнях цих сполук.

Співставляючи характер та природу замісників у бензоїльному залишку в третьому положенні системи та ступінь антирадикальної дії сполук 3a, 3b, 3c, 3d, можна відмітити, що наявність галогенів у сполуках 3d, 3b, 3c (відповідно -F, -Br, -Cl) стабілізує АОА даних речовин при зменшенні їх титру.

Аналіз активності сполук 3f, 3g, 3h, 3i, що в якості замісників містять алкільні та алкоксигрупи, свідчить про суттєве зниження антиокси-

дантною та посилення прооксидантної активності. При цьому у сполук 3f, 3g та 3i зниження концентрації посилює прооксидантну дію, а у речовини 3h при зменшенні концентрації прооксидантна активність змінюється на антиоксидантну. Що стосується сполуки 3j ($R=NO_2$), то вона в усіх дослідних концентраціях є прооксидантом, при цьому найбільш виражена активність спостерігається при мінімальній концентрації.

Експериментальна частина

Спектри ЯМР 1H синтезованих сполук записано на приладі Bruker-300, робоча частота — 300 МГц, розчинник ДМСО- d_6 , внутрішній стандарт — ТМС.

Загальна методика синтезу 2-аміно-3-R-бензоїл-N-(4-метоксифеніл)-1-індолізинкарбоксамідів (3a-j). До 0,01 Моль четвертинної солі 2-бromo-1-(2-оксо-2-арилетил) піридинію броміду 1a-j в 10 мл абсолютного ДМФА додають 0,015 Моль 2-ціано-N-(4-метоксифеніл)ацетаміду 2 та 0,03 Моль триетиламіну. Реакційну суміш нагрівають на водяній бані протягом чотирьох годин, після чого охолод-

жують і виливають у воду. Фільтрують, кристалізують із суміші етиловий спирт — ДМФА 3:1 або толуену.

Висновки

1. На основі реакції броміду 2-бromo-1-(2-оксо-2-арилетил) піридинію з заміщеними амідами ціанооцтової кислоти запропонований метод синтезу 2-аміно-3-R-бензоїл-N-(4-метоксифеніл)-1-індолізин карбоксамідів.

2. Синтезовані речовини 3a, 3b, 3c, 3d, 3e в усіх дослідних концентраціях проявляють антиоксидантну активність.

3. Ступінь антиоксидантної дії для речовин 3b, 3c, 3d суттєво залежить від характеру замісників, а для сполук 3a та 3e — відповідно, від концентрації речовини.

4. 2-Аміно-3-R-бензоїл-N-(4-метоксифеніл)-1-індолізин карбоксаміди мають виражену анти- та прооксидантну дію та можуть бути рекомендовані для подальших фармакологічних досліджень як потенційні речовини — регулятори вільнорадикальних процесів у клітині.

Література

1. Салдабол Н.О., Алексеева Л.Н., Бризга Б.А. и др. // *Хим.-фармац. журн.* — 1970. — №4. — С. 20.
2. Casagrande C., Invernizzi A., Ferrini R., Miragoli G. // *Il Farmaco (Ital.)*. — 1971. — Vol. 26. — P. 1056.
3. Negwer M. *Organic chemical drugs and their synonyms*. — Akademie Verlag, Berlin, 1994. — Vol. 1-4.
4. Хайрулін А.Р., Демченко А.М., Смольський О.С., Лозинський М.О. // *Фармац. журн.* — 2006. — №6. — С. 58 — 61.
5. Blank B. // *J. Med. Chem.* — 1978. — Vol. 21. — P. 489-492.
6. Pauls H., Krohnke F. // *Chem. Ber.* — 1977. — Vol. 110. — P. 1294-1303.
7. *Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідях in vitro: Метод. рекоменд.* — К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. — 26 с.
8. Губен-Вейль. *Методы органической химии*. — 2-е изд., стер. — Т. 2. *Методы анализа*. — М.: Химия, 1967. — 1032 с.
9. Лакин Г.В. *Биометрия*. — М.: Высш. шк., 1990. — 351 с.

Надійшла до редакції 24.10.2007 р.

УДК 547.565.2 : 582 + 544.25

СИНТЕЗ И МЕЗОГЕННАЯ СПОСОБНОСТЬ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ 1,3-ДИГИДРОКСИБЕНЗОЛА, СОДЕРЖАЩИХ ЛАТЕРАЛЬНЫЙ ЗАМЕСТИТЕЛЬ

Н.С.Новикова, Р.В.Кондратьева, Е.Д.Килименчук, А.В.Мазепа

Физико-химический институт им. А.В.Богатского НАН Украины, 65080, г. Одесса, Люстдорфская дорога, 86. E-mail: physchem@paco.net

Ключевые слова: 4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензойные кислоты; бананоподобные соединения; мезоморфные свойства

Ранее неизвестные 1,3-бис [4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензоилокси]бензолы получены взаимодействием 1,3-дигидроксибензола с 4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензоилхлоридами. Приведены данные исследования ПМР и мезоморфных свойств. Высказаны предположения о влиянии строения на мезогенную способность синтезированных бананоподобных соединений.

THE SYNTHESIS AND MESOGENIC ABILITY OF 1,3-DIHYDROXYBENZENE ESTERS WITH THE LATERAL SUBSTITUTE

N.S.Novikova, R.V.Kondratyeva, Ye.D.Kilimenchuk, A.V.Mazepa

The previously unknown 1,3-bis[4(4-n-alkoxybenzoyloxy) 3-bromobenzoyloxy]benzenes have been prepared by the interaction of 1,3-dihydroxybenzene with 4(4-n-alkoxybenzoyloxy)-3-bromobenzoylchlorides. The research data of NMR and mesomorphic properties have been given. The suggestions about the influence of the structure on the mesogenic ability of the banana-like compounds synthesized have been made.

СИНТЕЗ ТА МЕЗОГЕННА ЗДАТНІСТЬ СКЛАДНИХ ЕСТЕРІВ 1,3-ДИГІДРОКСИБЕНЗОЛУ, ЩО МІСТЯТЬ ЛАТЕРАЛЬНИЙ ЗАМІСНИК

Н.С.Новікова, Р.В.Кондратьєва, О.Д.Килименчук, О.В.Мазєпа

Раніше невідомі 1,3-біс[4(4-алкоксибензоїлокси)бензоли отримано взаємодією 1,3-дигідроксибензолу з 4(4-н-алкоксибензоїлокси)-3-бромбензоїлхлоридами. Наведені дані досліджень ПМР та мезоморфних властивостей. Висловлено припущення про вплив будови на мезогенну здатність синтезованих бананоподібних сполук.

Известно, что введение в ароматические циклы бананоподобных соединений латеральных заместителей, связанных с концевыми алкил- либо алкоксигруппами, обычно не приводит к потере жидкокристаллических свойств [1, 2]. Например, 1,3-бис[4(4-алкокси-2,3-дифторфенилэтинил)бензоилокси] бензолы (1а) в зависимости от длины концевого алкоксильного фрагмента образуют мезотропную мезофазу смектического А-типа (n=4) либо метастабильную антиферроэлектрическую фазу [1] (схема 1).

Относительно влияния на мезоморфные свойства бананоподобных молекул заместителей, находящихся в ароматическом цикле, прилегающем к центральному фрагменту, известны сложные эфиры 1,3-гидроксибензола (1 с, 1 d), которые содержат семь ароматических циклов [3].

Незамещенные соединения серии 1 с обладают банановой смектикой модификации В₁ и В₂ (n=11, 12) в высокотемпературной области. Введение фтора понижает температуру фазового перехода в изотропную жидкость на 40°С, хлора — на 60°С, метильной или метоксигруппы — примерно в

1,5-1,7 раза, но при этом В₂-мезофаза становится монотропной и узкотемпературной.

Перечисленные факторы отрицательно влияют на возможность практического применения подобных соединений в композициях для жидкокристаллических дисплеев, поэтому представлялось целесообразным синтезировать сложные эфиры 1,3-гидроксибензола, включающие пять ароматических циклов и содержащие в бензольном цикле, связанном центральным фрагментом, бром в качестве латерального заместителя с целью понизить температурную область существования мезофазы.

Синтез 1,3-бис [4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензоилокси]бензолов был осуществлен по следующей схеме (см. схему 2).

3-Бром-4-бензойная кислота 2 была получена по известной методике [4] и было проведено её ацилирование хлорангидами 4-н-алкоксибензойных кислот 3 а-d [5] в среде безводного пиридина. В качестве промежуточных соединений были получены 4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензойные кислоты 4 а-d [6]. Индивидуальность

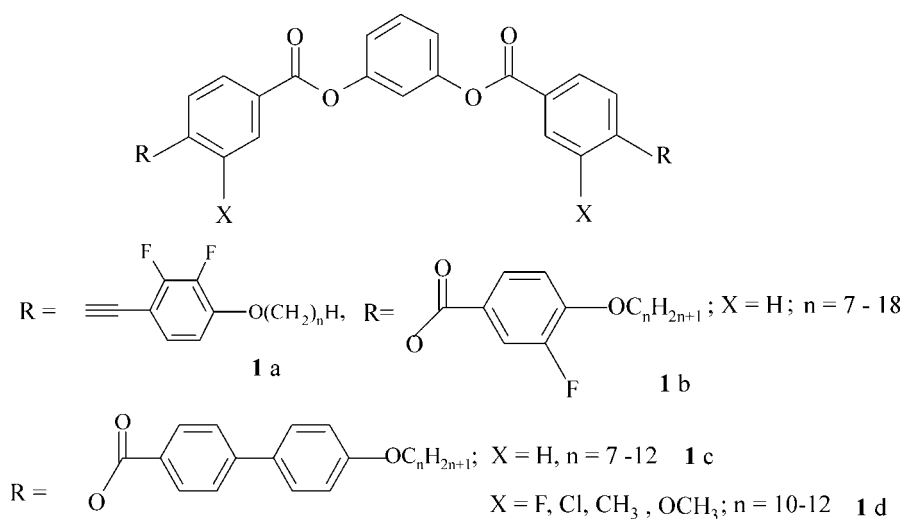


Схема 1

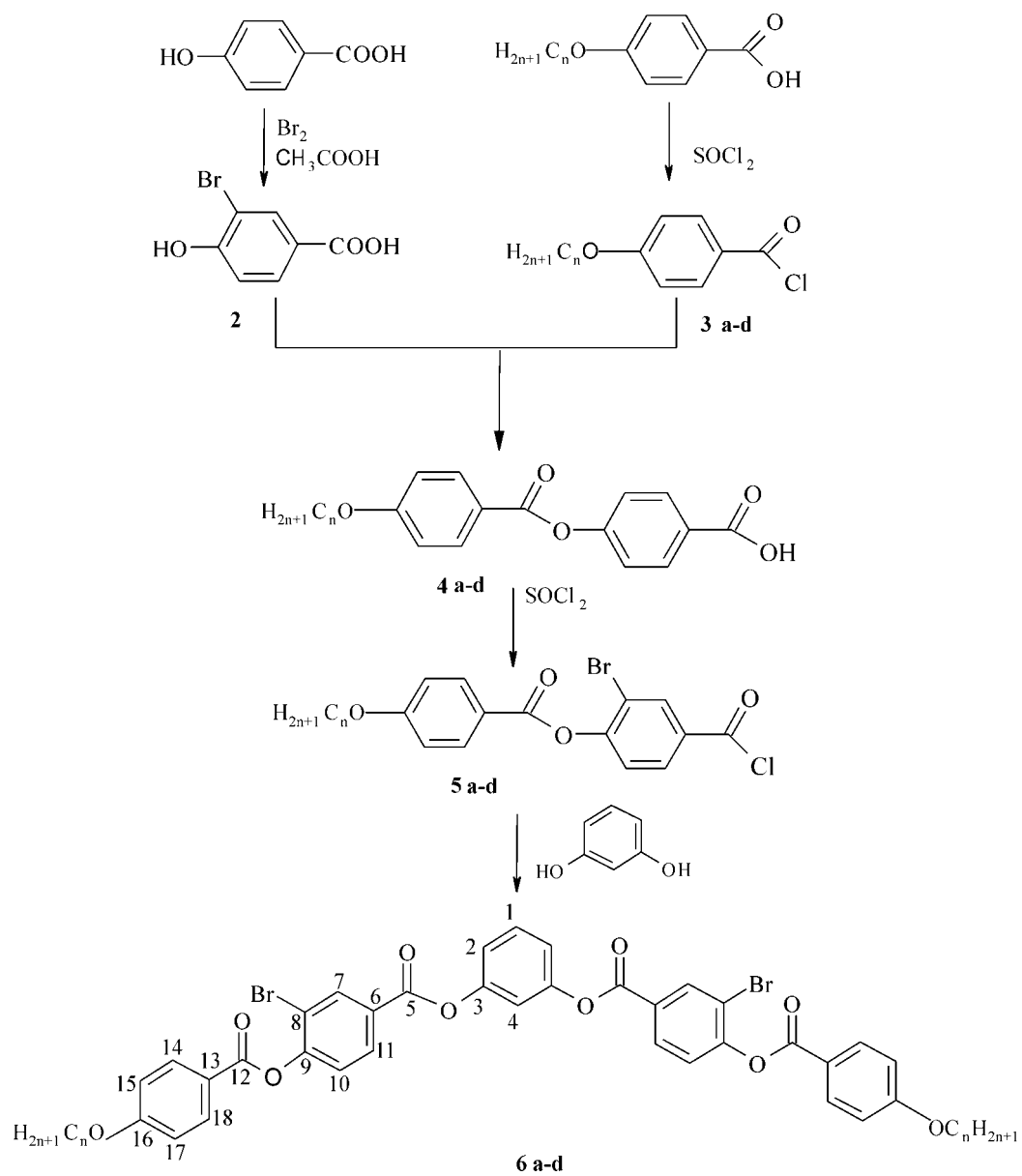


Схема 2

Таблица 1

Физико-химические и мезоморфные свойства 4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензойных кислот 4 a-d

| № соед. | R | ИК-спектр, см ⁻¹ , ν C=O | Масс-спектр | Температуры фазовых переходов | | | | |
|---------|---------------------------------|--|-------------|-------------------------------|---------------------------|--------|----------------|----|
| | | | | Cr | °C | N | °C | I |
| 4 a | C ₈ H ₁₇ | 1690, 1730 | 448 | • | 111,0 (93,0) | • | 173 | • |
| 4 b | C ₉ H ₁₉ | 1690, 1725 | 462 | • | 144 (117) | • | 182,8 | • |
| 4 c | C ₁₀ H ₂₁ | 1690, 1730 | 476 | • | 117 (103,4) | • | 186,6 | • |
| 4 d | C ₁₆ H ₃₃ | 1690, 1730 | 561 | • • | 113,3 97,4 (SmC 110,6) | • • | 161,4 160,8 | •• |

- a) Cr - твердый кристалл;
 b) N - нематическая фаза;
 c) Sm - смектическая фаза;
 d) I - изотропная жидкость;
 e) (•) - монотропная мезофаза, наблюдаемая при охлаждении образца.

соединений 4 a-d подтверждена методом тонко-слоистой хроматографии, а строение доказано данными ИК- и ЯМР ¹H-спектроскопии. Значения температур фазовых переходов, определенные методом поляризационной микроскопии, и тип мезофазы соединений 4 a-d представлены в табл. 1.

Все синтезированные 4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензойные кислоты 4 a-d являются мезоморфными, им присущ нематический мезоморфизм, у высшего гомолога 4 d дополнительно появляется смектическая фаза.

Конечные 1,3-бис[4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензоилокси]бензолы 6 a-d получены взаимодействием 1,3-дигидроксибензола с хлорангидридами соответствующих 4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензойных кислот 5 a-d в среде абсолютного эфира с использованием триэтиламина в качестве основания для связывания хлористого водорода. Строение соединений 6 a-d установлено методами ИК- и ЯМР ¹H-спектроскопии и масс-спектрометрии в режиме бомбардировки быстрыми атомами (ББА).

Физико-химические свойства и спектральные данные 1,3-бис-[4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензоилокси]бензолов 6 a-d представлены в табл. 2.

Известны незамещенные аналоги соединений 6 a ("банановая" мезофаза модификации В₁ в

области 111-121°C) [7] и 6d (сегнетоэлектрическая мезофаза В₂ в интервале 108-120°C)[8].

Таким образом, введение атома брома в ароматический цикл, примыкающий к центральному фрагменту, понижает температуру плавления ~ на 20°C по сравнению с незамещенными аналогами и приводит к исчезновению мезоморфных свойств у соединений с длиной концевого алкильного фрагмента C₈H₁₇-C₁₀H₂₁, высший гомолог (C₁₆H₃₃) проявляет мезоморфные свойства в узкотемпературном интервале, мезофазу идентифицировать не удалось. Вероятно, наличие такого объемного латерального заместителя как бром привело к взаимному отталкиванию боковых фрагментов друг от друга и к изменению конформации молекулы в целом, вследствие чего послойная упаковка молекул, необходимая для образования "банановой" мезофазы, не смогла быть реализована. Соединение 6 d отличается от предыдущих гомологов тем, что в качестве боковых фрагментов использована кислота 4 a, которая обладает не только нематической, но и смектической модификацией мезофазы.

Кроме того, методом компьютерного моделирования в работе [9] было показано, что при формировании мезофазы молекулами изогнутой формы должны учитываться такие факторы как угол изгиба между боковыми фрагментами и отношение длины бокового фрагмента к его ширине (L/D). Авторы пришли к заключению, что оптимальными для образования "банановой" мезофазы будут молекулярные структуры с углом изгиба 90-135° и отношением L/D ≥ 5.

Экспериментальная часть

ИК-спектры записаны на спектрофотометре Specord IR-75 в растворах CHCl₃.

Спектры ЯМР ¹H изученных соединений записаны на спектрометре Varian VXR-300 с рабочей частотой 300 МГц, внутренний стандарт — TMS. Масс-спектры получены на спектрометре

Таблица 2

Характеристики синтезированных соединений 6 a-d

| № соед. | R | ИК-спектр, см ⁻¹ , ν C=O | Масс-спектр [M+Na] ⁺ | Т. пл., °C |
|---------|---------------------------------|--|------------------------------------|------------------------------------|
| 6 a | C ₈ H ₁₇ | 1735 | 995 | 90,0 |
| 6 b | C ₉ H ₁₉ | 1730 | 1023 | 104,0 |
| 6 c | C ₁₀ H ₂₁ | 1730 | 1051 | 86,6 |
| 6 d | C ₁₆ H ₃₃ | 1730 | 1219 | 79,0 M _x 79,2 (51,6) |

- a) M_x - неидентифицированная мезофаза.

МХ-1321 с применением системы прямого ввода при энергии ионизирующих электронов 70 эВ и температуры камеры ионизации 220°C, а также на масс-спектрометре VG 70-70EQ в режиме ББА с использованием пучка атомов Хе с энергией 8 кВ. Температуры фазовых переходов изучали методом поляризационной микроскопии на микроскопе ПОЛАМ Р-312.

Контроль за протеканием реакций и чистотой синтезированных соединений проводили методом ТСХ на пластинках Silufol UV-254 с последующим проявлением в УФ-свете. Очистка соединений осуществлялась перекристаллизацией из смеси спирта с бензолом (4:1) и последующей колоночной хроматографией (силикагель L 5/40, элюент хлороформ : ацетон = 10 : 1). Температуры фазовых переходов изучали методом поляризационной микроскопии на микроскопе ПОЛАМ Р-312.

3-Бром-4-гидроксibenзойная кислота 2. Получена в условиях, описанных в работе [6]. Выход — 65%, Т.пл. — 178°C (лит.: Т.пл. — 177.5°C [4]).

Хлорангидриды 4-алкоксибензойных кислот (3 а-d) получали по методике [5].

Соединение 3 а. Выход — 83,7%, Т.кип. — 208-9°C (1 мм рт. ст.) $n_D^{20} = 1,5350$.

Соединение 3 в. Выход — 68,4%, Т.кип. — 215°C (1 мм рт. ст.).

Соединение 3 с. Выход — 78%, Т.кип. — 196°C (3 мм рт. ст.) $n_D^{20} = 1,5230$.

Соединение 3 d. Выход — 95,2%, Т.пл. — 50°C.

4(4-н-Алкоксибензоилокси)-3-бромбензойные кислоты (4 а-d) [6].

К суспензии 0,024 Моль 3-бром-4-гидроксibenзойной кислоты 2 в 30 мл безводного пиридина по каплям прибавляли 0,024 Моль хлорангидрида соответствующей алкоксибензойной кислоты и перемешивали при 20°C в течении 21 часа. Реакционную смесь выливали в ледяную воду, которая подкислялась соляной кислотой до pH 2. Выпал белый кристаллический осадок, который отфильтровали, промыли водой до pH 7,0, сушили и суспендировали в холодном спирте (~300 мл) и снова отфильтровали. Сушили и кристаллизовали из бензола.

4(4-н-Октилоксибензоилокси)-3-бромбензойная кислота (4 а). Выход — 77,3%. Спектр ЯМР ^1H , CDCl_3 , δ , м.д.: 0,89 т (3H, CH_3), 1,16-1,40 м (8H, CH_2), 1,41-1,56 м (2H, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O}$), 1,75-1,89 м (2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4,06 т (2H, CH_2O), 7,00 д (2H, Ar), 7,43 д (1H, ArBr), 8,11-8,13 д.д (1H, ArBr), 8,20 д (2H, Ar), 8,42 д (1H, ArBr).

4(4-Нонилоксибензоилокси)-3-бромбензойная кислота (4в). Выход — 64%. Спектр ЯМР ^1H , CDCl_3 , δ , м.д.: 0,89 т (3H, CH_3), 1,19-1,41 м (10H, CH_2), 1,41-1,55 м (2H, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O}$), 1,77-1,89 м (2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4,06 т (2H, CH_2O), 6,99 д (2H, Ar), 7,43 д (1H, ArBr), 8,12-8,14 д.д (1H, ArBr), 8,20 д (2H, Ar), 8,42 д (1H, ArBr).

4(4-н-Децилоксибензоилокси)-3-бромбензойная кислота (4 с). Выход — 5,7 г (46%). Спектр ЯМР ^1H , CDCl_3 , δ , м.д.: 0,89 т (3H, CH_3), 1,15-1,41 м (12H,

CH_2), 1,41-1,55 м (2H, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O}$), 1,76-1,89 м (2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4,06 т (2H, CH_2O), 6,99 д (2H, Ar), 7,43 д (1H, ArBr), 8,11-8,13 д.д (1H, ArBr), 8,20 д (2H, Ar), 8,42 д (1H, ArBr).

4(4-н-Гексадецилоксибензоилокси)-3-бромбензойная кислота (4 d). Выход — 73%. Спектр ЯМР ^1H , CDCl_3 , δ , м.д.: 0,88 т (3H, CH_3), 1,18-1,41 м (24H, CH_2), 1,42-1,56 м (2H, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O}$), 1,74-1,92 м (2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4,06 т (2H, CH_2O), 7,00 д (2H, Ar), 7,42 д (1H, ArBr), 8,11-8,13 д.д (1H, ArBr), 8,19 д (2H, Ar), 8,42 д (1H, ArBr).

Хлорангидриды 4(4-алкоксибензоилокси)-3-бромбензойных кислот (5 а-d). Получали взаимодействием 0,0074 Моль соответствующей 4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензойной кислоты с 0,0148 Моль хлористого тионила в 30 мл абсолютного бензола. К раствору кислоты в абсолютном бензоле при охлаждении и постоянном перемешивании по каплям прибавляли хлористый тионил. Через 30 мин охлаждение убирали и 9 часов кипятили реакционную смесь на водяной бане. Избыток бензола и хлористого тионила отгоняли при пониженном давлении, к остатку добавляли 15 мл абсолютного бензола и снова отгоняли при пониженном давлении. В последующий синтез брали без дополнительной очистки.

1,3-Бис-4[(4-н-алкоксибензоилокси)3-бромбензоилокси]бензолы (6 а-d). В раствор 0,0028 Моль 1,3-дигидроксibenзола в 10 мл абсолютного эфира прибавляли 0,8 мл триэтиламина. Затем по каплям добавляли в течение часа раствор 0,0056 Моль хлорангидрида 4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензойной кислоты в абсолютном эфире при комнатной температуре. Реакционную смесь оставляли на ночь, после этого снова перемешивали 4 часа. Осадок, который выпал, отфильтровали, фильтрат отогнали при пониженном давлении. В полученное густое масло добавляли спирт для кристаллизации. Затем кристаллизовали из смеси этанол : бензол = 2 : 1 и подвергали очистке методом колоночной хроматографии (силикагель L5/40, элюент хлороформ : бензол = 2 : 1). После этого кристаллизовали дважды из смеси абсолютного спирта с безводным бензолом.

1,3-Бис 4 [(4-н-октилоксибензоилокси)-3-бромбензоилокси]бензол (6а). Выход — 27,1%. Спектр ЯМР ^1H , DMSO-d_6 , δ , м.д.: 0,86 т (6H, CH_3); 1,15-1,52 м (20H, CH_2); 1,68-1,85 м (4H, CH_2); 4,11 т (4H, CH_2O); 7,14 д (4H, H-15-17); 7,32-7,34 д.д (2H, H-2); 7,42 т (1H, H-4); 7,60 т (1H, H-1); 7,68 д (2H, H-10); 8,12 д (4H, H-14-18); 8,21-8,24 д.д (2H, H-11); 8,44 с (2H, H-7).

1,3-Бис-4[(4-н-нонилоксибензоилокси)-3-бромбензоилокси]бензол (6в). Выход — 25,4%. Спектр ЯМР ^1H , DMSO-d_6 , δ , м.д.: 0,86 т (6H, CH_3); 1,52-1,15 м (24H, CH_2); 1,85-1,68 м (4H, CH_2); 4,11 т (4H, CH_2O); 7,14 д (4H, H-15-17); 7,34-7,32 д.д (2H, H-2); 7,42 т (1H, H-4); 7,60 т (1H, H-1); 7,68 д (2H, H-10); 8,12 д (4H, H-14-18); 8,24-8,21 д.д (2H, H-11); 8,44 с (2H, H-7).

1,3-Бис 4 [(4-н-децилоксибензоилокси)-3-бром-бензоилокси]бензол (6с). Выход — 27,8%. Спектр ЯМР ^1H , DMSO- d_6 , δ , м.д.: 0,86 т (6H, CH_3); 1,52-1,15 м (28H, CH_2); 1,85-1,68 м (4H, CH_2); 4,11 т (4H, CH_2O); 7,14 д (4H, H-15-17); 7,34-7,32 д.д (2H, H-2); 7,42 т (1H, H-4); 7,60 т (1H, H-1); 7,68 д (2H, H-10); 8,12 д (4H, H-14-18); 8,24-8,21 д.д (2H, H-11); 8,44 с (2H, H-7).

1,3-Бис-4[(4-н-гексадецилоксибензоилокси)бром-бензоил]бензол (6d). Выход — 23,1%. Спектр ЯМР ^1H , DMSO- d_6 , δ , м.д.: 0,86 т (6H, CH_3); 1,54-1,20 м (52H, CH_2); 1,85-1,68 м (4H, CH_2); 4,11 т (4H, CH_2O); 7,14 д (4H, H-15-17); 7,34-7,32 д.д (2H, H-2); 7,42 т (1H, H-4); 7,60 т (1H, H-1); 7,68 д(2H,

H-10); 8,12 д (4H, H-14-18); 8,24-8,21 д.д (2H, H-11); 8,44 с (2H, H-7).

Выводы

1. Впервые синтезированы сложные эфиры 1,3-дигидроксибензола бананоподобной формы, содержащие бром в боковых фрагментах, и изучены их мезоморфные свойства.

2. Установлено, что введение брома в качестве латерального заместителя приводит к потере мезогенной способности 1,3-бис[4(4-н-алкоксибензоилокси)-3-бромбензоилокси] бензолами, которая восстанавливается у высшего гомолога, содержащего шестнадцать атомов углерода в концевой алкоксигруппе.

Литература

1. Kan Wang, Antal Jakli, Hengfeng Li et al. // *Liquid Crystals*. — 2001. — Vol. 28, №11. — P.1705-1708.
2. Amaranatha R., Sadashiva B.K. // *J. Mater. Chem.* — 2002. — Vol. 12. — P. 2627-2632.
3. Sadashiva B.K., Shreenivosa Murthy H.N., Surajit Dhara // *Liquid Crystals*. — 2001. — Vol. 28, №12. — P. 483-487.
4. Gray G.W., Brynmor J. // *J. Chem. Soc.* — 1954. — P. 2556-2562.
5. Вейганд-Хильгетаг. *Методы эксперимента в органической химии*. — М.: Химия, 1968. — 944 с.
6. Новікова Н.С. Кулименчук О.Д., Кондратьєва Р.В., Деркач Л.Г. Пат. UA5633(2005)Україна. — БИ. — 2005. — №3.
7. Pelzl G., Diele S., Weissflog W. // *Advanced Mat.* — 1999. — Vol. 11, №9. — P. 707-725.
8. Remko A., Ruud C., Marcel G. // *Liquid Crystals*. — 2004. — Vol. 31, №8. — P. 1167-1174.
9. Yves Lansac, Prabal K.Maiti, Noel A. Clark et al. // *Phys.Rev.* — 2003. — Vol. 67. — 011703.

Надійшла до редакції 27.06.2007 р.

УДК 547.853 + 547.854 : 57.083.3

ІМУНОМОДУЛЮЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ НОВИХ ФЕНІЛСУЛЬФОНІЛЬНИХ ПОХІДНИХ ПІРИМІДИНОВИХ ТА ПІРАЗОЛО[1,5-а]ПІРИМІДИНОВИХ ОСНОВ

Л.О.Метелиця, Л.Л.Чарочкіна, С.Є.Могилевич, С.Р.Сливчук, В.С.Броварець, Б.С.Драч

Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, 02660, м. Київ, вул. Мурманська, 1. E-mail: brovarets@bpci.kiev.ua

Ключові слова: фенілсульфонілзаміщені піримідини та піразоло[1,5-а]піримідини; імуномодулятори; спленоцити; тимоцити; лейкоцити; фагоцити

Вивчено імуномодулюючий вплив нових фенілсульфонільних похідних піримідинових та піразоло[1,5-а]піримідинових основ на клітинні і гуморальні реакції та неспецифічну резистентність організму мишей.

IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF NEW PHENYLSULFONYL DERIVATIVES OF PYRIMIDINE AND PYRAZOLO[1,5-a]PYRIMIDINE BASES

L.A.Metelitsa, L.L.Charochkina, S.Ye.Mogilevich, S.R.Slivchuk, V.S.Brovarets, B.S.Drach
Influence of new phenylsulfonyl derivatives of pyrimidines and pyrazolo[1,5-a]pyrimidines bases on the cellular and humoral reactions and non-specific resistance of the mouse's organism has been studied.

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НОВЫХ ФЕНИЛСУЛЬФОНИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНОВЫХ И ПИРАЗОЛО[1,5-а]ПИРИМИДИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ

Л.А.Метелица, Л.Л.Чарочкина, С.Е.Могилевич, С.Р.Сливчук, В.С.Броварець, Б.С.Драч
**Исучено иммуномодулирующее влияние новых фенілсульфонільных производных пири-
мидинових и пиразоло[1,5-а]пириимидинових оснований на клеточные и гуморальные
реакции, а также неспецифическую резистентность организма мышей.**

Відомо, що імунна система призначена для захисту організму від ендогенних та екзогенних чинників. Складний механізм дії цієї системи направлений, головним чином, на зберігання та підтримку антигенного гомеостазу організму. Генетичні фактори, гормональний статус, вплив зовнішніх, у тому числі терапевтичних агентів, хірургічні втручання, патологічні стани різної етіології та т.п. нерідко супроводжуються розвитком імунодефіцитних станів різного ступеня виразності. Тому актуальною залишається проблема пошуку ефективних специфічних імуномодуляторів. До них можна віднести препарати хімічної чи біологічної природи, здатні ефективно модулювати (стимулювати чи пригнічувати) реакції імунітету в результаті впливу на імунокомпетентні клітини: на процеси міграції, взаємодію клітин, лімфокінів, монокінів та інтерферонів з відповідними мішенями.

Метою цієї роботи було дослідження імуномодулюючих властивостей недавно синтезованих [1, 2] фенілсульфонільних похідних піримідинових основ (1-7) та їх конденсованих аналогів (8-14), які містять піразоло[1,5-а]піримідинову систему. До першої групи субстратів віднесені похідні урацилу (1-4), 2-тіоурацилу (5), цитозину (6), 2-тіоци-

тозину (7), що містять фенілсульфонільну групу в положенні 5 піримідинового ядра. Разом з цим друга група субстратів об'єднує заміщені піразоло[1,5-а]піримідини (8-12), а також їх три- і чотириядерні аналоги (13, 14), які містять фенілсульфонільну групу в піразольному фрагменті.

Для всіх 14 споріднених похідних азотистих гетероциклів, представлених на схемі, одержані експериментальні дані про їх вплив не тільки на клітинні та гуморальні реакції імунітету, але й на неспецифічну резистентність організму.

В експерименті використовували нелінійних мишей-самок масою 15-20 г. Еквімольні кількості досліджуваних сполук розчиняли в 0,1 мл ДМСО, аліквоту цього розчину емульгували в 2,5 мл фізіологічного розчину [3]. Тваринам внутрішньоорально вводили емульсію з розрахунку $2 \cdot 10^{-4}$ Моль відповідної сполуки на 100 г маси тіла (0,1 мл/10 г). Для контролю використовували мишей, яким замість досліджуваних сполук вводили ДМСО у фізіологічному розчині. Крім цього, для з'ясування впливу ДМСО на всі показники використовували інтактних тварин.

Через 24 год мишей декапітували і проводили кількісне дослідження ефекторних тимоцитів та спленоцитів у камері Горяєва [4]. Фагоцитарну

Таблиця

Вплив сполук на проліферативну активність імункомпетентних клітин лімфоїдних органів та фагоцитарну активність поліморфноядерних лейкоцитів крові мишей ($M \pm m$, $n = 6$)

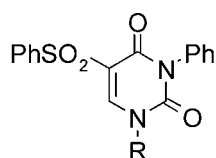
| Номер сполуки | Кількість тимоцитів на 1 г тимусу $\times 10^{-8}$ (% до контролю) | Кількість спленоцитів на 1 г селезінки $\times 10^{-8}$ (% до контролю) | Кількість фагоцитів на 100 ПМЯЛ (% до контролю) |
|----------------|--|---|---|
| Контроль | 17,8 \pm 1,2 | 21,6 \pm 0,9 | 61,0 \pm 2,8 |
| Інтактна група | 19,0 \pm 1,3 | 20,3 \pm 1,0 | 62,5 \pm 3,5 |
| 1 | 14,6 \pm 0,6 (82) | 23,6 \pm 1,8 (109) | 35,0 \pm 2,8 (57)* |
| 2 | 16,1 \pm 0,9 (90) | 24,0 \pm 2,0 (111) | 26,7 \pm 1,7 (44)* |
| 3 | 15,8 \pm 1,2 (89) | 22,3 \pm 1,2 (103) | 38,7 \pm 1,9 (63)* |
| 4 | 17,0 \pm 1,6 (96) | 24,5 \pm 2,1 (113) | 56,0 \pm 3,1 (92) |
| 5 | 28,3 \pm 1,1 (159)* | 18,6 \pm 1,4 (86) | 20,7 \pm 1,6 (34)* |
| 6 | 19,3 \pm 1,4 (108) | 21,8 \pm 2,0 (101) | 53,3 \pm 2,6 (87) |
| 7 | 18,7 \pm 1,6 (105) | 23,5 \pm 1,5 (109) | 54,3 \pm 2,5 (89) |
| 8 | 11,8 \pm 0,8 (66)* | 15,7 \pm 0,2 (73)* | 29,3 \pm 2,0 (48)* |
| 9 | 14,9 \pm 1,0 (84) | 11,9 \pm 1,1 (55)* | 33,7 \pm 2,2 (55)* |
| 10 | 15,7 \pm 0,9 (88) | 14,0 \pm 1,0 (65)* | 35,0 \pm 2,3 (57)* |
| 11 | 15,2 \pm 0,9 (85) | 13,1 \pm 1,2 (61)* | 31,7 \pm 2,4 (52)* |
| 12 | 19,9 \pm 1,4 (112) | 15,0 \pm 0,6 (69)* | 29,7 \pm 2,0 (49)* |
| 13 | 13,8 \pm 0,8 (78)* | 17,0 \pm 1,0 (79)* | 64,7 \pm 2,5 (106) |
| 14 | 12,0 \pm 0,5 (67)* | 10,5 \pm 0,9 (49)* | 69,3 \pm 1,2 (114)* |

* Значення достовірно відрізняється від контрольного ($p < 0,05$).

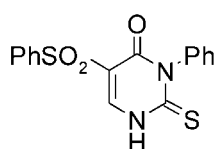
активність поліморфноядерних лейкоцитів (ПМЯЛ) крові вивчали *in vitro* [5], використовуючи культуру *Staphylococcus aureus* (штам №209). Отримані результати після статистичної обробки [6] представлені у таблиці. В інтактній і контрольній гру-

пах отримані експериментальні дані, які практично не відрізнялися ($< 10\%$).

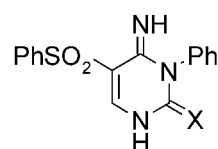
Для первинної оцінки впливу біоактивних сполук на гуморальну ланку імунної системи важливим критерієм є кількісний аналіз клітинного



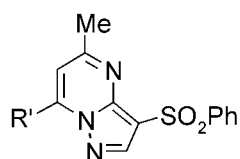
1-4



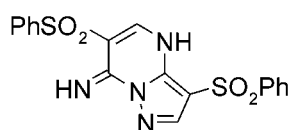
5



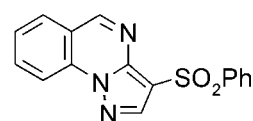
6, 7



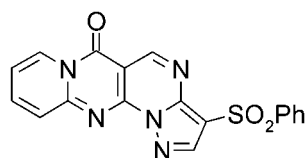
8-11



12



13



14

Схема.

R = H (1), $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2$ (2), $\text{BrCH}_2\text{CHBrCH}_2$ (3), $n\text{-C}_3\text{H}_7$ (4); X = O (6), S (7); R' = Me (8), HO (9), PhCH_2NH (10), PhCH_2S (11).

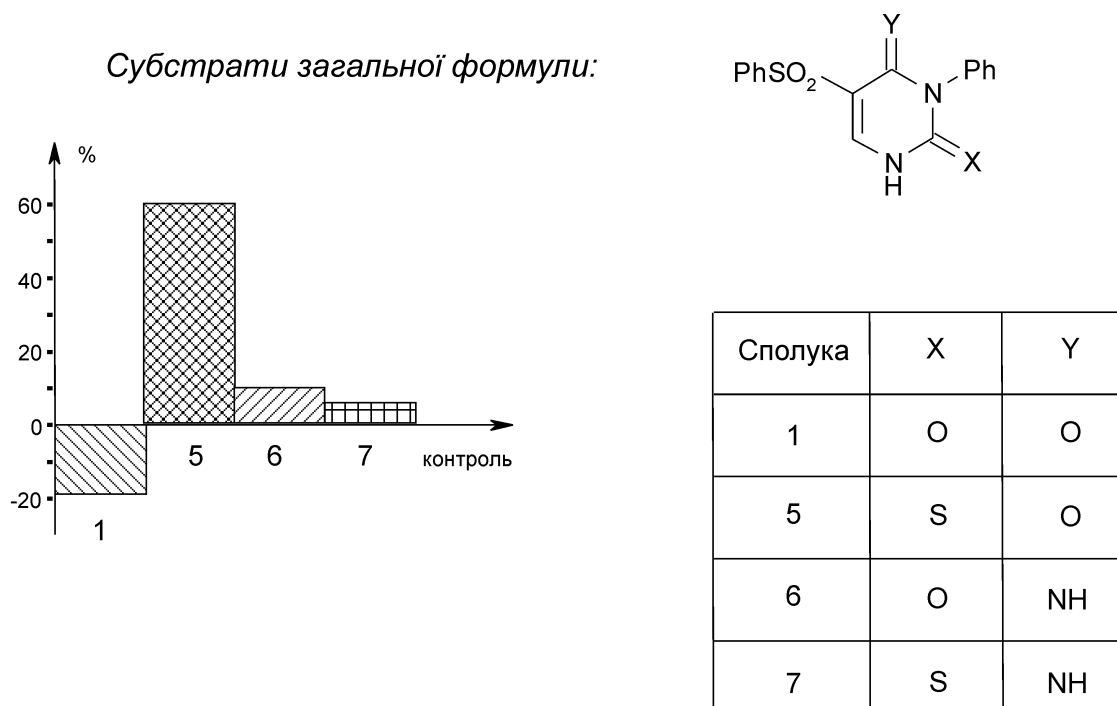


Рис. Вплив на проліферацію тимоцитів похідних урацилу та цитозину.

складу селезінки [7]. При дії ксенобіотиків на організм у селезінці відбувається проліферація стовбурових імунокомпетентних клітин, а потім у кровотоці вони диференціюються в ефекторні плазматичні клітини, здатні синтезувати специфічні антитіла. Збільшення кількості цих клітин має важливе значення для процесу формування гуморального імунітету (схема).

Жодна з досліджених сполук помітно не активувала проліферацію клітин селезінки. Моноядерні сполуки (1-7) майже не впливали на мітогенну активність спленоцитів, а інгібіторами проліферації виявились конденсовані гетероциклічні сполуки (8-14). Майже у 2 рази пригнічували процеси проліферації спленоцитів сполуки (9, 14) (на 45% і 51% відповідно).

Для оцінки стану первинного клітинного стану організму важливим є вивчення кількості тимоцитів — клітин тимусу, що є одним із головних органів імуногенезу.

Імунокомпетентні Т-клітини (тимоцити) з надзвичайно високою мітотичною активністю здатні диференціюватись у потенціальні ефектори клітинного імунітету і складають 90-95% загальної кількості клітин тимусу [8]. Зміна їх кількості може свідчити про рівень імунологічної реактивності організму.

Моно- та біядерні сполуки (1-4, 6, 7, 9-12) не впливали помітно на мітотичну активність тимоцитів, а сполуки (8, 14) пригнічували проліферацію тимоцитів, причому сполука (8) — на 34%. Тільки заміщений 2-тіоурацил (5) проявив значну стимулюючу мітогенну дію, оскільки індукція проліферації тимоцитів зросла на 59% порівняно з

відповідним похідним урацилу (див. рис.). Цікаво, що подібний ефект для споріднених похідних цитозину (6, 7) не спостерігається.

Фагоцитоз — головна захисна реакція організму є ще однією важливою складовою в системі імунітету. Фагоцитарна активність лімфоїдних клітин крові забезпечує оптимальний рівень неспецифічної резистентності організму і є обов'язковим початковим етапом індукції формування специфічної відповіді [9]. Фагоцитарну функцію здійснюють ПМЯЛ периферичної крові, які формуються та диференціюються в кістковому мозку. Потенційні імуномодулюючі властивості різних біорегуляторів оцінюють найчастіше за їх впливом на фагоцитарну активність, тобто на здатність ПМЯЛ до розпізнавання та поглинання патогенних агентів (вірусів, бактерій і т.п.). Активація або пригнічення фагоцитарної функції ПМЯЛ є одним з суттєвих показників стану антибактеріального та противірусного імунітету організму [10].

Слід відзначити, що більшість досліджених субстратів значно пригнічувала фагоцитарну активність ПМЯЛ крові (сполуки 1-3, 5, 8-12). Найбільше пригнічувала здатність ПМЯЛ до фагоцитозу сполука (5) — на 66%. Сполука (14) достовірно (на 14%) стимулювала фагоцитарну активність лейкоцитів. Не впливали на процеси фагоцитозу сполуки (4, 6, 7, 13).

Результати проведених досліджень свідчать про різнонаправлений вплив сполук на проліферативну активність клітин лімфоїдних органів та фагоцитарну активність ПМЯЛ крові.

Важливо відзначити сполуку (5), що критично пригнічує фагоцитоз (на 66%) і водночас значно

посилює проліферацію тимоцитів (на 59%). Така виражена стимуляція клітинної ланки імунітету, вочевидь, є специфічною захисною реакцією організму від токсичної дії цієї сполуки.

Проведені дослідження свідчать, що вплив на процеси проліферації імунокомпетентних клітин центральних лімфоїдних органів залежить від структури досліджених сполук. Моноциклічні сполуки, за винятком сполуки (5), як правило, не впливають на проліферацію спленоцитів і тимоцитів, а введення у структуру додаткових циклів приводить до набуття сполуками нових властивостей — здатності пригнічувати проліферативні процеси.

У той же час ці сполуки різнонаправлено впливали на фагоцитоз, що свідчить про складний характер залежності між їх структурою та здатністю модулювати стан неспецифічної резистентності організму.

Робота виконана завдяки фінансовій підтримці Українського науково-технологічного центру [проект 3017(R)].

Висновки

1. Первинний скринінг 14 арилсульфонільних похідних піримідинових та піразоло[1,5-а]піримідинових основ показав складну залежність реактивності всіх ланок імунної системи мишей від будови цих сполук.

2. Моноядерні 5-фенілсульфонільні похідні піримідинових основ та їх конденсовані аналоги по-різному відносяться до проліферації спленоцитів. Перші з них майже не впливають на неї, другі — значно її пригнічують.

3. 3-Фенілсульфоніл-2-тіоурацил суттєво індукує проліферацію тимоцитів, а відповідний урацильний аналог проявляє лише слабку мітогенну активність.

Література

1. Сливчук С.Р., Русанов Э.Б., Броварец В.С. // *ЖОФХ* — 2006. — Т. 4, №3. — С. 62-68.
2. Сливчук С.Р., Броварец В.С., Драч Б.С. // *Доп. НАН України*. — 2006. — №3. — С. 146-152.
3. *Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ* / Сост. С.М.Дроговоз, Н.А.Мохорт, Б.М.Клебанов, И.А.Зупанец. — К.: Фармкомитет МЗ Украины, 1993. — 27 с.
4. *Справочник по клиническим лабораторным методам исследования* / Под ред. Е.А.Коста. — М.: Медицина, 1968. — С. 38-40.
5. *Справочник по клиническим лабораторным методам исследования* / Под ред. Е.А.Коста. — М.: Медицина, 1968. — С. 78-80.
6. Сепетлиев Д. *Статистические методы в научных медицинских исследованиях* / Под ред. А.М.Меркова. — М.: Медицина, 1968. — 420 с.
7. Петров Р.В. *Иммунология*. — М.: Медицина, 1987. — С. 98-99.
8. Бернет Ф. *Клеточная иммунология* / Пер. с англ. — М.: Мир, 1971. — 537 с.
9. Дуглас С.Д., Кук П.Г. *Исследование фагоцитоза в клинической практике*. — М.: Медицина, 1983. — 112 с.
10. Семенов Б.Ф., Каулен Д.П., Баландин И.Г. *Клеточные и молекулярные основы противовирусного иммунитета*. — М.: Медицина, 1981. — 138 с.

Надійшла до редакції 30.07.2007 р.

УДК 547.339.2 + 547.496 + 547.859

КОНДЕНСОВАНІ ПІРИМІДИНОВІ СИСТЕМИ. 7*. ВЗАЄМОДІЯ 2-АЗАГЕТЕРИЛАЦЕТОНИТРИЛІВ З ЕТОКСИКАРБОНІЛІЗОТІОЦІАНАТОМ І АЛКІЛУВАННЯ ПРОДУКТІВ РЕАКЦІЇ

П.С.Лебідь, М.В.Вовк

Інститут органічної хімії НАН України,
02094, м. Київ, вул. Мурманська, 5. E-mail: mvovk@i.com.ua

Ключові слова: 2-азагетерилацетонітрили; етоксикарбонілізотіоціанат; алкілюючі агенти;
конденсовані піримідиніони; піридо[1,2-с]тієно[3,2-е]піримідини

На основі реакції 2-азагетерилацетонітрилів з етоксикарбонілізотіоціанатом розроблений препаративно зручний підхід до синтезу нових похідних піридо[1,2-с]піримідину, піримідо[1,6-а]бензімідазолу та піримідо[1',6':1,5][1,2,4]триазоло[4,3-а]азепіну. При взаємодії 4-ціано-2,3-дигідро-1Н-піридо[1,2-с]піримідин-1-ону-3-тіону з алкілюючими агентами отримані перші представники раніше невідомої гетероциклічної системи піридо[1,2-с]тієно[3,2-е]піримідину.

FUSED PYRIMIDINE SYSTEMS.

7. INTERACTION OF 2-AZAHETERYL-ACETONITRILES WITH ETHOXYCARBONYLTHIOISOCYANATES AND ALKYLATION OF REACTION PRODUCTIONS

P.S.Lebed', M.V.Vovk

Preparatively convenient approach to novel pyrido[1,2-c]pyrimidine-, pyrimido[1,6-a]benzimidazole — and pyrimido[1',6':1,5][1,2,4]triazolo[4,3-a]azepine derivatives based on reactions of 2-azaheterylacetonitriles with ethoxycarbonylthioisocyanates has been developed. The first representatives of previously unknown heterocyclic system of pyrido[1,2-c]thieno[3,2-e]pyrimidine were obtained by interaction of 4-cyano-2,3-dihydro-1H-pyrido[1,2-c]pyrimidine-1-ones-3-thiones with alkylating agents.

КОНДЕНСИРОВАННЫЕ ПИРИМИДИНОВЫЕ СИСТЕМЫ.

7. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ 2-АЗАГЕТЕРИЛАЦЕТОНИТРИЛОВ С ЭТОКСИКАРБОНИЛИЗОТИОЦИАНАТОМ И АЛКИЛИРОВАНИЕ ПРОДУКТОВ РЕАКЦИИ

П.С.Лебедь, М.В.Вовк

На основе реакции 2-азагетерилацетонитрилов с этоксикарбонилизотиоцианатом разработан препаративно удобный подход к новым производным пиридо[1,2-с]пиримидина, пиримидо[1,6-а]бензимидазола и пиримидо[1',6':1,5][1,2,4]триазоло[4,3-а]азепина. При взаимодействии 4-циано-2,3-дигидро-1Н-пиридо[1,2-с]пиримидин-1-она-3-тиона с алкилирующими агентами получены первые представители ранее неизвестной гетероциклической системы пиридо[1,2-с]тиєно[3,2-е]пиримидина.

Узагальнені нами нещодавно [2] результати з використання реакцій функціоналізованих ізоціанатів з похідними 2-азагетерилоцетових кислот для отримання конденсованих піримідинів є основою для введення в подібні взаємодії інших представників гетерокумуленових систем, наприклад, функціональнозаміщених ізотіоціанатів. На теперішній момент можна обґрунтовано стверджувати, що метод циклоконденсації похідних 2-азагетерилоцетових кислот з ароїлізотіоціанатами практично не розроблений. Результати, які стосуються взаємодії 2-бензотіозолацетонітрилу з бензоїлізотіоціанатами [3], були спростовані авторами

праці [4], які показали, що утворюється не відповідний піримідо[6,1-в][1,3]бензотіазол-4-тіон, а ациклічний продукт С-тіокарбамоїлювання. Надійно доведеною залишається тільки конденсація (2-бензімідозоліл)метил(трифеніл)фосфонійхлориду з ароїлізотіоціанатами, яка приводить до похідних 4-ціанопіримідо[1,6-а]бензімідазол-3-тіону [5].

Предметом даного повідомлення є вивчення реакції 2-азагетерилацетонітрилів 1а-г з широким використанням у практиці хімії гетероциклів поліфункціональним реагентом — етоксикарбонілізотіоціанатом 2 [6].

* Повідомлення 6 див. [1]

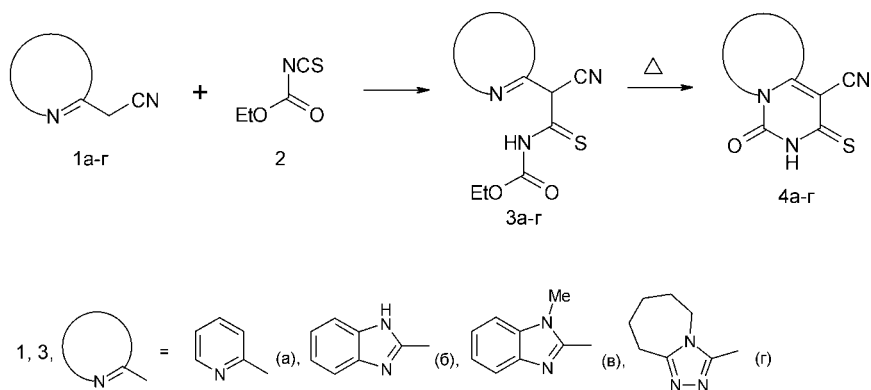


Схема 1

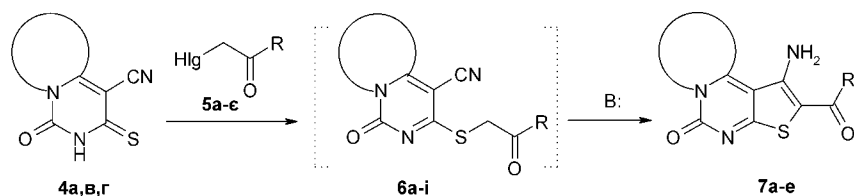
Встановлено, що сполуки 1а-г реагують з ізоціанатом 2 за схемою первинного С-тіокарбаміювання активованої метиленової групи з утворенням сполук 3а-г, які зазнають циклізації до конденсованих піримідинтіонів 4а-г. У випадку 2-ціанометилбензімідазолу при проведенні реакції в розчині ацетонітрилу при кімнатній температурі вдається виділити і охарактеризувати продукт 3б, який при 5-ти годинному нагріванні в діоксані з високим виходом перетворюється на 4б. У разі ацетонітрилів 1а,в,г вже при кімнатній температурі поруч зі сполуками 3а,в,г утворюються продукти циклоконденсації 4а,в,г, а для завершення такого процесу необхідне подальше нагрівання реакційної суміші (схема 1).

Сполуки 4а-г — високоплавкі кристалічні речовини, будова яких доведена даними вимірів ІЧ-

ЯМР ^1H та хроматомас-спектрів. Наявність в їх структурі просторово зближених функціональних груп робить їх перспективними для використання в синтезі як нових, так і важкодоступних відомих поліциклічних конденсованих систем. З цією метою були досліджені їх реакції з широким набором алкілюючих реагентів: α -галогенкетонами 5а-г, етиловим естером та амідами монохлороцтової кислоти 5д та 5е,є при кімнатній температурі в розчині ДМФА у присутності K_2CO_3 як основи.

Показано, що будова кінцевих продуктів взаємодії сполук 4а,в,г з реагентами 5а-г залежить як від структури нуклеофільного субстрату, так і електрофільного реагенту.

Зокрема у випадку 4-ціанопіrido[1,2-с]піримідин-3-тіону 4а реакція з α -хлоркетонам 5б або естером 5д не зупиняється на стадії утворення



5. Hlg = Cl, R = Me (а), CMe_3 (б), EtO (д), NH_2 (е), PhNH(є)
Hlg = Br, R = 4- ClC_6H_4 (в), 4- BrC_6H_4 (г);

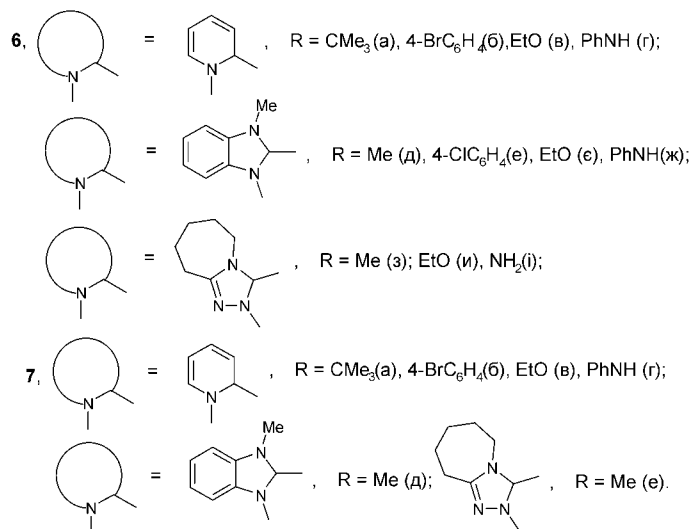


Схема 2

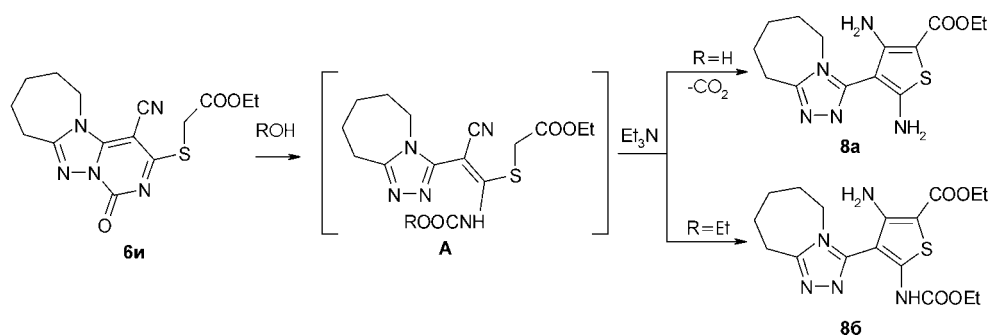


Схема 3

продуктів S-алкілування 6а,в, а зазнає подальшої циклізації за Торпом [7] до піридо[1,2-с]тієно[3,2-е]піримідин-5-онів 7а,в. У той же час при використанні бромацетофенону 5г та аніліду монохлорощової кислоти 5е були виділені стабільні продукти алкілування 6б, г, які вдається перетворити на сполуки 7б,г при кип'ятінні в етанолі в присутності триетиламіну на протязі 4-х год. У випадку 4-ціанопіримідо[1,6-а]бензімідазол-3-тіону 4в та 4-ціанопіримідо[1',6':1,5][1, 2, 4]триазоло[4,3-а]азенін-3-тіону 4г тільки при алкілуванні хлорацетоном 5а сполуки 6е,з спонтанно циклізуються до похідних 7д,е. У разі реагентів 5в,д,е,е утворюються продукти алкілування 6е-ж,і, які на відміну від сполук 6а,в не схильні циклізуватись навіть при довготривалому (10-15 год) нагріванні в ДМФА в присутності органічної основи, що, очевидно, зу-

мовлено їх обмеженою розчинністю або зниженою кислотністю метиленової групи фрагменту SCH₂C(O)R (схема 2).

У той же час неочікуваний результат був отриманий у випадку сполуки 6и. При спробі її тієноанелювання при нагріванні в етанолі (10 год) або ацетонітрилі (12 год) у присутності триетиламіну були виділені 4-триазолозаміщені амініофени 8а,б (схема 3). Як один із ймовірних варіантів перебігу такого процесу ми припускаємо, що під дією спирту або залишкових кількостей води в ацетонітрилі відбувається розрив піримідо-триазольного гетероциклу з утворенням інтермедіатів типу А, які затим циклізуються до похідних тіофену. Вагомим доказом запропонованої схеми є неможливість перебігу реакції при її проведенні в абсолютному ацетонітрилі.

Таблица 1

Характеристики сполук 3б, 4а-г; 6б,г,е-ж,и,і; 7а-е; 8а,б

| Сполука | Формула | Вирахувано, % | | | Т. пл., °С (розчинник для кристалізації) | Вихід, % | Знайдено, % | | | Мас-спектр [M ⁺], m/z |
|---------|---|---------------|------|-------|--|----------|-------------|------|--------|-----------------------------------|
| | | С | Н | S | | | С | Н | S | |
| 3б | C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O ₂ S | 54.15 | 4.19 | 11.12 | >250 (1,4-діоксан) | 58 | 54.17 | 4.17 | 11.18, | |
| 4а | C ₉ H ₅ N ₃ OS | 53.19 | 2.48 | 15.78 | >250 | 18 | 53.14 | 2.45 | 15.69 | |
| 4б | C ₁₁ H ₆ N ₄ OS | 54.54 | 2.50 | 13.24 | >250 | 76 | 54.41 | 2.57 | 13.20 | |
| 4в | C ₁₂ H ₈ N ₄ OS | 56.24 | 3.15 | 12.51 | >250 | 62 | 56.25 | 3.25 | 12.47 | |
| 4г | C ₁₁ H ₁₁ N ₅ OS | 50.56 | 4.24 | 12.27 | >250 | 30 | 50.64 | 4.29 | 12.31 | |
| 6б | C ₁₇ H ₁₀ BrN ₃ O ₂ S | 51.01 | 2.52 | 8.01 | 198-199 (CH ₃ CN-ДМФА, 2:1) | 56 | 50.94 | 2.33 | 7.99 | |
| 6г | C ₁₇ H ₁₂ N ₄ O ₂ S | 60.70 | 3.60 | 9.53 | 125 (розкл.) (CH ₃ CN) | 81 | 60.87 | 3.61 | 9.60 | |
| 6е | C ₂₀ H ₁₃ ClN ₄ O ₂ S | 58.75 | 3.20 | 7.84 | 236-237 (CH ₃ CN-ДМФА, 1:1) | 71 | 58.75 | 3.14 | 7.80 | 408 |
| 6е | C ₁₆ H ₁₄ N ₄ O ₃ S | 56.13 | 4.12 | 9.37 | 228-229 (ДМФА) | 72 | 56.28 | 4.22 | 9.45 | 342 |
| 6ж | C ₂₀ H ₁₅ N ₅ O ₂ S | 61.68 | 3.88 | 8.23 | 249-250 (CH ₃ CN-ДМФА, 5:1) | 49 | 61.62 | 3.83 | 8.21 | 389 |
| 6и | C ₁₅ H ₁₇ N ₅ O ₃ S | 51.86 | 4.93 | 9.23 | 175-176 (EtOH) | 64 | 51.87 | 4.89 | 9.19 | 347 |
| 6і | C ₁₃ H ₁₄ N ₆ O ₂ S | 49.05 | 4.43 | 10.07 | >250 (ДМФА) | 88 | 49.10 | 4.40 | 10.11 | |
| 7а | C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₂ S | 59.78 | 5.02 | 10.64 | 241-242 (EtOH) | 43 | 59.72 | 5.07 | 10.58 | |
| 7б | C ₁₇ H ₁₀ BrN ₃ O ₂ S | 51.01 | 2.52 | 8.01 | >250 (ДМФА) | 48 | 51.10 | 2.59 | 8.17 | |
| 7в | C ₁₃ H ₁₁ N ₃ O ₃ S | 53.97 | 3.83 | 11.08 | 215 (розкл.) (EtOH) | 52 | 53.94 | 3.90 | 11.01 | |
| 7г | C ₁₇ H ₁₂ N ₄ O ₂ S | 60.70 | 3.60 | 9.53 | >250 (CH ₃ CN) | 50 | 60.54 | 3.45 | 9.36 | |
| 7д | C ₁₅ H ₁₂ N ₄ O ₂ S | 57.68 | 3.87 | 10.27 | >250 (CH ₃ CN-ДМФА, 1:2) | 51 | 57.59 | 3.80 | 10.13 | 312 |
| 7е | C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₂ S | 52.98 | 4.76 | 10.10 | >250 (CH ₃ CN) | 11 | 52.86 | 4.60 | 10.04 | 317 |
| 8а | C ₁₄ H ₁₉ N ₅ O ₂ S | 52.32 | 5.96 | 9.98 | 151 (розкл.) | 44 | 52.28 | 5.99 | 10.00 | 321 |
| 8б | C ₁₇ H ₂₃ N ₅ O ₄ S | 51.89 | 5.89 | 8.15 | 206 (розкл.) (EtOH) | 41 | 52.09 | 5.79 | 8.25 | 393 |

Таблиця 2

ІЧ-, ЯМР ^1H спектри сполук 3б, 4а-г; 6б,г,е-ж,и,і; 7а-е; 8а,б

| Сполука | ІЧ-спектр, KBr, ν , cm^{-1} | | Спектр ЯМР ^1H , DMCO-d_6 (*- CDCl_3 , **- CF_3COOD), δ , м.ч., J (Гц) |
|---------|--|------|---|
| | C=O | C≡N | |
| 3б | 1700 | 2228 | 1.23 т (3H, CH ₃ , J = 7.0 Гц), 4.12 м (2H, CH ₂), 7.37 м (2H, H _{Ar}), 7.68 м (2H, H _{Ar}), 9.68 с (1H, NH), 13.66 уш.с (2H, NH) |
| 4а | 1725 | 2230 | 7.18 т (1H, H ⁷ , J = 7.0 Гц), 7.46 д (1H, H ⁵ , J = 8.6 Гц), 8.01 т (1H, H ⁶ , J = 8.6 Гц), 8.70 д (1H, H ⁸ , J = 7.0 Гц), 13.24 с (1H, NH) |
| 4б | 1720 | 2230 | 7.31-7.55 м (3H, H _{Ar}), 8.12 д (1H, H ⁹ , J = 7.5 Гц), 12.56 с (1H, NH) |
| 4в | 1740 | 2230 | 4.00 с (3H, CH ₃), 7.47 т (1H, H ⁸ , J = 7.6 Гц), 7.57 т (1H, H ⁷ , J = 7.9 Гц), 7.69 д (1H, H ⁶ , J = 7.9 Гц), 8.22 д (1H, H ⁹ , J = 7.9 Гц), 12.82 с (1H, NH) |
| 4г | 1738 | 2225 | 1.65-1.94 м (6H, CH ₂), 2.99 м (2H, CH ₂), 4.43 м (2H, CH ₂) 12.77 с (1H, NH) |
| 6б | 1695 | 2225 | 4.94 с (2H, CH ₂), 7.52 т (1H, H ⁷ , J = 7.0 Гц), 7.72-7.88 д (3H, H _{Ar} +H ⁵), 8.02 д (2H, H _{Ar}), 8.21 т (1H, H ⁶ , J = 7.6 Гц), 8.98 д (1H, H ⁸ , J = 7.6 Гц) |
| 6г | 1692 | 2230 | 4.28 с (2H, CH ₂), 7.06 т (1H, H _{Ar} , J = 7.7 Гц), 7.31 т (2H, H _{Ar} , J = 7.7 Гц), 7.51-7.64 м (3H, H _{Ar} +H ⁷), 7.79 м (1H, H ⁵), 8.21 т (1H, H ⁶ , J = 8.0 Гц), 9.04 д (1H, H ⁸ , J = 7.2 Гц), 10.40 с (1H, NH) |
| 6е | 1680 | 2220 | 4.04 с (3H, CH ₃), 4.92 с (2H, CH ₂), 7.46-7.80 м (6H, H _{Ar}), 8.09 д (2H, H _{Ar} , J = 7.6 Гц), 8.38 д (1H, H ⁹ , J = 7.0 Гц) |
| 6є | 1742 1680 | 2223 | 1.23 т (3H, CH ₃ , J = 6.7 Гц), 4.03 с (3H, CH ₃), 4.14 м (4H, CH ₂), 7.50 т (1H, H ⁸ , J = 7.6 Гц), 7.62 т (1H, H ⁷ , J = 7.6 Гц), 7.82 д (1H, H ⁶ , J = 7.8 Гц), 8.44 д (1H, H ⁹ , J = 7.8 Гц) |
| 6ж** | 1685 | 2220 | 4.22 с (3H, CH ₃), 7.24 м (2H, H _{Ar}), 7.32 м (3H, H _{Ar}), 7.68 м (3H, H _{Ar}), 8.39 д (1H, H ⁹ , J = 7.6 Гц) |
| 6и | 1740 1707 | 2220 | 1.20 т (3H, CH ₃ , J = 7.0 Гц), 1.65-1.94 м (6H, CH ₂), 3.01 м (2H, CH ₂), 4.13 м (4H, CH ₂), 4.38 м (2H, CH ₂) |
| 6і | 1690 | 2215 | 1.65-1.96 м (6H, CH ₂), 3.05 м (2H, CH ₂), 3.97 с (2H, CH ₂), 4.40 м (2H, CH ₂), 7.22 уш.с (1H, NH ₂), 7.66 уш.с (1H, NH ₂) |
| 7а | 1715 1690 | - | 1.31 с (9H, CH ₃), 7.77 т (1H, H ⁷ , J = 7.1 Гц), 8.36-8.49 м (3H, H ⁶ +NH ₂), 8.57 т (1H, H ⁵ , J = 8.6 Гц), 9.42 д (1H, H ⁸ , J = 7.0 Гц) |
| 7б** | 1680 | - | 7.41-7.60 м (4H, H _{Ar}), 7.91 уш.с (1H, H _{Ar}), 8.62 уш.с (2H, H _{Ar}), 9.52 уш.с (1H, H ⁸) |
| 7в | 1695 | - | 1.27 т (3H, CH ₃ , J = 7.0), 4.24 м (2H, CH ₂), 7.14 уш.с (2H, NH ₂), 7.75 т (1H, H ⁷ , J = 7.2 Гц), 8.32-8.63 м (2H, H ⁵ +H ⁶), 9.39 д (1H, H ⁸ , J = 7.0 Гц) |
| 7г** | 1685 | - | 7.38-7.63 м (5H, H _{Ar}), 8.19 т (1H, H ⁷ , J = 7.0 Гц), 8.80-9.04 м (2H, H ⁵ +H ⁶), 9.79 д (1H, H ⁸ , J = 7.0 Гц) |
| 7д** | 1665 | - | 2.52 с (3H, CH ₃), 4.53 с (3H, CH ₃), 7.79 м (3H, H _{Ar}), 8.63 д (1H, H ⁹ , J = 7.6 Гц) |
| 7е | 1690 | - | 1.55-1.90 м (6H, CH ₂), 2.02 с (3H, CH ₃), 2.88 м (2H, CH ₂), 3.70 м (2H, CH ₂), 7.00 уш.с (2H, NH ₂) |
| 8а* | 1665 | - | 1.33 т (3H, CH ₃ , J = 7.0 Гц), 1.75-1.98 м (6H, CH ₂), 2.97 м (2H, CH ₂) 3.90 м (2H, CH ₂), 4.26 м (2H, CH ₂), 5.37 уш.с (2H, NH ₂), 5.78 уш.с (2H, NH ₂) |
| 8б | 1725 1670 | - | 1.23 м (6H, CH ₃), 1.45-1.95 м (6H, CH ₂), 2.90 м (2H, CH ₂) 3.64 м (2H, CH ₂), 4.17 м (4H, CH ₂), 6.15 уш.с (2H, NH ₂), 10.56 уш.с (1H, NH) |

Будова гетероциклічних сполук 8а,б підтверджена результатами вимірів ІЧ-спектрів, в яких відсутні смуги поглинання нітрильної групи при 2210 cm^{-1} , а також хроматомас-спектрів і спектрів ЯМР ^1H . В останніх, зокрема, окрім стандартних сигналів замісників присутні характерні уширені синглети аміногруп при 5.37 і 5.78 м.д. (8а) та аміно- (6.15 м.д.) і амідогрупи (10.60 м.д.) (8б)

На завершення зазначимо, що сполуки 7а-г є першими представниками нової гетероциклічної системи піридо[1,2-с]тієно[3,2-е]піримідину. Наявність в їх структурі функціональної аміногрупи створює вагомі передумови для синтезу комбінаторної бібліотеки потенційних фармакологічно активних речовин.

Експериментальна частина

ІЧ-спектри синтезованих сполук записані на спектрофотометрі UR-20 в таблетках KBr. Спектри

ЯМР ^1H отримані на приладі Varian-Gemini в розчинах DMCO-d_6 , CDCl_3 , CF_3COOD (робоча частота 300 МГц, внутрішній стандарт ТМС). Хроматомас-спектри отримані на спектрометрі "Agilent 1100 Series".

4-Ціано-2,3-дигідро-1Н-піридо[1,2-с]піримідин-1-он-3-тіон 4а, 5-метил-4-ціано-1,2,3,5-тетрагідро-піримідо[1,6-а]бензімідозол-1-он-3-тіон 4в, 4-ціано-2,3,7,8,9,10-гексагідро-1Н,6Н-піримідо[1',6':1,5][1,2,4]триазоло[4,3-а]азепін-1-он-3-тіон 4г. До розчину 0,0026 Моль відповідного нітрилу 1а,в,г в 15 мл ацетонітрилу додавали при перемішуванні розчин 0,34 г (0,0026 Моль) етоксикарбонілізотіоціанату 2 та 4-5 крапель N,N-діізопропіл-N-етиламіну, залишали при кімнатній температурі на 12 год, а потім нагрівали при кип'ятінні протягом 8 год. Осад, який утворився при охолодженні, відфільтровували, фільтрат випарювали, до залишку додавали 4 мл етанолу, нагрівали до кипіння, охолоджували,

відфільтровували і об'єднували з першою порцією осаду. Аналітично чисті зразки отримували розчиненням осаду в 5%-ному водному розчині NaOH з подальшим осадженням 15%-ним розчином HCl.

2-Ціано-2-(1,3-дигідро-2Н-бензімідазол-2-ілден)-етантіол-О-етилкарбамат 3б. До розчину 0,66 г (0,0042 Моль) нітрилу 1б в 10 мл ацетонітрилу додавали розчин 0,55 г (0,0042 Моль) етоксикарбонілізотіоціанату 2, перемішували при кімнатній температурі протягом 5 год і залишали на 12 год. Осад, який утворився, відфільтровували.

4-Ціано-1,2,3,5-тетрагідропіримідо[1,6-а]бензімід-азол-1-он-3-тіон 4б. 0,3 г (0,001 Моль) сполуки 3б в 10 мл діоксану нагрівали при кипінні на протязі 5 год. Осад, який утворився, відфільтровували і промивали діетиловим естером. Аналітично чисті зразки отримували розчиненням осаду в 5%-ному водному розчині NaOH з подальшим осадженням 15%-ним розчином HCl.

С-Алкілтіопохідні 4-ціано-1Н-піридо[1,2-с]піримідин-1-ону 6б,г, 4-ціано-5-метил-1,5-дигідропіримідо[1,6-а]бензімідазол-5-ону 6е-ж, 4-ціано-7,8,9,10-тетрагідро-1Н,6Н-піримідо[1',6':1,5][1,2,4]триазоло[4,3-а]азенін-1-ону 6и,і; 1-аміно-5Н-піридо[1,2-с]тієно-[3,2-е]піримідин-5-они 7а,в, 2-ацетил-1-аміно-11-метил-тієно[2',3':4,5]піримідо[1,6-а]-бензімідазол-5(11Н)-он 7д, 2-ацетил-1-аміно-9,10,11,12-тетрагідро-5Н,8Н-тієно[2',3':4,5']-піримідо[1',6':1,5][1,2,4]триазоло[4,3-а]азенін-5-он 7е. Суміш 0,001 Моль сполуки 4а,в,г, 0,001 Моль алкілюючого реагенту 5а-е, 0,21 г (0,015 Моль) K₂CO₃ в 8 мл ДМФА перемішували при кімнатній температурі на протязі 8 год і виливали в 40 мл води. Осад, який утворився, відфільтровували.

У випадку сполук 7а,в,д цей утворений осад додатково нагрівали в присутності 0,28 мл (0,002 Моль)

триетиламіну у 6 мл етанолу (для 7а,в) або ДМФА (для 7д) при температурі 75-80°C протягом 4 год. Реакційну суміш виливали у 30 мл води, утворений осад відфільтровували та перекристалізували.

1-Аміно-5Н-піридо[1,2-с]тієно[3,2-е]піримідил-5-они 7б,г. До розчину 0,0006 Моль сполуки 6б,г в 10 мл етанолу додавали 0,17 мл (0,0012 Моль) триетиламіну і нагрівали при кип'ятінні на протязі 4 год. Осад, який утворився при охолодженні, відфільтровували.

3,5-Діаміно-4-(6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азенін-3-іл)тіофен 8а. Суміш 0,0006 Моль сполуки 6и та 0,17 мл (0,0012 Моль) триетиламіну в 10 мл ацетонітрилу нагрівали при кипінні протягом 12 год. Розчинник упарювали, а цільовий продукт виділяли хроматографічно (елюент етилацетат : гексан, 1:1).

Етил 3-аміно-5-[(етоксикарбоніл)аміно]-4-(6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азенін-3-іл)тіофен-2-карбоксилат 8б. Суміш 0,0006 Моль сполуки 6и та 0,17 мл (0,0012 Моль) триетиламіну в 8 мл етанолу нагрівали при кипінні протягом 10 год. Осад, який утворився при охолодженні, відфільтровували.

Висновки

1. Запропонований препаративно зручний підхід до синтезу нових похідних піридо[1,2-с]піримідин-3-тіону, піримідо[1,6-а]бензімідазол-3-тіону та піримідо[1',6':1,5][1,2,4]-триазоло[4,3-а]азенін-3-тіону, який ґрунтується на циклоконденсації відповідних 2-азагетерилацетонітрилів з етоксикарбонілізотіоціанатом.

2. Здійснено синтез перших представників нової гетероциклічної системи піридо[1,2-с]-тієно[3,2-е]піримідину.

Література

1. Лебедь П.С., Ващук А.В., Русанов Е.Б., Вовк М.В. // ЖОФХ. — 2007. — Т. 5, вип. 1 (17). — С. 61-67.
2. Лебедь П.С., Вовк М.В. // ЖОФХ. — 2006. — Т. 4, вип. 2 (14). — С. 3-23.
3. Sowellum S.Z.A., Khodeir M.N.M., El-Amin S.M., Elagamey A.A. // Pharmazie. — 1988. — Vol. 43, №8. — P. 533-534.
4. Resnyanskaya E.V., Tverdokhlebov A.V., Volovenko Y.M. et al. // Synthesis. — 2002. — №18. — P. 2717-27234.
5. Смолий О.Б., Музыка Л.В., Чернега А.Н., Драч Б.С. // ЖОХ. — 2002. — Т. 72, №11. — С. 1807-1812.
6. George B., Papadopoulos E.P. // J. Heterocyclic. Chem. — 1983. — Vol. 20, №5. — P. 1127-1142.

Надійшла до редакції 09.06.2007 р.

УДК 547.631.6.831

СИНТЕЗ И ПРОТИВОСУДОРОЖНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 1,2-ДИГИДРОХИНОЛИН-2-ОНА

Л.В.Грищук, Э.И.Иванов, И.А.Кравченко*, В.Е.Кузьмин, А.Г.Артеменко, А.М.Турьянская*

Физико-химический институт им. А.В.Богатского НАН Украины
65080, г. Одесса, Люстдорфская дорога, 86. E-mail: grishchuk@ukr.net

* Одесский национальный университет им. И.И.Мечникова

Ключевые слова: противосудорожная активность; 1,2-дигидрохинолин-2-он; PASS; QSAR-анализ; триазолохинолин

Синтезированы новые производные 1,2-дигидрохинолин-2-она. Компьютерной системой PASS проведен прогноз спектра их биологической активности. Изучена противосудорожная активность соединений. Проведен анализ связи структура – активность. Целенаправленным синтезом получены потенциальные антиконвульсанты, высокие значения их активности подтверждены экспериментально.

THE SYNTHESIS AND ANTICONVULSANT ACTIVITY OF THE DERIVATIVES OF 1,2-DIHYDROQUINOLIN-2-ONE

L.V.Grishchuk, E.I.Ivanov, I.A.Kravchenko, V.Ye.Kuzmin, A.G.Artemenko, A.M.Turyanskaya
New derivatives of 1,2-dihydroquinolin-2-one have been synthesized. The prognosis of their biological activity spectrum has been carried out using the PASS computer system. The anticonvulsant activity of compounds has been studied. The analysis of the “structure-activity” relationship has been carried out. Potential anticonvulsants have been obtained by the purposeful synthesis and the high values of their activity have been confirmed experimentally.

СИНТЕЗ І ПРОТИСУДОМНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ 1,2- ДИГІДРОХІНОЛІН-2-ОНУ

Л.В.Грищук, Е.І.Іванов, І.А.Кравченко, В.Є.Кузьмін, А.Г.Артеменко, Г.М.Турьяньска
Синтезовані нові похідні 1,2-дигідрохінолін-2-ону. Комп'ютерною системою PASS проведений прогноз спектра їх біологічної активності. Вивчена протисудомна активність сполук. Проведений кількісний аналіз зв'язку структура – активність. Цілеспрямованим синтезом отримані потенційні антиконвульсанти, високі значення їх активності підтверджені експериментально.

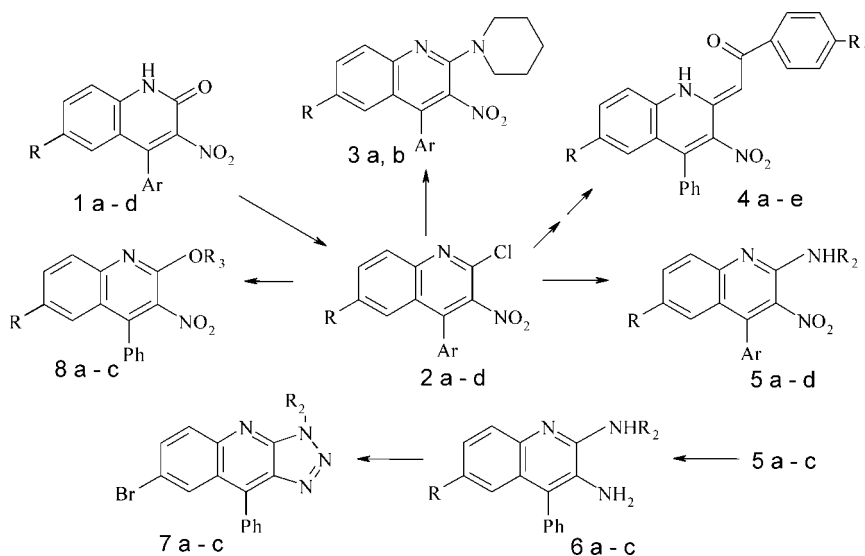
Хинолиновый цикл является одним из наиболее привлекательных структурных фрагментов в современной медицинской химии. Среди производных хинолина обнаружены вещества, проявляющие антибактериальную, диуретическую, ангиолитическую, антималярийную и другие виды биологической активности. Замещенные хинолины являются эффективными иммуномодуляторами, агонистами бенздиазепаинового ряда. Среди них есть соединения, перспективные для лечения вируса *Herpes* и СПИДа [1-5]. Многочисленные исследования в области структурно-функциональных связей свидетельствуют о том, что возможности химической структуры хинолинов до сих пор не исчерпаны. Это является стимулом для создания новых препаратов этой группы, отличающихся высоким уровнем биологической активности, широким спектром действия и низкой токсичностью.

Целью данной работы является синтез и изучение биологической активности новых производных 1,2-дигидрохинолин-2-она.

Хлорированием 1,2-дигидрохинолин-2-онов (1a-d) [6, 7] пятихлористым фосфором в растворе POCl_3 получены 2-хлорзамещенные хинолины (2 a-d) [8]. Продуктами замещения атома хлора на вторичный амин являются 3-нитро-2-пиперидинохинолины (3 a,b) [8], синтезированные кипячением смеси соответствующего 2-хлорхинолина (2a-d) и пиперидина в этиловом спирте в течение 1 часа (схема).

Наиболее интересным вариантом замещения атома хлора в молекуле хинолина является превращение 2-хлорхинолинов в соединения (4 a-e). Используя 2-хлорхинолины (2 a-d) и тиомочевину, мы получили 2-меркаптохинолины, конечными продуктами кипячения которых в растворе ДМФА с замещенными фенацилбромидами являются 2-(3-нитро-4-фенил-6-R-1H-хинолин-2-илиден)этаноны (4 a-e), описанные в [9].

Для синтеза конденсированных гетеросистем, содержащих в положении 2 хинолинового остова аннелированные фрагменты ядер 1,2-ди- и 1,2,3-триазолов, удобными исходными являются заме-



R = Br (1 a,d, 2 a,d, 3 a,b, 4 a,b, 5 a,c,d, 6 a,b, 7 a,b), Cl (1 b, 2 b, 4 c,d, 5 b, 6 c, 7 c, 8 a,b), NO₂ (1 c, 2 c, 4 e, 8 c);
R₁ = H (4 a, 4 c), Br (4 b, 4 d, 4 e); R₂ = CH₂Ph (5 a,b,d, 6 a,c, 7 a,c), Ph (5 c, 6 b, 7 b);

R₃ = CH₃ (8 a,c), (CH₂)₁₁CH₃ (8 b); Ar = Ph (1 a-c, 2 a-c, 3 a, 5 a-c, 6 a-c, 7 a-c, 8 a-c), 2Cl-C₆H₄ (1 d, 2 d, 3 b, 5 d)

Схема

щенные 2,3-диаминохинолины. 2-Бензиламино-6-бром(хлор)-3-нитро-4-фенилхинолины (5 a,b) и 6-бром-3-нитро-2-фениламино-4-фенилхинолин (5 c) — продукты взаимодействия 2-хлорхинолинов (2 a,b) с бензиламино или анилином согласно методике [8]. 2-Бензиламино- и 2-фениламино-3-аминохинолины (6 a-c) получены нами восстановлением соединений (5 a,b,c) гидросульфидом натрия в водно-спиртовой среде с хорошими выходами.

Новые производные *вици*-триазоло[b]хинолинов синтезированы гетероциклизацией замещенных 2,3-диаминохинолинов (6 a-c) избытком нитрита натрия в уксусной кислоте при комнатной температуре. Продукты реакции — 3-бензил(фенил)-9-фенил-3Н-[1,2,3]триазоло[4,5-*b*]-хинолины (7 a-c) получены с выходами 65-75%.

Еще одним примером замещения атома хлора в молекуле хинолина на *O*-нуклеофил является взаимодействие 2-хлорпроизводных (2 b,c) с метилом натрия или додециловым спиртом в сухом 1,4-диоксане. 2-Метокси- (8 a,c) и 2-додецилокси-3-нитрохинолины (8 b) синтезированы для фармакологических исследований как потенциальные биологически активные соединения.

Среди применяемых на практике современных средств с противосудорожной активностью нет ни одного универсального высокоэффективного соединения [10]. В связи с разнообразием биологической активности, характерной для хинолинов, целесообразно было исследовать проявление 2-*R*-, 3-*R*-замещенными и аннелированными [a]- и [b]хинолинами противосудорожной активности и изучить зависимость ее проявления от структуры.

Для рационального применения новых лекарственных препаратов, достижения их максималь-

ного терапевтического действия, снижения и предупреждения побочных реакций необходимо уже на стадии разработки получить всестороннюю характеристику биологической активности вещества, данные обо всех его лечебных и возможных отрицательных эффектах. Компьютерная система PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), разработанная В.В.Поройковым и Д.А.Филимоновым [11, 12], позволяет прогнозировать спектр биологической активности и специфическую токсичность вещества по его структурной формуле. Основанная на анализе зависимости структура — активность программа PASS использует обучающую выборку из десятков тысяч соединений, проявляющих более тысячи различных видов биологической активности. Результатом ее применения к каждой тестируемой структуре является список возможных видов активности соединения с указанием вероятности их проявления (Pa) или не проявления (Pi). Такая программа незаменима при разработке новых препаратов. Она используется в ряде российских и зарубежных научных организаций уже несколько лет [13]*.

Для эффективного поиска потенциальных физиологически активных агентов среди полученных нами производных 1,2-дигидрохинолин-2-она при помощи компьютерной системы PASS был осуществлен анализ спектра их биологической активности [14]. Согласно прогнозу синтезированные замещенные 1,2-дигидрохинолин-2-оны и конденсированные гетеросистемы на их основе могут быть потенциальными противосудорожными средствами. В табл. 1 представлены наиболее перспективные соединения из выборки, для которых Pa / Pi ≥ 0.5.

* Авторы выражают искреннюю благодарность В.В.Поройкову и Д.А.Филимонову за предоставленную возможность использования программы PASS.

Таблица 1

Результаты прогноза методом PASS противосудорожной активности соединений (1 - 7)

| Соединение | Pa / Pi | Соединение | Pa / Pi | Соединение | Pa / Pi |
|------------|---------------|------------|---------------|------------|---------------|
| 1 a | 0.633 / 0.018 | 4 a | 0.657 / 0.015 | 6 a | 0.548 / 0.036 |
| 1 b | 0.595 / 0.025 | 4 b | 0.657 / 0.015 | 6 b | 0.561 / 0.032 |
| 1 d | 0.671 / 0.014 | 4 c | 0.624 / 0.020 | 6 c | 0.502 / 0.049 |
| 2 a | 0.594 / 0.025 | 4 d | 0.676 / 0.014 | 7 a | 0.835 / 0.07 |
| 2 d | 0.631 / 0.019 | 4 e | 0.622 / 0.020 | 7 b | 0.563 / 0.32 |
| 3 b | 0.543 / 0.037 | 5 b | 0.577 / 0.029 | 7 c | 0.813 / 0.07 |

Для ряда соединений (1 a,d), (2 a,d), (3 b), (4 d), (5 a), (7 a,c) и (8 a), которые согласно прогнозу с высокой вероятностью могут проявить противосудорожную активность, мы сочли целесообразным изучить данную активность *in vivo*.

Специфическая противосудорожная активность изучалась на белых беспородных мышах по антагонизму с коразолом при внутривенном введении растворов в дозе 10 мг/кг. Определялись минимальные эффективные дозы (МЭД) коразола, вызывающие клонико-тонические судороги (КТС) и тоническую экстензию (ТЭ), т.е. ДКТС и ДТЭ. В качестве контроля использовалась МЭД коразола (100%), вызывающая КТС и ТЭ у интактных животных. Использование внутривенной инфузии коразола позволяет оценить концентрацию противосудорожных веществ в биофазе их действия, т.к. регистрируемые эффекты являются быстрообратимыми и концентрационно зависимыми [15, 16] (табл. 2). Полученная информация позволяет получить количественные соотношения структура — активность, которые могут быть полезны как для прогнозирования активности, так и для молекулярного дизайна новых перспективных соединений.

Для установления количественной связи структура — противосудорожная активность в ряду производных 1,2-дигидрохиолинон-2-она был применен метод QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) на основе симплексного представле-

ния молекулярной структуры [17, 18]. В этом методе для описания молекулярной структуры используются симплексные дескрипторы, отражающие количество четырехатомных фрагментов (симплексов) фиксированной структуры, симметрии и хиральности. В рамках данного представления возможен учет не только природы атома, но и ряда других характеристик (заряда, липофильности, поляризуемости и т.п.), важных для проявления биологической активности соединений.

Важным преимуществом симплексного метода является возможность анализа в пределах одной выборки молекул, которые значительно отличаются по структуре, а также возможность выявления в ряду исследуемых молекул фрагментов структуры (комбинаций симплексов) как способствующих, так и препятствующих проявлению активности.

При помощи статистического метода частных наименьших квадратов [19] были получены вполне адекватные модели связи структура — ДКТС* (коэффициент детерминации полученной зависимости $R^2 = 0.975$, коэффициент детерминации, рассчитанный в условиях скользящего контроля, $Q^2 = 0.867$, количество латентных переменных $A=2$). На основе интерпретации полученной модели определены структурные факторы, способствующие и препятствующие проявлению противосудорожной активности. Так, установле-

Таблица 2

Противосудорожная активность (*in vivo*) 2-R-замещенных и триазоло[b]хиолинон

| Соединение | ДКТС, % | ДТЭ, % | Соединение | ДКТС, % | ДТЭ, % |
|------------|---------|--------|------------|---------|--------|
| 1 a | 139±17 | 145±16 | 1 d | 136±10 | 145±11 |
| 2 a | 130±13 | 140±14 | 2 d | 133±15 | 136±16 |
| 3 a* | 274±59 | 268±56 | 3 b | 145±14 | 141±12 |
| 4 d | 154±11 | 156±10 | 7 c | 154±33 | 149±28 |
| 5 a | 159±29 | 154±26 | 5 d* | 201±23 | 203±27 |
| 7 a | 178±36 | 161±28 | 8 a | 163±11 | 173±12 |
| 8 b* | 192±17 | 204±21 | | | |

* Соединения, полученные направленным синтезом.

Контроль - МЭД коразола (100%), вызывающая КТС и ТЭ у интактных животных.

* Поскольку наблюдается высокая корреляция между значениями ДКТС и ДТЭ ($R = 0.9$), в данном расчете исследовалось только значение ДКТС.

Таблица 3

Физико-химические характеристики производных 1,2-дигидрохиолин-2-онов (5 с - 8)

| Соединение | Брутто-формула | Найдено, % Рассчитано, % | | | | Т.пл., °С (растворитель) | ИК-спектр, ν , см^{-1} KBr | M ⁺ * | Выход, % |
|------------|---|-----------------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|--|------------------|----------|
| | | C | H | Hal | N | | | | |
| 5 с | C ₂₁ H ₁₄ BrN ₃ O ₂ | $\frac{60.07}{60.02}$ | $\frac{3.41}{3.36}$ | $\frac{19.06}{19.01}$ | $\frac{10.06}{10.0}$ | 238-240 (этанол) | 1340, 1500, 1590, 3050-2950, 3380 | 419 | 67,7 |
| 6 а | C ₂₂ H ₁₈ BrN ₃ | $\frac{65.41}{65.36}$ | $\frac{4.42}{4.49}$ | $\frac{19.70}{19.76}$ | $\frac{10.41}{10.37}$ | 236-238 | 1480, 1600, 1610, 2800-3200 | 403 | 77,3 |
| 6 b | C ₂₁ H ₁₆ BrN ₃ | $\frac{64.68}{64.63}$ | $\frac{4.19}{4.13}$ | $\frac{20.41}{20.47}$ | $\frac{10.81}{10.77}$ | 229-230 | 1400, 1550, 2800- 3200 | 389 | 75,1 |
| 6 с | C ₂₂ H ₁₈ ClN ₃ | $\frac{73.49}{73.43}$ | $\frac{5.00}{5.04}$ | $\frac{9.91}{9.85}$ | $\frac{11.72}{11.68}$ | 226-228 | 1450, 1600, 1610, 2880-3200 | 359 | 84,3 |
| 7 а | C ₂₂ H ₁₅ BrN ₄ | $\frac{63.69}{63.63}$ | $\frac{3.69}{3.64}$ | $\frac{19.19}{19.24}$ | $\frac{13.41}{13.49}$ | 199-201 | 1400, 1480, 1590, 2900, 3050 | 414 | 50,2 |
| 7 b | C ₂₁ H ₁₃ BrN ₄ | $\frac{62.81}{62.86}$ | $\frac{3.31}{3.27}$ | $\frac{19.99}{19.91}$ | $\frac{13.90}{13.96}$ | 238-239 | 1400, 1490, 1580, 2920, 3050 | 400 | 53,0 |
| 7 с | C ₂₂ H ₁₅ ClN ₄ | $\frac{71.31}{71.25}$ | $\frac{4.15}{4.08}$ | $\frac{9.60}{9.56}$ | $\frac{15.06}{15.11}$ | 180-182 | 1400, 1480, 1590, 2900, 3050 | 370 | 50,3 |
| 8 а | C ₁₆ H ₁₁ ClN ₂ O ₃ | $\frac{61.02}{61.06}$ | $\frac{3.56}{3.52}$ | $\frac{11.21}{11.26}$ | $\frac{8.94}{8.90}$ | 185-186 (этанол) | 1340, 1550, 3010 | 314 | 51,3 |
| 8 b | C ₂₇ H ₃₃ ClN ₂ O ₃ | $\frac{69.10}{69.14}$ | $\frac{7.04}{7.09}$ | $\frac{7.51}{7.56}$ | $\frac{5.92}{5.97}$ | 66-68 (этанол) | 1330, 1550, 2950 | 468 | 52,0 |
| 8 с | C ₁₆ H ₁₁ N ₃ O ₅ | $\frac{59.14}{59.08}$ | $\frac{3.45}{3.41}$ | - | $\frac{12.96}{12.92}$ | 189-191 (этанол) | 1340, 1570, 3000 | 325 | 52,6 |

* Значения M⁺ приведены для частиц, содержащих изотопы Cl³⁵ и Br⁷⁹

но, что наличие в положении 3 хиолина аминной, бензиламинной и пиперидиновой групп существенно увеличивают противосудорожную активность, а в положении 2 (соединения 3, 5) — несколько уменьшают. Увеличивают данный вид активности заместители R = Hal (Br, Cl) в положении 6 хиолинового остова, R = OR₁ в положении 2 молекулы и наличие метильного заместителя в триазольном цикле [a]-аннелированных хиолинов.

В результате проведения молекулярного дизайна для синтеза были рекомендованы соединения 6-бром-3-нитро-2-пиперидин-1-ил-4-фенилхиолин (3 а), 2-бензиламино-6-бром-3-нитро-4-(2-хлорфенил)хиолин (5 d) [8] и 2-додецилокси-3-нитро-4-фенил-6-хлорхиолин (8 b). После проведения целенаправленного синтеза противосудорожная активность этих соединений (3 а, 5 d и 8 b) была также изучена *in vivo*. Анализ значений ДКТС и ДТЭ позволил определить структурно-функциональные закономерности проявления противосудорожной активности исследованных веществ. В каждой из двух групп соединений (1 а, 2 а, 5 а, Ar = C₆H₅) и (1 d, 2 d, 5 d, Ar = 2Cl-C₆H₄) в эксперименте демонстрировалась почти одинаковая активность — наличие атома галогена в фенильном заместителе в положении 2 практически не влияло на МЭД коразола (табл. 2).

При рассмотрении вклада других заместителей молекулы хиолина на проявление активности

необходимо отметить, что наличие аминогруппы в положении 2 приводит к существенному повышению активности соединений (3 а, b и 5 а, d).

2-Хлорзамещенные производные (2 а и 2 d) демонстрируют несколько меньшую активность. МЭД коразола 2-хлорхиолинов по КТС и по ТЭ составила около 130% по отношению к контрольному значению.

Алкоксипроизводные (8 а, b) проявили более высокую активность: значения МЭД коразола — 173% (8 а, ТЭ) и 204% (8 b, ТЭ).

Триазоло[b]хиолины (7 а, c) оказались более активными (по КТС и ТЭ), чем бициклические аналоги (1 а, d).

Соединения (3 а, 5 d и 8 b), полученные направленным синтезом как потенциальные антиконвульсанты, действительно оказались наиболее эффективными по проявлению противосудорожной активности в ряду изученных соединений. Значения МЭД коразола соединений по КТС и по ТЭ составили 274% и 268% соответственно (соединение 3 а), 201% и 203% (5 d), 192% и 204% (8 b) по отношению к контрольному значению. Высокие прогнозируемые значения активности полностью подтвердились экспериментальными данными.

Таким образом, проведенными исследованиями было показано, что для повышения противосудорожной активности производных 1,2-дигидрохиолин-2-онов в их структуре целесообразно

наличие аминогруппы либо алкоксигруппы в положении 2 и атома галогена в положении 6 хинолинового остова.

В результате исследования было показано, что синтезированные 2-замещенные 1,2-дигидрохинолин-2-оны и конденсированные гетероциклы на их основе проявляют достаточно высокую противосудорожную активность, превышающую значения в контрольной группе животных в 1,3-2,1 раза по ДКТС и 1,4-2,3 раза по ДТЭ.

Полученные предварительные результаты позволяют считать данные соединения перспективными для дальнейшего изучения биологической активности.

Строение всех синтезированных соединений подтверждено данными спектроскопии ЯМР, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и данными элементного анализа. Физико-химические характеристики синтезированных соединений приведены в табл. 3.

Экспериментальная часть

ИК-спектры синтезированных соединений зарегистрированы на приборе Spesord M-80 в табл. КВг. Масс-спектры записаны на масс-спектрометре МХ-1321 с использованием системы прямого ввода образца с энергией ионизирующего излучения 70 эВ. Спектры ^1H ЯМР регистрировались на приборе Varian-VXR-300 (300 МГц) в растворах DMCO-d_6 с ТМС в качестве внутреннего стандарта. Температуру плавления соединений определяли на блоке Кофлера. Контроль за ходом реакций и индивидуальностью синтезированных соединений осуществляли методом ТСХ на пластинках Silufol UV-254 (элюент ацетон-гексан, 1:3, 1:7).

Прогноз спектра биологической активности соединений проводился с использованием версии 1.41 программы "PASS" (ГУ НИИ биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича, г. Москва) [11-13].

QSAR исследования с использованием симплексного представления молекулярной структуры проводились с помощью комплекса программ "HIT QSAR" (Физико-химический институт им. А.В.Богатского НАН Украины, лаборатория теоретической химии) [17, 18].

6-Бром-3-нитро-2-фениламино-4-фенилхинолин (5 с) получен по методике [8]. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.ч.: 8.2 с (1H, NH), 7.05-7.8 м (13H, аром.).

3-Амино-2-бензиламино-6-бром-4-фенилхинолин (6 а), 3-амино-2-фениламино-6-бром-4-фенилхинолин (6 б), 3-амино-2-бензиламино-4-фенил-6-хлорхинолин (6 с). **Общая методика.** К раствору 3,1 ммоль соответствующего исходного 3-нитрохинолина (5 а-с) в 1,0 дм^3 спирта этилового добавляют раствор 62 ммоль гидросульфида натрия в 0,4 дм^3 воды. Смесь кипятят около 9 часов. Разбавленной соляной кислотой доводят реакцию среды охлажденной реакционной смеси до pH = 5-6. Обработанную активированным углем реакционную смесь

упаривают наполовину в роторном испарителе и оставляют для кристаллизации. Образовавшийся осадок отфильтровывают, сушат, кристаллизуют из этанола. Спектры ЯМР ^1H , δ , м.ч.: для (6 а) — 5.04 с (2H, CH_2), 5.68 уш.с (2H, NH₂), 8.04 уш.с (1H, NH), 6.94-8.04 м (13H, аром.); для (6 б) — 4.96 с (2H, NH₂), 8.42 с (1H, NH), 6.96-7.96 м (13H, аром.); для (6 с) — 5.14 с (2H, CH_2), 5.63 уш.с (2H, NH₂), 8.28 уш.с (1H, NH), 6.82-8.28 м (13H, аром.).

3-Бензил-7-бром-9-фенил-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]хинолин (7 а), 7-бром-3,9-дифенил-3H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]хинолин (7 б), 3-бензил-9-фенил-7-хлор-3H-[1,2,3]-триазоло[4,5-b]хинолин (7 с). **Общая методика.** К раствору (0,5 ммоль) соответствующего диаминохинолина (6 а-с) в 150 см^3 уксусной кислоты добавляют нитрит натрия (3,8 ммоль), растворенный в минимальном количестве воды. По окончании реакции (через 10-30 мин) смесь оставляют для кристаллизации, образовавшийся осадок фильтруют, сушат; либо растворитель упаривают досуха, к твердому остатку доливают воду, полученный осадок фильтруют, сушат, кристаллизуют из этилового спирта. Спектры ЯМР ^1H , δ , м.ч.: для (7 а) — 6.08 с (2H, CH_2), 7.3-8.18 м (13H, аром.); для (7 б) — 7.51-8.38 м (13H, аром.); для (7 с) — 6.08 с (2H, CH_2), 7.3-8.26 м (13H, аром.).

2-Метокси-3-нитро-4-фенил-6-хлорхинолин (8 а). К метилату натрия, приготовленному из расчета (6,0 ммоль) NaOH и 40 см^3 метилового спирта, добавляют (1,5 ммоль) соответствующего 2-хлорхинолина (2 б). Смесь кипятят до исчезновения пятна исходного соединения на хроматограмме (около 45 часов). По окончании реакции растворитель упаривают досуха в роторном испарителе; образовавшийся осадок хорошо промывают водой, фильтруют, сушат, кристаллизуют из изопропилового спирта.

3,6-Динитро-2-метокси-4-фенил-6-хлорхинолин (8 с) получают аналогично из (2 с). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.ч.: 7.46 — 8.54 м (8H, аром.), 4.22 с (3H, CH_3).

2-Додецилокси-3-нитро-4-фенил-6-хлорхинолин (8 б). К раствору додецилового спирта (1,25 ммоль) в сухом 1,4-диоксане постепенно добавляют эквивалентное количество натрия гидрида и (1,25 ммоль) 2-хлорхинолина (2 б). Реакционную смесь кипятят с обратным холодильником около 9 часов. По окончании реакции из охлажденной смеси фильтруют осадок NaCl. Фильтрат после обработки Al_2O_3 для удаления смол упаривают досуха в роторном испарителе, твердый остаток кристаллизуют из метилового спирта.

Выводы

1. Осуществлен синтез новых 2-замещенных 1,2-дигидрохинолин-2-она и [1,2,3]триазоло[4,5-b]хинолинов.

2. Исследована противосудорожная активность ряда синтезированных соединений. Определены структурно-функциональные закономер-

ности проявления данной активности исследованных веществ. Показано, что синтезированные 2-замещенные 1,2-дигидрохинолин-2-оны и конденсированные гетероциклы на их основе прояв-

ляют достаточно высокую противосудорожную активность, превышающую значения в контрольной группе животных в 1,3-2,1 раза по ДКТС и 1,4-2,3 раза по ДТЭ.

Литература

1. Sabatini S., Cecchetti V., Tabarrini O., Fravolini A. // *J. Heterocycl. Chem.* — 1990. — Vol. 36, №4. — P. 953-957.
2. O'Neil P., Willock D., Hawley S. et al. // *J. Med. Chem.* — 1997. — Vol. 40, №4. — P. 437-448.
3. Macheimer R., Ahmed E., Attia El-Fahham H., Laila Hanafy Kamel // *Synthesis.* — 2001. — №1. — P. 97-102.
4. Matarrese M., Moresco R.M., Capelli A. et al. // *J. Med. Chem.* — 2001. — Vol. 44, №4. — P. 579-585.
5. Zhu Z., Lippa B., Townsend L. // *J. Org. Chem.* — 1999. — Vol. 64, №11. — P. 4159-4168.
6. Иванов Э.И., Грищук Л.В., Иванова Р.Ю., Мазепа А.В. // *ЖОХ.* — 1999. — Т. 35, №12. — С. 1877-1881.
7. Грищук Л.В., Иванов Э.И., Кузьмин В.Е. и др. // *ХГС.* — 2003. — №3. — С.384-388.
8. Грищук Л.В., Иванов Е.І., Турянська Г.М. та ін. // *Укр. хім. журн.* — 2003. — Т. 69, №2. — С. 116-119.
9. Грищук Л.В., Иванов Э.И., Зубатюк Р.И. и др. // *Укр. хим. журн.* — 2004. — Т. 70, №12. — С. 95-100.
10. Фроловский В.А., Студнев Ю.Н., Гарибова Т.А., Воронина Т.А. // *Хим.-фарм. журн.* — 2004. — Т. 38, №9. — С. 3-15.
11. Поройков В.В., Филимонов Д.А., Степанчикова А.В. и др. // *Хим.-фарм. журн.* — 1996. — Т. 30, №9. — С. 20-23.
12. Бородин Ю.В., Филимонов Д.А., Поройков В.В. // *Хим.-фарм. журн.* — 1996. — Т. 30, №12. — С. 39-41.
13. Anzali S., Barnickel G., Cezanne B. et al. // *J. Med. Chem.* — 2001. — Vol. 44, №15. — P. 2432-2437.
14. Кузьмін В.Є., Грищук Л.В., Иванов Е.І. та ін. // *Вісник Одеського нац. університету.* — 2004. — Т. 9, №3. — С. 91-99.
15. Зиньковский В.Г., Головенко Н.Я., Богатский А.В. // *Бюл. эксперим. биол. и медицины.* — 1981. — №1. — С. 40-42.
16. Головенко Н.Я., Зиньковский В.Г. // *Бюл. эксперим. биол. и медицины.* — 1976. — №9. — С. 1078-1081.
17. Kuz'min V.E., Artemenko A.G., Lozitsky V.P. et al. // *Acta Biochimica Polonica.* — 2002. — Vol. 49, №1. — P. 157-168.
18. Кузьмин В.Е., Артеменко А.Г., Челомбитко В.А. и др. // *Тр. научно-практ. семинара "Связь "структура — свойства" биологически активных веществ".* — Гурзуф, 2002. — С. 22-26.
19. Rannar S., Lindgren F., Geladi P., Wold S. // *J. Chemometrics.* — 1994. — Vol. 8. — P. 111-125.

Надійшла до редакції 31.05.2007 р.

Авторы выражают огромную благодарность члену-корреспонденту НАН Украины Камалову Г.Л. за плодотворные дискуссии и рекомендации в исследовании.

УДК 615.07:54.062:543.422.7

ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ФОТОКОЛОРИМЕТРІЇ ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ВОДНОГО РОЗЧИНУ ФУРАЦИЛІНУ В АПТЕЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ

В.А.Георгіянц, О.А.Євтіфєєва, К.І.Проскуріна

Національний фармацевтичний університет,
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: kssl-ipksf@ukrfa.kharkov.ua

Ключові слова: аналіз; екстемпоральні лікарські форми; фотоколориметрія; фурацилін

Вивчено валідаційні характеристики адаптованої фотоколориметричної методики кількісного визначення фурациліну у лікарській формі (водний розчин фурациліну 0,02%) методом стандарту за схемою, затвердженою ДФУ, в умовах контрольної-аналітичної лабораторії. Отримані результати дозволяють рекомендувати цю методику для аналізу екстемпоральних прописів в умовах аптек.

THE USE OF PHOTOCOLORIMETRIC METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF FURACYLIN AQUEOUS SOLUTION IN EXTEMPORAL MEDICINAL FORMS

V.A.Georgiyants, O.A.Yevtifeeva, K.I.Proskurina

The validation characteristics of the adapted photocolometric method for quantitative determination of furacylin in a medicinal form (aqueous solution of 0.02% furacyline) have been studied by the standard method according to the article of the Ukrainian State Pharmacopoea in the analytical laboratory conditions. The results obtained allow recommending this method for the analysis of the extemporal formulation in the conditions of chemist's shops.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ФОТОКОЛОРИМЕТРИИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОДНОГО РАСТВОРА ФУРАЦИЛИНА В АПТЕЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

В.А.Георгиянц, О.А.Евтифеева, К.И.Проскурина

Изучены валидационные характеристики адаптированной фотоколориметрической методики количественного определения фурацилина в лекарственной форме (водный раствор фурацилина 0,02%) методом стандарта по схеме, утвержденной ГФУ, в условиях контрольно-аналитической лаборатории. Полученные результаты позволяют рекомендовать данную методику для анализа экстемпоральной прописи в условиях аптек.

Однією з найважливіших складових вирішення проблеми збереження екстемпоральної рецептури в Україні є сучасний рівень контролю її якості. Усі види аналітичного контролю екстемпоральної рецептури на етапі виготовлення і готових лікарських форм в Україні регламентують “Правила виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки” [1]. Згідно з цими Правилами невід’ємною частиною забезпечення та контролю якості екстемпоральної рецептури є валідність аналітичних методик аналізу. Поняття валідації аналітичних методик та випробувань вперше вводиться Державною фармакопеею України [2-6] і висуває, у свою чергу, ряд вимог до аналітичних методик та випробувань на їх придатність для вирішення поставлених завдань.

Об’єктами фармацевтичного аналізу лікарських засобів внутрішньоаптечного виготовлення є речовини різноманітної будови, починаючи від простих неорганічних і органічних аліфатичних сполук і закінчуючи складними речовинами природного або синтетичного походження гетеро-

циклічної структури (вітаміни, антибіотики, алкалоїди і т.п.), а також їх багатокомпонентні суміші. Тому аналіз екстемпоральних лікарських форм вимагає використання як хімічних так і фізико-хімічних методів аналізу. З другого боку, вибір аналітичних методів та методик аналізу суттєво обмежується матеріально-технічним забезпеченням аптек. До найбільш посильних для аптечного оснащення та простих у використанні відносять такі аналітичні методи як об’ємний аналіз, рефрактометрія, поляриметрія, потенціометрія, а також фотоколориметрія.

На особливу увагу серед цих методів заслуговує метод фотоколориметрії, тому що в порівнянні з ними він характеризується більш високою точністю, чутливістю, специфічністю та експресністю. До того ж фотоколориметричне обладнання сьогодні присутнє в усіх аптеках, які мають ліцензію на виготовлення лікарських засобів (обов’язкова його наявність регламентується п.6, Додатку 1, “Інструкції з контролю якості лікарських засобів, виготовлених в аптеці” [7]).

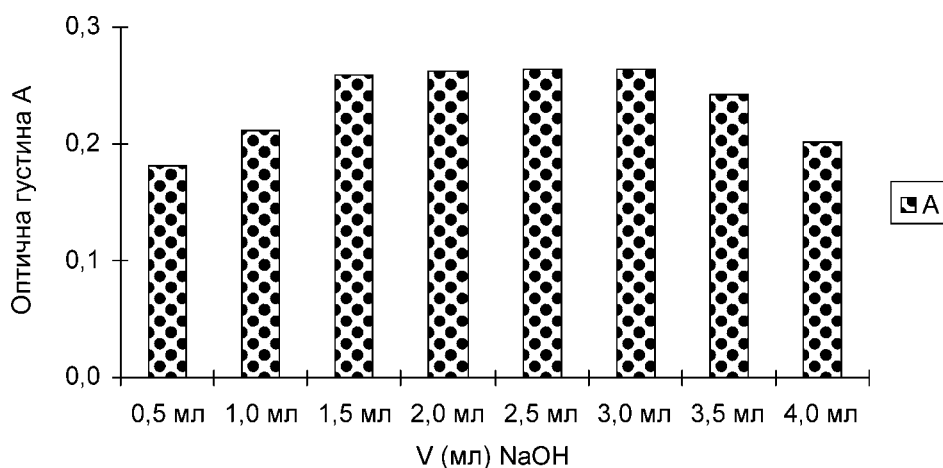


Рис. 1. Графік залежності оптичної густини (довжина хвилі 440 нм) розчину фурациліну від концентрації 1М NaOH

Слід відмітити, що аналіз аналітичних методик екстемпоральної рецептури, яку містять різноманітні посібники, довідники, методичні рекомендації, показав, що у внутрішньоаптечному контролі лікарських засобів метод фотоколориметрії застосовується достатньо широко.

Сьогодні в ДФУ не наводяться рекомендації з валідації аналітичних методик фотоколориметричним методом, відсутні загальні метрологічні характеристики для фотоколориметрів, так звана “зовнішня стандартизація”. Загальна стаття “Фотоколориметрія” (ДФ СРСР XI видання) [8] наводить лише загальні принципи використання фотоколориметричного методу, однак там не містяться вимоги до обладнання цього типу.

Метрологічними характеристиками аналітичного обладнання називають їх технічні характеристики, які впливають на результати та погрішності вимірів. Для кожного типу обладнання (різні прилади, мірний посуд, ваги та інше) комплекс цих характеристик обирається та нормується таким чином, щоб за їх допомогою можна було оцінити погрішність вимірів. Характеристики ж, заявлені виробником у технічній документації (специфікації), не завжди збігаються з критичними параметрами, які необхідно підтвердити для коректного відтворення методик аналізу.

У зв'язку з цим виникає питання з приводу правомірності використання методу фотоколориметрії та наскільки коректні і достовірні результати, отримані в результаті використання обладнання, що не мають так званої “зовнішньої стандартизації”, а відповідають тільки своїм специфікаціям.

Враховуючи вищезазначені аргументи, ми вважали за доцільне вивчити коректність фотоколориметричної методики кількісного визначення внутрішньоаптечної заготовки: водного розчину фурациліну 0,02% на фотоколориметрах різного класу.

Свої дослідження ми почали з підбору прийнятної фотоколориметричної методики аналізу водного розчину фурациліну. Аналіз літературних даних [9–10] показав, що існує дві фотоколориметричні методики кількісного визначення фураци-

ліну на основі його реакції з натрію гідроксидом. Основна відміна між ними полягала в різному співвідношенні реагентів фурациліну і натрію гідроксиду та у різному часі фотометрування після одержання забарвленого розчину [11].

По-перше, було вивчено спектр водного та лужного розчинів фурациліну, проведено оцінку невизначеності пробопідготовки обох методик та вивчено валідаційні характеристики найбільш коректної методики. Проведені дослідження [11] показали, що оптична густина аналітичних розчинів для аналізу є дуже нестабільною, а її значення зменшується з часом.

Тому, щоб визначитися з методикою та зменшити об'єм експерименту, ми провели вивчення умов проведення фотометричної реакції. Визначення проводили на 8 модельних розчинах, у яких концентрація фурациліну одна й та ж, а об'єм натрію гідроксиду змінювався від 0,5 мл до 4,0 мл. Було визначено значення рН модельних розчинів, при яких спостерігається максимально стабільне значення оптичної густини при $S_{\text{фур-const}}$ та оптимальна кількість розчину 1М NaOH, яка необхідна для повного зв'язування аналізуемого іона в забарвлену сполуку (рис. 1).

Також при вивченні робасності важливим показником надійності методики є стабільність аналітичних розчинів. В АНД [5, 6] не регламентується термін, протягом якого проводять вимірювання оптичної густини випробуваного розчину, тому ми перевіряли стабільність аналітичних розчинів протягом години. Статистично оброблені результати експерименту наведені в табл. 1. Отримані результати вивчення стабільності доводять, що аналітичні розчини (модельний та порівняння) відповідають вимогам стабільності. Однак показники стабільності аналітичних розчинів протягом 45 хв характеризуються більшою достовірністю.

Таким чином, ми отримали адаптовану методику кількісного визначення внутрішньоаптечної заготовки (водного розчину фурациліну 0,02%) фотоколориметричним методом.

Таблиця 1

Результати дослідження стабільності аналітичних розчинів

| Розчин | Термін дослідження стабільності t , хв | | | | | Метрологічні характеристики для 60 хв | | | max δ , % | Метрологічні характеристики для 45 хв | | |
|--------|--|--------|--------|--------|--------|---------------------------------------|--------------|----------------|------------------|---------------------------------------|--------------|----------------|
| | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | середнє | RSD $_t$, % | Δ_t , % | | Середнє | RSD $_t$, % | Δ_t , % |
| 1 | 0,5810 | 0,5790 | 0,5787 | 0,5777 | 0,5720 | 0,5772 | 0,59 | 1,25 | 1,54 | 0,5785 | 0,24 | 0,57 |
| 2 | 0,5767 | 0,5753 | 0,5743 | 0,5730 | 0,5683 | 0,5735 | 0,56 | 1,19 | | 0,5748 | 0,27 | 0,64 |

* Значення оптичної густини є середнім 3-х вимірів розчину

З метою визначення коректності даної методики ми провели дослідження валідаційних характеристик: лінійності, правильності, точності на рівні збіжності та відтворюваності.

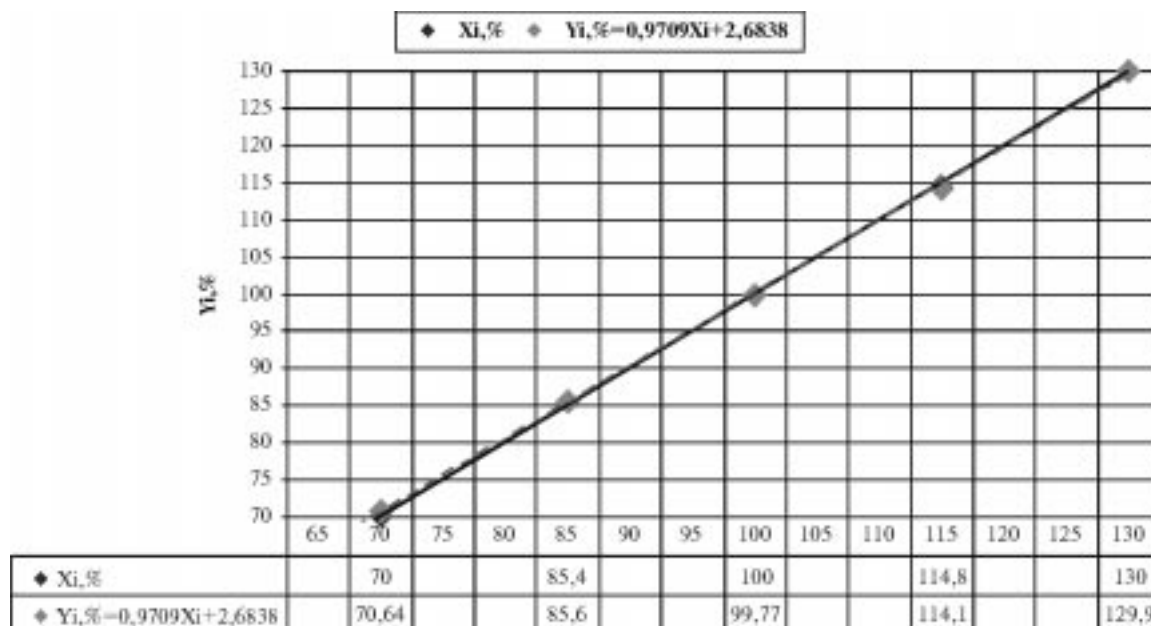
Відповідно до вмісту фурациліну (0,02%) в лікарській формі і враховуючи вимоги АНД [1] (у нашому випадку $\pm 15\%$), ми обрали діапазон застосування методики від 70 до 130%.

Для оцінки метрологічних характеристик методики спочатку було проведено теоретичний розрахунок критеріїв прийнятності методики аналізу [1, 5, 12]: максимально припустимої повної невизначеності методики, яка встановлює $\max \Delta_{As} = 4,8\%$, максимальної систематичної похибки — $\max \delta = 1,54$, вклад плацебо у сумарну величину фонового поглинання є незначущим і ним можна знехтувати, коли виконується відношення $\delta_{exs} \leq 0,5\%$, критичне значення $RSD_0\% = 2,71$, індексу кореляції $R_c =$

0,9924, критичне значення практичної невизначеності вільного члена лінійної залежності — $a = 5,12$.

Експериментально встановлено, що натрію гідроксид (розчин плацебо) у робочій концентрації практично не поглинає в аналітичній області ($\delta_{exs} = 0,1\%$) і не заважає визначенню фурациліну в лікарській формі, тобто фонове поглинання є незначущим, і методика характеризується належною специфічністю.

Вивчення характеру залежності оптичної густини від концентрації проводили, використовуючи 15 модельних розчинів для аналізу, тобто 5 аналітичних розчинів з точними наважками концентрацій: 70%, 85%, 100%, 115%, 130% з подальшим приготуванням на основі кожного по три паралельних розведення (більш детально ця стандартизована процедура описана в роботі [12]). Отримані результати були статистично оброблені



Введено у % до концентрації розчину порівняння

Рис. 2. Графік залежності оптичної густини від концентрації фурациліну в нормалізованих координатах.

Кутовий коефіцієнт лінійної залежності $b = 0,9709$

$S_b = 0,012$

Вільний член лінійної залежності $a = 2,68$

Критичне значення для вільного члена лінійної залежності $a = 5,12$

$S_a = 1,24$

Остаточне стандартне відхилення $RSD_0 = 0,478$

Критерій остаточного стандартного відхилення $RSD_0 = 2,71$

Коефіцієнт кореляції методики $r = 0,9998$

Критерій лінійного коефіцієнту кореляції $R_0 = 0,9924$

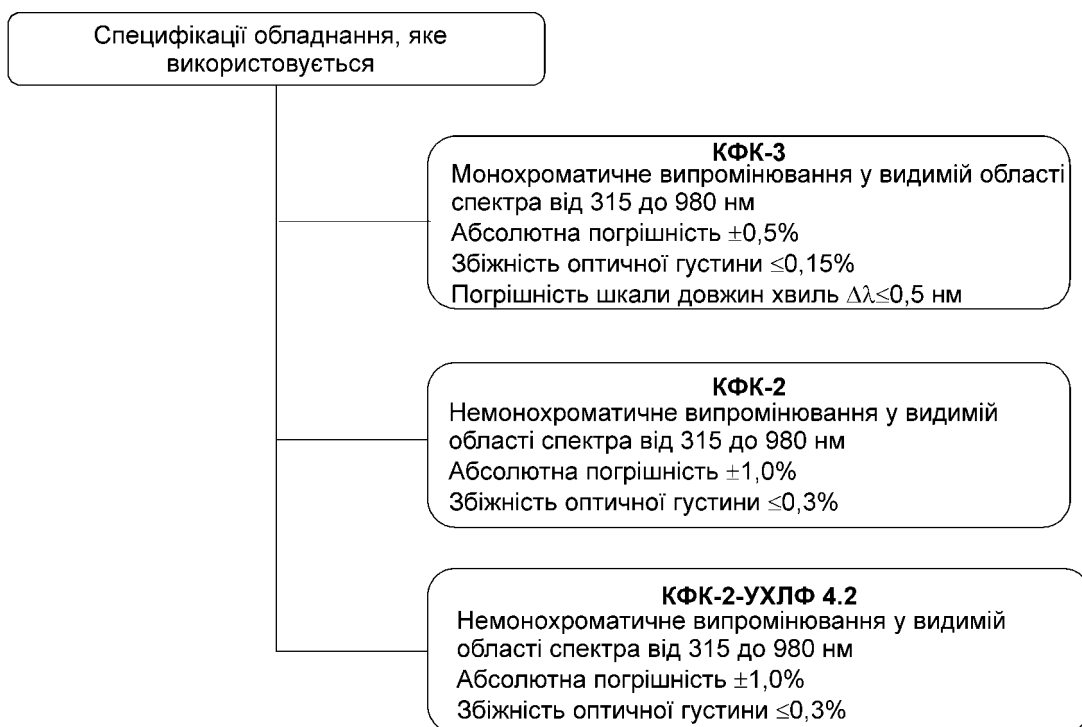


Рис. 3. Специфікації обладнання, яке використовується.

методом найменших квадратів згідно з вимогами ДФУ. Побудову калібрувального графіка проводили в нормалізованих координатах [13, 14] (рис. 2). Вимоги до параметрів лінійної залежності у нашому випадку виконуються на всьому діапазоні застосування методики.

Експериментальне підтвердження здатності методики давати прийнятні результати в умовах контрольно-аналітичної лабораторії, тобто валідаційні характеристики: правильність і точність (збіжність) вивчалися одночасно з лінійністю на тих же модельних розчинах. За одержаними результатами (табл. 2) видно, що методика аналізу характеризується достатньою збіжністю та правильністю на всьому діапазоні концентрацій (70-130%).

Далі проводили дослідження відтворюваності методики, тобто визначали вплив на результати аналізу за цією методикою таких факторів як умови іншої лабораторії, різні дні, різні аналітики, різне обладнання різного класу. Сьогодні в аптеках, які мають ліцензію на виготовлення лікарських засобів, більш розповсюджено фотоколориметричне обладнання різного класу: КФК-3, КФК-2, КФК-2-УХЛФ 4.2 та інше, яке суттєво відрізняється специфікаціями (рис. 3). Тому для з'ясування характеру впливу класу обладнання на сумарну похибку визначення ми проводили дослідження на приладах різного класу. Результати вивчення правильності та збіжності на різних приладах наведені в табл. 3 і 4. Дані порівняння отриманих метрологічних характеристик аналізу (табл. 2-4) свідчать, що незалежно від класу обладнання отримані результати є вільними від систематичної похибки.

Результати вивчення міжлабораторної точності (табл. 5) свідчать, що вимоги виконуються.

Для кількісних випробувань інтегральною характеристикою якості є повна невизначеність результату аналізу [15]. Невизначеність — це довірчий інтервал, у межах якого з заданою ймовірністю знаходиться справжнє значення. Без оцінки невизначеності результату аналізу неможливо оцінити, наскільки коректні отримані результати, тобто без оцінки невизначеності лабораторія не може гарантувати необхідну високу ймовірність того, що при аналізі в іншій лабораторії про якість лікарського засобу буде зроблено такий самий висновок. Рекомендації до максимально допустимої невизначеності результатів кількісного визначення введені в ДФУ [6]. Прогнозована повна невизначеність результатів аналізу не повинна перевищувати максимально припустиму невизначеність аналізу $\max \Delta_{As}$. Її розраховують за формулою:

$$\Delta_{As} = \sqrt{(\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2)},$$

де: Δ_{SP} — невизначеність пробопідготовки (зважування, узяття аліквот тощо), яка розраховується з вимог до гранично припустимих похибок для мірного посуду та вагів; Δ_{FAO} — прогнозована невизначеність кінцевої аналітичної операції, яка залежить від точності аналітичного методу.

Повна невизначеність пробопідготовки даної методики (із урахуванням випробуваного розчину та розчину порівняння) за ДФУ [6] становить: $\Delta_{SP} = 1,39\%$.

У випадку спектрофотометричного аналізу [14] Δ_{FAO} розраховують, враховуючи наявність 2 розчинів (випробуваного та розчину порівняння), а

Таблиця 2

Результати аналізу модельних розчинів та їх статистична обробка на обладнанні КФК-3

| № модельного розчину | Наважки фурациліну, мг ($m_{st} = 0,0200$) | Введено у % до концентрації розчину порівняння ($X_{i\text{факт}} \%$) | Оптична густина A_i ($A_{st} = 0,5783$) | Знайдено у % до конц. розчину порівняння ($Y_i \%$) | Знайдено у % до введеного $Z_i = 100(Y_i/X_i)$ |
|---|--|--|---|---|--|
| 1 | 0,0350 | 70,00 | 0,406 | 70,21 | 100,29 |
| 2 | | 70,00 | 0,408 | 70,55 | 100,79 |
| 3 | | 70,00 | 0,407 | 70,38 | 100,54 |
| 4 | 0,0427 | 85,40 | 0,500 | 86,46 | 101,24 |
| 5 | | 85,40 | 0,498 | 86,11 | 100,84 |
| 6 | | 85,40 | 0,499 | 86,29 | 101,04 |
| 7 | 0,0500 | 100,00 | 0,576 | 99,60 | 99,60 |
| 8 | | 100,00 | 0,576 | 99,60 | 99,60 |
| 9 | | 100,00 | 0,575 | 99,43 | 99,43 |
| 10 | 0,0574 | 114,80 | 0,656 | 113,44 | 98,81 |
| 11 | | 114,80 | 0,657 | 113,61 | 98,96 |
| 12 | | 114,80 | 0,658 | 113,78 | 99,11 |
| 13 | 0,0650 | 130,00 | 0,749 | 129,52 | 99,63 |
| 14 | | 130,00 | 0,748 | 129,34 | 99,50 |
| 15 | | 130,00 | 0,745 | 128,83 | 99,10 |
| Середнє $Z\% =$ | | | | | 99,90 |
| Відносне стандартне відхилення $S_z\% =$ | | | | | 0,81 |
| Відносний довірчий інтервал $\Delta_{95}\% =$ | | | | | 1,44 |
| Критичне значення для збіжності результатів $\Delta_{95}\% =$ | | | | | 4,80% |
| Систематична погрішність $\delta =$ | | | | | -0,10 |
| Критерій невизначеності систематичної погрішності: 1) статистична = 2), якщо не виконується 1), то практична $\delta \leq 1,54$ | | | | | 0,40 |
| Загальний висновок про методику | | | | | коректна |

Таблиця 3

Результати аналізу модельних розчинів та їх статистична обробка на обладнанні КФК-2

| № модельного розчину | Наважки фурациліну, мг ($m_{st} = 0,0200$) | Введено у % до концентрації розчину порівняння ($X_{i\text{факт}} \%$) | Оптичні густини A_i ($A_{st} = 0,2746$) | Знайдено у % до концентрації розчину порівняння ($Y_i \%$) | Знайдено у % до введеного $Z_i = 100(Y_i/X_i)$ |
|---|--|--|---|--|--|
| 1 | 0,0350 | 70,00 | 0,196 | 71,38 | 101,97 |
| 2 | | 70,00 | 0,196 | 71,38 | 101,97 |
| 3 | | 70,00 | 0,196 | 71,38 | 101,97 |
| 4 | 0,0427 | 85,40 | 0,238 | 86,67 | 101,49 |
| 5 | | 85,40 | 0,238 | 86,67 | 101,49 |
| 6 | | 85,40 | 0,238 | 86,67 | 101,49 |
| 7 | 0,0500 | 100,00 | 0,274 | 99,78 | 99,78 |
| 8 | | 100,00 | 0,274 | 99,78 | 99,78 |
| 9 | | 100,00 | 0,274 | 99,78 | 99,78 |
| 10 | 0,0574 | 114,80 | 0,310 | 112,89 | 98,34 |
| 11 | | 114,80 | 0,310 | 112,89 | 98,34 |
| 12 | | 114,80 | 0,310 | 112,89 | 98,34 |
| 13 | 0,0650 | 130,00 | 0,356 | 129,64 | 99,73 |
| 14 | | 130,00 | 0,358 | 130,37 | 100,29 |
| 15 | | 130,00 | 0,358 | 130,37 | 100,29 |
| Середнє $Z\% =$ | | | | | 100,33 |
| Відносне стандартне відхилення, $S_z\% =$ | | | | | 1,3428 |
| Відносний довірчий інтервал $\Delta_{95}\% =$ | | | | | 2,3651 |
| Критичне значення для збіжності результатів $\Delta_{95}\% =$ | | | | | 4,80% |
| Систематична погрішність $\delta =$ | | | | | 0,33 |
| Критерій невизначеності систематичної погрішності: 1) статистична = 2), якщо не виконується 1), то практична $\delta \leq 1,54$ | | | | | 0,40 |
| Загальний висновок про методику | | | | | коректна |

Таблиця 4

Результати аналізу модельних розчинів та їх статистична обробка на обладнанні КФК-2-УХЛА.2

| № модельного розчину | Наважки фурациліну, мг ($m_{st} = 0,0200$) | Введено у % до концентрації розчину порівняння ($X_{i\text{факт}} \%$) | Оптичні густини A_i ($A_{st} = 0,5573$) | Знайдено у % до концентрації розчину порівняння ($Y_i \%$) | Знайдено у % до введеного $Z_i = 100(Y_i/X_i)$ |
|---|--|--|---|--|--|
| 1 | 0,0350 | 70,00 | 0,392 | 70,34 | 100,48 |
| 2 | | 70,00 | 0,392 | 70,34 | 100,48 |
| 3 | | 70,00 | 0,392 | 70,34 | 100,48 |
| 4 | 0,0427 | 85,40 | 0,480 | 86,13 | 100,85 |
| 5 | | 85,40 | 0,480 | 86,13 | 100,85 |
| 6 | | 85,40 | 0,480 | 86,13 | 100,85 |
| 7 | 0,0500 | 100,00 | 0,558 | 100,13 | 100,13 |
| 8 | | 100,00 | 0,558 | 100,13 | 100,13 |
| 9 | | 100,00 | 0,558 | 100,13 | 100,13 |
| 10 | 0,0574 | 114,80 | 0,620 | 111,25 | 96,91 |
| 11 | | 114,80 | 0,620 | 111,25 | 96,91 |
| 12 | | 114,80 | 0,618 | 110,89 | 96,60 |
| 13 | 0,0650 | 130,00 | 0,710 | 127,40 | 98,00 |
| 14 | | 130,00 | 0,710 | 127,40 | 98,00 |
| 15 | | 130,00 | 0,710 | 127,40 | 98,00 |
| Середнє $Z\% =$ | | | | | 99,25 |
| Відносне стандартне відхилення, $S_z\% =$ | | | | | 1,6321 |
| Відносний довірчий інтервал $\Delta_{as}\% =$ | | | | | 2,8747 |
| Критичне значення для збіжності результатів $\Delta_{as}\% =$ | | | | | 4,80% |
| Систематична погрішність $\delta =$ | | | | | -0,75 |
| Критерій невизначеності систематичної погрішності: 1) статистична = 2), якщо не виконується 1), то практична $\delta \leq 1,54$ | | | | | 0,40 |
| Загальний висновок про методику | | | | | коректна |

Таблиця 5

Результати вивчення міжлабораторної точності

| Відтворюваність методики в різних лабораторіях на обладнанні різного класу | | | | |
|--|----------------|----------------------------------|----------------|-------|
| № модельного розчину | величини Z_i | | | |
| | КФК-3 | КФК-2 | КФК-2-УХЛА 4.2 | |
| 1 | 100,29 | 101,97 | 100,48 | |
| 2 | 100,79 | 101,97 | 100,48 | |
| 3 | 100,54 | 101,97 | 100,48 | |
| 4 | 101,24 | 101,49 | 100,85 | |
| 5 | 100,84 | 101,49 | 100,85 | |
| 6 | 101,04 | 101,49 | 100,85 | |
| 7 | 99,6 | 99,78 | 100,13 | |
| 8 | 99,6 | 99,78 | 100,13 | |
| 9 | 99,43 | 99,78 | 100,13 | |
| 10 | 98,81 | 98,34 | 96,91 | |
| 11 | 98,96 | 98,34 | 96,91 | |
| 12 | 99,11 | 98,34 | 96,60 | |
| 13 | 99,63 | 99,73 | 98,00 | |
| 14 | 99,5 | 100,29 | 98,00 | |
| 15 | 99,1 | 100,29 | 98,00 | |
| Середнє $Z\% =$ | | 99,90 | 100,34 | 99,25 |
| Об'єднане середнє $Z_{intra}\% =$ | | 99,83 | | |
| $S_{intra}\% =$ | | 0,82 | 1,44 | 1,75 |
| Об'єднане відносне стандартне відхилення $SD_{intra}\% =$ | | 1,39 | | |
| Міжлабораторна систематична погрішність $\delta =$ | | 0,17 | | |
| $\Delta_{intra}\% =$ | | $1,68 \cdot 1,39 = 2,34 < 4,8\%$ | | |
| Загальний висновок про точність методики | | коректна | | |

Таблиця 6

Статистична обробка результатів визначення сумарної фотометричної погрішності приладів різного класу

| № п/п | КФК-3 | КФК-2 | КФК-2-УХЛ 42 |
|---|-----------------------|--------|--------------|
| 1 | 0,288 | 0,285 | 0,329 |
| 2 | 0,289 | 0,286 | 0,334 |
| 3 | 0,285 | 0,287 | 0,335 |
| 4 | 0,290 | 0,287 | 0,343 |
| 5 | 0,289 | 0,288 | 0,328 |
| 6 | 0,289 | 0,288 | 0,331 |
| 7 | 0,289 | 0,288 | 0,332 |
| 8 | 0,288 | 0,289 | 0,334 |
| 9 | 0,288 | 0,289 | 0,339 |
| 10 | 0,288 | 0,289 | 0,333 |
| 11 | 0,289 | 0,289 | 0,331 |
| 12 | 0,288 | 0,285 | 0,332 |
| 13 | 0,287 | 0,287 | 0,332 |
| 14 | 0,288 | 0,287 | 0,322 |
| 15 | 0,289 | 0,288 | 0,330 |
| 16 | 0,289 | 0,288 | 0,329 |
| 17 | 0,290 | 0,288 | 0,331 |
| 18 | 0,288 | 0,289 | 0,331 |
| 19 | 0,289 | 0,289 | 0,332 |
| 20 | 0,288 | 0,289 | 0,332 |
| 21 | 0,287 | 0,288 | 0,331 |
| 22 | 0,288 | 0,287 | 0,331 |
| 23 | 0,288 | 0,287 | 0,331 |
| 24 | 0,289 | 0,287 | 0,332 |
| 25 | 0,289 | 0,288 | 0,333 |
| 26 | 0,288 | 0,287 | 0,333 |
| 27 | 0,289 | 0,286 | 0,331 |
| 28 | 0,290 | 0,287 | 0,331 |
| 29 | 0,290 | 0,285 | 0,333 |
| 30 | 0,289 | 0,285 | 0,333 |
| Середнє А= | 0,2885 | 0,2874 | 0,3320 |
| Стандартне відхилення S _A %= | 0,058 | 0,13 | 0,34 |
| RSD _{sp,r} %= | 0,20 | 0,45 | 1,03 |
| Δ _{FAO} = | 0,27 | 0,61 | 1,39 |
| Прогнозована повна невизначеність Δ _{AS} = | 1,42 | 1,52 | 1,96 |
| Максимально допустима невизначеність maxΔ _{AS} = | 4,8 > Δ _{AS} | | |

також рекомендації не менше 3-х паралельних вимірювань оптичної густини з вийманням кювети для кожного розчину, за формулою:

$$\Delta_{FAO} = \sqrt{2} \cdot \frac{RSD_A \cdot 1,65}{\sqrt{3}}$$

де 1,65 — коефіцієнт Гауса для однобічної ймовірності 95% [6].

Тобто визначення Δ_{FAO} неможливе без вивчення сумарної фотокolorиметричної погрішності. Визначення RSD_A проводили, розраховуючи відносне стандартне відхилення оптичної густини А модельного розчину при довжині хвилі 440 нм за 30 вимірюваннями з вийманням кювети для кожного приладу. Статистична обробка отриманих результатів наведена в табл. 6. У нашому випадку об'єднана величина відносного стандартного від-

хилення оптичної густини складає RSD_A = 0,56, прогнозована невизначеність кінцевої аналітичної операції — прогнозовано повна невизначеність результатів аналізу — Δ_{FAO} = 0,76,

$$\Delta_{AS} = \sqrt{1,39^2 + 0,76^2} = 1,58 < 4,8\% = \max \Delta_{AS},$$

тобто методика може бути коректно відтворена в умовах лабораторій та аптек на цьому типі обладнання.

Отримані метрологічні характеристики методики аналізу на приладах різного класу дозволяють оцінити вплив характеру обладнання на валідаційні характеристики методики і повністю підтверджують наші припущення: метрологічні характеристики методики покращуються або погіршуються в залежності від класу обладнання. Однак загальний хід залежності похибки вимірюван-

ня від абсолютного значення оптичної густини дуже близький до теоретичного. Він практично не залежить від класу обладнання, а лише відрізняється по абсолютному значенню похибки δ : чим вище клас приладу і точніше відлік за шкалою, тим менше абсолютне значення відносної похибки при збереженні постійного загального ходу залежності.

Експериментальна частина

Фотоколориметричне кількісне визначення розчину фурациліну 0,02% методом стандарту проводили за допомогою вимірювання в інтервалі довжин хвиль від 400 до 440 нм (синій світлофільтр) оптичних густин розчину випробуваного зразка (A_x) і розчину порівняння (A_{st}) з концентрацією C_{st} . Розрахунок концентрації C_x аналізованого компонента проводили за формулою [5]:

$$X = \frac{C_i}{C_{st}} = \frac{A_i}{A_{st}} .$$

Вимірювання оптичних густин випробуваного розчину і розчину порівняння проводили з використанням кювети завдовжки 1 см при температурі $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ за одних і тих же умов з мінімальним інтервалом у часі.

При проведенні досліджень використовувалась субстанція фурациліну виробництва фірми "MENADIONA, S.A.", Барселона, Іспанія (серія 3009/10214 від 02.02.2004 р., сертифікат аналізу №87 від 19.03.2004 р.), яка відповідає вимогам Британської фармакопеї [16], Фармакопеї США XXIV [3], Європейської фармакопеї [17].

Аналітичне обладнання: фотометр фотоелектричний КФК-3, КФК-2, КФК-2-УХЛА 4.2; ваги АВ 204 S/A METTLER TOLEDO. Для роботи використовувався мірний посуд класу А (першого класу), який відповідає вимогам ДФУ, піпетки відповідають ДОСТ 29227-91.

При проведенні валідації методики кількісного визначення досліджували такі валідаційні характеристики: специфічність, лінійність, правильність, точність, а також стабільність у часі.

Розчин порівняння. 0,02 г розчину (точна наважка) поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл і суспендували у 5 мл води Р. Коли субстанція цілком була змочена, додавали 70 мл води Р та перемішували до повного розчинення при нагріванні, доводячи до кипіння. Потім після повного охолодження до $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ доводили об'єм розчину водою Р до 100,0 мл. Далі 2,0 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, додавали 2,0 мл 1 М розчину натрію гідроксиду і

доводили об'єм розчину водою Р до 50,0 мл (готували чотири паралельних розведення).

Випробуваний та модельні розчини для визначення валідаційних характеристик готували по такій схемі: m г розчину (точна наважка) поміщали у мірну колбу місткістю 250 мл і суспендували у 15 мл води Р. Коли субстанція цілком була змочена, додавали 170 мл води Р та перемішували до повного розчинення при нагріванні, доводячи до кипіння. Потім після повного охолодження до $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ доводили об'єм розчину водою Р до 250,0 мл. Далі 2,0 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, додавали 2,0 мл 1 М розчину натрію гідроксиду і доводили об'єм розчину водою Р до 50,0 мл (готували три паралельних розведення).

Модельні розчини для визначення робасності готували, використовуючи 8 однакових аліквот по 2,0 мл розчину фурациліну 0,02% з додаванням до кожної різної кількості 1 М розчину натрію гідроксиду від 0,5 мл до 4,0 мл, тобто: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 та доводили об'єм розчину водою Р до 50,0 мл.

Зразу після виготовлення вимірювали оптичну густину розчинів випробуваного зразка та зразка порівняння за обраною аналітичною довжиною хвилі відносно розчинника — води Р.

Вимірювання оптичної густини проводили з вийманням кювети.

Висновки

1. Запропоновано адаптовану фотоколориметричну методику кількісного визначення внутрішньо-аптечної заготовки: водного розчину фурациліну 0,02%.

2. Здійснено валідацію запропонованої фотоколориметричної методики кількісного визначення розчину фурациліну методом стандарту відповідно до вимог ДФУ за такими валідаційними характеристиками: специфічність, робасність, лінійність, правильність і точність.

3. Отримані експериментальні дані свідчать, що дана методика характеризується якісними аналітичними показниками та може бути коректно відтворена в умовах лабораторій та аптек.

4. Отримані експериментальні дані стосовно впливу класу фотоколориметрів на результати аналізу свідчать, що метрологічні характеристики методики покращуються або погіршуються в залежності від класу обладнання при збереженні постійним загального ходу залежності похибки вимірювання від абсолютного значення оптичної густини.

Література

1. Наказ МОЗ України "Про затвердження Правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки" (зі змінами та доповненнями) від 15.12.2004 р. №626.
2. *Technical Guide for the Elaboration of Monographs*. — 3rd Ed., Ch. III, Analytical Validation, Pharmeuropa. — 1999. — December. — 88 p.
3. *The United States Pharmacopoeia*. — XXIV Ed. — United States Pharmacopoeia Convention, Inc, 2000. — P. 2149.

4. *The Japanese Pharmacopoeia. — XIII Ed. — The Ministry of Health and Welfare, 1996. — P. 1071.*
5. *Державна фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.*
6. *Державна фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. — Доповнення 1. — Х.: РІРЕГ, 2004. — 520 с.*
7. *Приказ МЗ СССР “О контроле качества лекарственных средств, изготовляемых в аптеках” от 3.04.1991 г. №96.*
8. *Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1987. — 336 с.*
9. *Фотометрия в фармацевтическом анализе: Метод. пособие / И.А.Мазур, З.Б.Моряк, Т.В.Проценко и др. — Запорожье, 1999. — 26 с.*
10. *Кулешова М.И., Гусева Л.Н., Сивицкая О.К. Анализ лекарственных форм, изготовляемых в аптеках. — М.: Медицина, 1989. — 228 с.*
11. *Євтифєєва О.А., Георгіянци В.А., Проскуріна К.І., Губарь С.М. // Укр. вісник психоневрол. — 2006 — Вип. 2 (47). — С. 77-83.*
12. *Євтифєєва О.А., Георгіянци В.А. // Фармаком. — 2007. — №1. — С. 69-81.*
13. *Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Подпругников Ю.В. // Фармаком. — 2004. — №3. — С. 3-17.*
14. *Гризодуб А.И. // Фармаком. — 2006. — №1/2. — С. 35-44.*
15. *Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И. // Фармаком. — 2007. — №2. — С.16-25.*
16. *British Pharmacopoeia (2001), Vol. 11, Appendix III, A 141-A144.*
17. *European Pharmacopoeia. — 5th Ed. — Electronic version. — 2779 p.*

Надійшла до редакції 21.06.2007 р.

УДК 615.256.52:615.454.2:54.062:547.461

РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЯКОСТІ ВАГІНАЛЬНИХ СУПОЗИТОРІЇВ, СТВОРЕНИХ НА ОСНОВІ СУКЦИФЕНАТУ ТА БЕНЗАЛКОНІЮ ХЛОРИДУ

С.І.Мерзлікін, О.В.Суворов, Д.С.Мерзлікін, Є.В.Гладух

Національний фармацевтичний університет,
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: toxchem@ukrfa.kharkov.ua

Ключові слова: дисфункціональні маткові кровотечі; вагінальні супозиторії; сукцифенат; бензалконію хлорид; стандартизація

Розроблено методики стандартизації вагінальних супозиторіїв. Для ідентифікації сукцифенату та бензалконію хлориду у лікарській формі запропоновано осадові реакції та вибрані умови їх хроматографічного виявлення методом тонкошарової хроматографії. Для визначення їх кількісного вмісту у супозиторіях запропоновано методи рН-потенціометричного титрування та спектрофотометрії.

DEVELOPMENT OF THE QUALITY STANDARTIZATION METHODS FOR VAGINAL SUPPOSITORIES ON THE BASIS OF SUCCIPHENATE AND BENZALKONY CHLORIDE

S.I.Merzlikin, A.V.Suvorov, D.S.Merzlikin, Ye.V.Gladukh

The standardization methods of the vaginal suppositories have been developed. For the succiphenate and benzalkony chloride identification in the medicinal dosage form the precipitation reactions have been proposed and the conditions for their chromatographic detection by the thin-layer chromatography have been chosen. To determine their quantitative composition in suppositories the pH-potentiometric titration and spectrophotometry methods have been proposed.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦИИ КАЧЕСТВА ВАГИНАЛЬНЫХ СУПОЗИТОРИЕВ, СОЗДАНЫХ НА ОСНОВЕ СУКЦИФЕНАТА И БЕНЗАЛКОНИЯ ХЛОРИДА

С.И.Мерзликин, А.В.Суворов, Д.С.Мерзликин, Е.В.Гладух

Разработаны методики стандартизации вагинальных супозиторииев. Для идентификации сукцифената и бензалкония хлорида в лекарственной форме предложены осадительные реакции и выбраны условия их хроматографического обнаружения методом тонкослойной хроматографии. Для определения их количественного содержания в супозиториях предложены методы рН-потенциометрического титрования и спектрофотометрии.

Терапія кровотеч є актуальною проблемою сучасної практичної медицини, яка обумовлена дефіцитом гемостатичних лікарських засобів та збільшенням кількості пацієнтів, котрі мають потребу у їх застосуванні. Актуальність проблеми фармакологічної терапії дисфункціональних маткових кровотеч (ДМК), у свою чергу, обумовлена високим рівнем частоти розвитку зазначеної патології, яка в структурі гінекологічних захворювань складає до 70% [1].

Фармакотерапія таких захворювань в основному спрямована на застосування гормональних лікарських засобів. Але досягнення гемостазу вказаними препаратами супроводжується високим ризиком розвитку численних ускладнень, побічних ефектів та резистентності [2]. Проте відомо, що застосування комплексної терапії для зупинки маткових кровотеч, тобто сумісне призначення як гормональної терапії, так і негормональної забезпечує більш ефективне досягнення гемостазу при введенні мінімальних терапевтичних доз гормонів [3]. Серед гемостатичних засобів, що признача-

ються при вказаних патологіях, найчастіше використовують епсилон-амінокапронову кислоту. Але такі лікарські форми зазначеної кислоти як розчин для внутрішньовенного застосування та порошок для перорального не у всіх випадках ДМК гарантують зручний та надійний гемостатичний ефект, що обумовлено значною кількістю її побічних дій [4].

У Національному фармацевтичному університеті синтезована натрієва сіль 4-ацетилсукцинанілової кислоти (чл.-кор. НАН України, проф. Черних В.П. та проф. Гриценко І.С.), на основі якої розроблено оригінальний гемостатичний фармакологічний препарат "Сукцифенат" у вигляді ліофілізованого порошку [5]. Зазначений засіб позитивно впливає на підвищення проходження трьох фаз гемокоагуляції, а також чинить інгібуючий вплив на фібринолітичну активність крові. Проте така лікарська форма сукцифенату є не зовсім зручною для лікування ДМК у амбулаторних умовах.

У зв'язку з вищенаведеним створено оригінальний фармакологічний засіб у вигляді вагі-

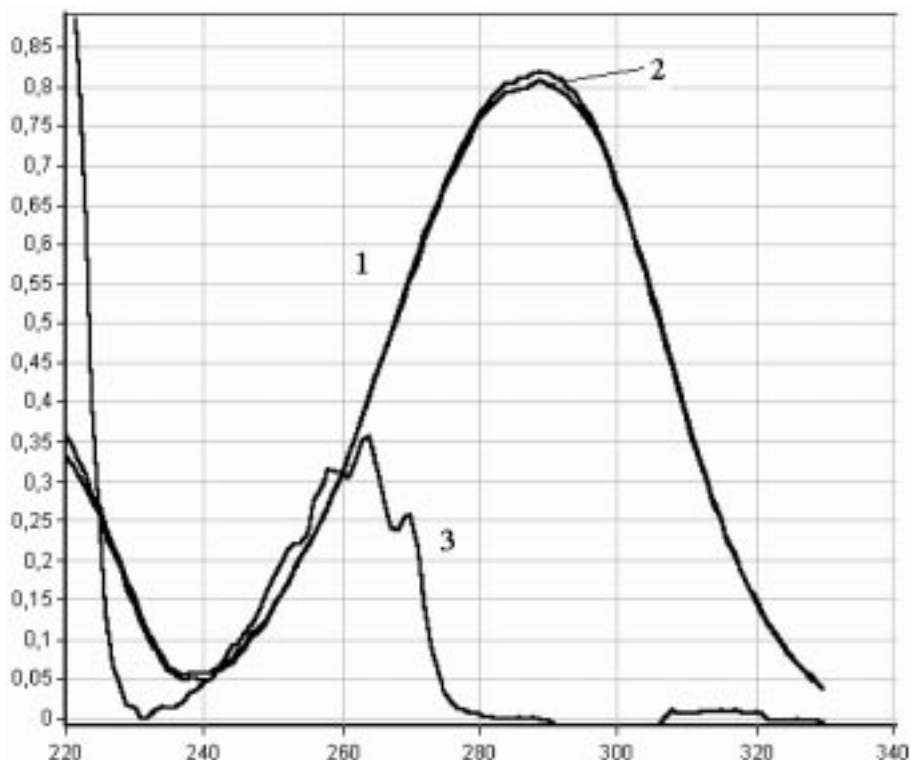


Рис. УФ-спектр: крива 1 - розчину сулцифенату (ω - 0,0015%);
крива 2 - випробуваного розчину супозиторія (ω сулцифенату - 0,0015%);
крива 3 - випробуваного розчину бензалконію хлориду (ω - 0,04%).

нальних супозиторіїв для профілактики та лікування ДМК [6].

Метою даної роботи є розробка методик стандартизації якості вагінальних супозиторіїв, створених на основі сулцифенату та бензалконію хлориду із застосуванням хімічних та фізико-хімічних методів.

При розробці методик ідентифікації супозиторіїв хімічним методом було вивчено фізико-хімічні властивості їх діючих речовин.

Встановлено, що зазначені діючі речовини розчинні у воді та не заважають одна одній при їх визначенні хімічними методами у модельних водних розчинах одиниці лікарської форми.

Для ідентифікації сулцифенату нами запропоновано реакцію утворення комплексу мідної солі сулцифенату з міді (II) сульфату розчином Р. При додаванні вказаного реактиву до водного розчину супозиторію утворюється осад блакитного кольору.

Для ідентифікації бензалконію хлориду запропоновано реакцію на хлорид-іон вказаної речовини. При додаванні срібла нітрату розчину Р до водного розчину супозиторію, підкисленого кислотою азотною розведеною Р, утворюється сироподібний осад білого кольору, який розчиняється при додаванні розчину аміаку Р.

Ідентифікацію сулцифенату та бензалконію хлориду запропоновано також проводити за УФ-спектрами випробуваних розчинів вказаних речовин, приготованих для кількісного визначення, що наведені на рис.

Для ідентифікації сулцифенату, бензалконію хлориду та ПЕО-1500 (супозиторна основа) нами розроблено методику їх виявлення з використанням методу тонкошарової хроматографії (ТШХ).

Найбільш придатною з використаних пластинок для ТШХ визначено пластинку Merck (Силікагель 60 F₂₅₄), а найбільш придатним елюентом — суміш розчинників: 2 — пропанол — хлороформ Р — розчин аміаку концентрований у співвідношеннях 60:30:10, відповідно.

Як зразки речовин свідків використовували фармакопейний стандартний зразок (ФСЗ) бензалконію хлориду, ФСЗ ПЕО-1500 та стандартний робочий зразок (СРЗ) сулцифенату.

На хроматограмі випробуваного розчину виявлялись плями на рівні: плями розчину стандартного зразка речовини-свідка (СЗРС) бензалконію хлориду, плями розчину СЗРС сулцифенату та плями розчину СЗРС ПЕО-1500, які відповідають їм за розміром та забарвленням.

Як проявник плям вказаних досліджуваних речовин на хроматограмах використовували пари йоду (коричневе забарвлення визначених плям). Крім того, плями сулцифенату та бензалконію хлориду на хроматограмі можна розглянути в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм (синє забарвлення плям вказаних речовин) перед вміщенням хроматограми в камеру, насичену парами йоду.

У результаті проведених досліджень встановлено, що при хроматографуванні зразків досліджуваних супозиторіїв за методом ТШХ досягнуто

Таблиця 1

Результати кількісного визначення вмісту сукцифенату в супозиторіях за методом рН-потенціометричного титрування (n=5, p=0,95)

| \bar{X} , мг | S | $S_{\bar{x}}$ | $\Delta\bar{x}$ | Sr, % | ϵ , % |
|----------------|-----|---------------|-----------------|-------|----------------|
| 145,6 | 3,9 | 1,7 | 4,8 | 2,7 | 3,3 |

Таблиця 2

Результати спектрофотометричного визначення кількісного вмісту сукцифенату в супозиторіях (n=5, p=0,95)

| \bar{X} , г | S | $S_{\bar{x}}$ | \bar{x} | Sr, % | ϵ , % |
|---------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|----------------|
| 0,147 | $3,5 \cdot 10^{-3}$ | $1,5 \cdot 10^{-3}$ | $4,5 \cdot 10^{-3}$ | 2,5 | 3,1 |

достовірний розподіл плям діючих речовин та основи: R_f сукцифенату становить 0,31; R_f бензалконію хлориду — 0,25; R_f ПЕО-1500 — 0,69.

Кількісне визначення вмісту сукцифенату в експериментальних зразках супозиторіїв здійснювали за методом рН-потенціометричного титрування.

Для цього наважку подрібнених супозиторіїв розчиняли у суміші вода-діоксан (1:3), одержаний розчин титрували 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої потенціометрично з використанням хлоридосрібного електроду (насиченого калію хлоридом) як електроду порівняння.

Вміст сукцифенату X в одному супозиторії у міліграмах обчислювали за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 25,72 \cdot K \cdot \bar{m}}{m_n}$$

де: V — об'єм 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої P, використаний на титрування наважки супозиторіїв;

25,72 — маса сукцифенату, що відповідає 1 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої P, мг;

K — поправочний коефіцієнт до 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої P;

\bar{m}_n — маса наважки супозиторія, г;

m — середня маса супозиторія, г.

Вміст $C_{12}H_{12}NO_4Na$ (сукцифенату) в одному супозиторії має бути від 0,135 до 0,165 г у перерахунку на середню масу одного супозиторія.

Встановлено, що в кінці титрування спостерігається стрибок у бік зменшення рН, яке відповідає $12\Delta H/\Delta V$. При п'ятиразовому виконанні титрування об'єм кінцевої точки титрування знаходиться в межах 2,78-2,93 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої.

У табл. 1 наведені результати та метрологічні характеристики кількісного визначення вмісту сукцифенату у супозиторіях однієї серії.

Таким чином, розроблена нами методика рН-потенціометричного титрування сукцифенату в супозиторіях дозволяє контролювати вміст зазначеної речовини з достовірною точністю при визначенні 150 мг сукцифенату в одиниці супозиторія.

Відомо [7], що бензалконію хлорид здатен до поглинання в УФ-світлі на ділянці 220-330 нм. Його спектр характеризується трьома максимума-

ми: при 257, 263 та 268 нм (рис., крива 3). Встановлено, що сукцифенат також поглинає у зазначеній ділянці спектра. Спектр поглинання сукцифенату має максимум за довжини хвилі 288 нм (рис., крива 1). Експериментально встановлено, що при довжині хвилі 288 нм розчини бензалконію хлориду, а також ПЕО-1500 є оптично прозорі, в той час як на ділянці спектра світловбирання бензалконію хлориду сукцифенат виявляє значне поглинання. Світлопоглинання розчинів сукцифенату при 288 нм підпорядковувалося закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 0,1 до 2 мг у 100 мл ($E_{1\%}^{1\text{см}} = 586$).

З урахуванням вищезазначеного нами були розроблені умови кількісного визначення вмісту сукцифенату та бензалконію хлориду в супозиторіях методом спектрофотометрії за власним світлопоглинанням. Вміст бензалконію хлориду визначали після його попереднього ізолювання хлороформом з наступним одержанням водного розчину, який спектрофотометрували при 268 нм. На рис. (крива 2) наведений УФ-спектр випробуваного водного розчину досліджуваного супозиторія.

У першому випадку як розчин порівняння використовували 0,0015% водний розчин сукцифенату, а в другому — 0,04% водний розчин бензалконію хлориду.

Вміст сукцифенату X в одному супозиторії у грамах обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot \bar{m}}{A_0 \cdot m_1}$$

де: A_1 — оптична густина випробуваного розчину;

A_0 — оптична густина розчину порівняння;

m_1 — маса наважки супозиторія, г;

\bar{m}_0 — маса наважки сукцифенату, г;

m — середня маса супозиторія, г.

Вміст $C_{12}H_{12}NO_4Na$ (сукцифенату) в одному супозиторії має бути від 0,135 г до 0,165 г у перерахунку на середню масу одного супозиторія.

У табл. 2 наведені результати та метрологічні характеристики кількісного визначення вмісту сукцифенату в супозиторіях однієї серії за методом спектрофотометрії.

Отже, розроблена нами методика спектрофотометричного визначення сукцифенату в дослі-

Таблиця 3

Результати спектрофотометричного визначення кількісного вмісту бензалконію хлориду в супозиторіях (n=5, p=0,95)

| \bar{X} , г | S | $S\bar{x}$ | $\Delta\bar{x}$ | Sr, % | ϵ , % |
|---------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|----------------|
| 0,0146 | $3,6 \cdot 10^{-4}$ | $1,6 \cdot 10^{-4}$ | $4,4 \cdot 10^{-4}$ | 2,4 | 3,0 |

дживаних супозиторіях дозволяє контролювати вміст зазначеної речовини з достовірною точністю при визначенні 0,150 г сукцифенату в одиниці супозиторія.

Вміст бензалконію хлориду X в одному супозиторії у грамах обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot \bar{m}}{A_0 \cdot m_1},$$

де: A_1 — оптична густина випробуваного розчину; A_0 — оптична густина розчину порівняння; m_1 — маса наважки супозиторія, г; m_0 — маса наважки бензалконію хлориду, г; \bar{m} — середня маса супозиторія, г.

Вміст $C_{22}H_{40}ClN$ (бензалконію хлориду) в одному супозиторії має бути від 0,0135 г до 0,0165 г у перерахунку на середню масу одного супозиторія.

У табл. 3 наведені результати та метрологічні характеристики кількісного визначення вмісту бензалконію хлориду у супозиторіях однієї серії.

Таким чином, розроблена нами методика спектрофотометричного визначення бензалконію хлориду в досліджуваних супозиторіях дозволяє контролювати вміст зазначеної речовини з достовірною точністю при визначенні 0,015 г бензалконію хлориду в одиниці супозиторія.

Експериментальна частина

Ідентифікація діючих речовин в одиниці лікарської форми (супозиторій)

1. Методика випробування на сукцифенат.

Подрібнений супозиторій (1,0 г) вміщують у хімічний стакан місткістю 50 мл, додають 20 мл води Р і перемішують протягом 10 хв. До одержаного розчину додають 1 мл міді (II) сульфату розчину Р; утворюється осад блакитного кольору.

2. Методика випробування на бензалконію хлорид.

Подрібнений супозиторій (1,0 г) вміщують у хімічний стакан місткістю 50 мл, додають 20 мл води Р і перемішують протягом 10 хв. До 2 мл одержаного розчину додають 0,4 мл срібла нітрату розчину Р, підкисленого кислотою азотною розведеною Р; утворюється сироподібний осад білого кольору, який розчиняється при додаванні 1,5 мл розчину амоніаку Р.

3. Методика випробування на сукцифенат, бензалконію хлорид та ПЕО-1500 методом тонкошарової хроматографії.

Подрібнений супозиторій (1,0 г) розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл (випробуваний розчин). На лінію старту хроматографічної пластини розміром 10x15 см Мерск (Силікагель 60 F254), попередньо

активованої протягом 30 хв при температурі від 100 до 110°C, наносять 4 мкл випробуваного розчину, 4 мкл стандартного зразка речовини-свідка (СЗРС) сукцифенату (10 мкг), 4 мкл розчину СЗРС ПЕО-1500 (190 мкг) та 4 мкл розчину СЗРС бензалконію хлориду (1 мкг). Пластинку сушать на повітрі протягом 20 хв та вміщують у камеру із сумішшю розчинників: 2-пропанол Р — хлороформ Р — розчин амоніаку концентрований Р (60:30:10) і хроматографують методом вертикального елюювання. Коли фронт розчинників пройде до кінця пластинки, її виймають з камери, сушать на повітрі протягом 5 хв, переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм, а потім вміщують у камеру з насиченими парами йоду.

На хроматограмі випробуваного розчину має виявлятися пляма на рівні плям розчину СЗРС бензалконію хлориду, розчину СЗРС сукцифенату та розчину СЗРС ПЕО-1500, що відповідають їм за розміром та забарвленням.

Приготування розчину СЗРС сукцифенату:

близько 0,050 г (точна наважка) стандартного робочого зразка (СРЗ) сукцифенату розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл.

Приготування розчину СЗРС ПЕО-1500:

близько 0,945 г (точна наважка) фармакопейного стандартного зразка (ФСЗ) ПЕО-1500 (ФСЗ ДФУ або ЕР СРС) розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл.

Приготування розчину СЗРС бензалконію хлориду:

близько 0,005 г (точна наважка) бензалконію хлориду (ФСЗ ДФУ або ЕР СРС) розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл.

Кількісне визначення діючих речовин в одиниці лікарської форми (супозиторій)

1. Методика кількісного визначення сукцифенату за методом рН-потенціометричного титрування.

У роботі використовували іономер лабораторний І-130. Як електрод порівняння використовували хлоридосрібний електрод, насичений калію хлоридом.

Близько 3,0 г (точна наважка) подрібнених супозиторіїв вміщують у хімічний стакан місткістю 50 мл, розчиняють у 15 мл води Р, додають 30 мл діоксану та титрують 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої Р потенціометрично.

2. Методика кількісного визначення натрію сукцифенату методом спектрофотометрії.

Для визначення кількісного вмісту сукцифенату в супозиторіях використовували спектрофотометр СФ-46.

Близько 0,3 г (точна наважка) подрібнених супозиторіїв вміщують у хімічний стакан місткістю 100 мл, додають 50 мл води Р та перемішують за допомогою магнітного змішувача протягом 15 хв. Суміш фільтрують через подвійний паперовий фільтр “синя стрічка” у мірну колбу місткістю 100 мл. Фільтр прополіскують трьома порціями води Р по 10 мл. Об’єм колби доводять водою Р до 100 мл і ретельно перемішують.

За допомогою піпетки відбирають 10,0 мл одержаного розчину і переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, об’єм доводять водою Р до позначки і перемішують (*випробуваний розчин*).

Випробуваний розчин (2,0 мл) вміщують у кювету з товщиною шару 10 мм та вимірюють оптичну густину випробуваного розчину за довжини хвилі 288 ± 2 нм, використовуючи як розчин порівняння воду Р.

Паралельно вимірюють оптичну густину розчину РСЗ сукцифенату.

Приготування розчину РСЗ сукцифенату:

Близько 0,150 г (точна наважка) сукцифенату розчиняють у воді Р в мірній колбі місткістю 1000 мл, доводять об’єм тим самим розчинником до позначки та перемішують. За допомогою піпетки відбирають 10 мл одержаного розчину, переносять у мірну колбу місткістю 100 мл і доводять об’єм тим самим розчинником до позначки та перемішують.

Одержаний розчин використовують свіжоприготовленим.

3. Методика кількісного визначення бензалконію хлориду за методом спектрофотометрії.

Близько 8,0 г (точна наважка) подрібнених супозиторіїв вміщують у хімічний стакан місткістю 50 мл, додають 30 мл хлороформу і ретельно пе-

ремішують за допомогою магнітного змішувача протягом 15 хв. Суміш фільтрують через подвійний паперовий фільтр “синя стрічка” у хімічний стакан місткістю 50 мл. Осад на фільтрі прополіскують двома порціями хлороформу по 5 мл. Одержаний розчин випаровують на водяному олівнику до повного видалення хлороформу. Залишок розчиняють у 50 мл води Р і кількісно переносять у мірну колбу місткістю 100 мл. Об’єм розчину доводять водою Р до позначки і ретельно перемішують (*випробуваний розчин*).

Близько 2,0 мл випробуваного розчину вміщують у кювету з товщиною шару 10 мм та вимірюють оптичну густину випробуваного розчину за довжини хвилі 268 ± 2 нм, використовуючи як розчин порівняння воду Р. Паралельно вимірюють оптичну густину розчину РСЗ бензалконію хлориду.

Приготування розчину РСЗ бензалконію хлориду:

Близько 0,04 г (точна наважка) бензалконію хлориду розчиняють у воді Р в мірній колбі місткістю 100 мл, доводять об’єм тим самим розчинником до позначки та перемішують.

Одержаний розчин використовують свіжоприготовленим.

Висновки

1. Запропоновані методи ідентифікації сукцифенату та бензалконію хлориду у вагінальних супозиторіях за допомогою осадкових реакцій, ТШХ та спектрофотометрії.

2. Розроблені методики кількісного визначення сукцифенату у вагінальних супозиторіях за методом рН-потенціометричного титрування, а також сукцифенату та бензалконію хлориду за методом спектрофотометрії.

Література

1. Кустаров В.Н., Черниченко Н.И. Дисфункциональные маточные кровотечения. — С.Пб.: Изд. дом СПбМАПО. — 2005. — 163 с.
2. Быковская О.С., Сандова Р.А., Федина Е.В. // *Мат. VI Рос. форума “Мать и дитя”*. — М., 2004. — С. 311-312.
3. Marslew U., Riis B.J., Christiansen C. // *Amer. J. Obstet. Gynecol.* — 1999. — Vol. 164, №5, Pt.1. — P. 1163-1168.
4. Машковский М.Д. *Лекарственные средства: В 2-х т. Т. 1.* — 14-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: ООО “Изд-во Новая Волна”, 2002. — С. 469-475.
5. Кононенко Н.М., Березнякова А.І. // *Одеський мед. журн.* — 2004. — №1 (81). — С. 10-13.
6. Мерзлікін Д.С., Гладух Є.В. // *Матер. VI Нац. з’їзду фармацевтів України.* — Х.: Вид-во НФаУ, 2005. — С. 255-256.
7. Clarke’s isolation and identification of drugs. — London: The Pharmaceutical Press, 1986. — Vol. 1. — P. 394.

Надійшла до редакції 24.12.2007 р.

УДК 615.451.16: 615.074: 615.322: 616.65-002

РОЗРОБКА МЕТОДИК ВИЗНАЧЕННЯ ЯКОСТІ НАСТОЙКИ СКЛАДНОЇ “ПРОСТАТОФІТ”

Л.І.Вишневська

Національний фармацевтичний університет,
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: lilya-vishn@rambler.ru

Ключові слова: рослинні препарати; простатит; алкалоїди; кумарин; ефірна олія; поліфенольні сполуки; настойка складна

На підставі наукових досліджень розроблено методики якісного (алкалоїди, кумарини, поліфенольні сполуки) та кількісного визначення похідних кумарину у перерахунку на кумарин і ефірної олії у настійці “Простатофіт” спектрофотометричним методом та методом тонкошарової хроматографії, що дозволяє контролювати її якість.

METHODS DEVELOPMENT OF QUALITY DETERMINATION OF “PROSTATOPHYTE” COMPOUND TINCTURE

L.I.Vishnevskaya

On the ground of scientific research we have developed the methods of qualitative (alkaloids, coumarines, polyphenol compounds) and quantitative determination of coumarin derivatives converting to coumarin and volatile oil in “Prostatophyte” tincture by spectrophotometric method and thin-layer chromatography method, allowing to control its quality.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАЧЕСТВА НАСТОЙКИ СЛОЖНОЙ “ПРОСТАТОФИТ”

Л.И.Вишневская

На основе научных исследований разработаны методики качественного (алкалоиды, кумарины, полифенольные соединения) и количественного определения производных кумарина в пересчете на кумарин и эфирного масла в настоеке “Простатофит” спектрофотометрическим методом, а также методом тонкослойной хроматографии, что позволяет контролировать ее качество.

Ми розробили настійку складну “Простатофіт” — лікарський засіб рослинного походження, призначений для лікування захворювань передміхурової залози, зокрема хронічних простатитів та доброякісної гіперплазії передміхурової залози початкової стадії, який може бути використаний у комплексній терапії неспецифічних запальних захворювань сечовивідних шляхів. До складу настійки входить сировина: кропиви (дані численних клінічних спостережень свідчать про позитивний ефект лікування екстрактом кореня кропиви початкових стадій гіперплазії простати — у високих концентраціях його екстракт інгібує 5-альфа-редуктазу і ароматазу, знижуючи тим самим концентрацію дигідротестостерону у простаті [2, 3, 9]), айру (настій рекомендують як сечогінний, протизапальний, дезінфікуючий засіб [2, 3, 5]), ромашки (екстракт володіє гемостатичними, седативними, болетамувальними, протисудомними, потогінними та антисептичними властивостями [3, 5, 9]), буркуну (має протисудомну, деяку наркотичну, пом’якшуючу, болетамувальну дію [2, 9, 11]), чистотілу (його препарати володіють протизапальною, протизудною, антимікробною, ранозагоюючою, анагетичною, протигістамінною, сечогінною, жовчогінною та протисудомною дією

[3, 9]. Вони знижують чи попереджують розвиток деяких грибкових захворювань, проявляють антивірусну активність), собачої кропиви (виявляє виражену дію на серцево-судинну систему; чинить кровоспинну, сечогінну, протисудомну дію; регулює функціональну діяльність шлунково-кишкового тракту. Позитивно впливає на перебіг доклімактеричного і клімактеричного періодів у чоловіків та жінок [2, 11]), берези (володіє протизапальною, сечогінною, спазмолітичною, жовчогінною, потогінною, репаративною, дезінфікуючою дією, позитивно впливає на обмін речовин, діє як кровоочисний і кровотворний засіб [2, 3, 5]), софори японської (препарати володіють бактерицидними властивостями у відношенні золотистого стафілокока та кишкової палички, виявляють судинорозширюючу, кровоспинну, седативну, болетамувальну дію [2-6, 9, 10, 11]), шавлії (препарати виявляють протизапальну, капілярозміцнюючу, кровоспинну, антимікробну та спазмолітичну активність).

Компоненти настійки містять алкалоїди, кумарини, ефірні олії, фенолкарбонові кислоти, вітаміни, флавоноїди, органічні кислоти та інші сполуки (рис. 1). З огляду на хімічний склад рослин, які застосовуються у даному засобі і мо-

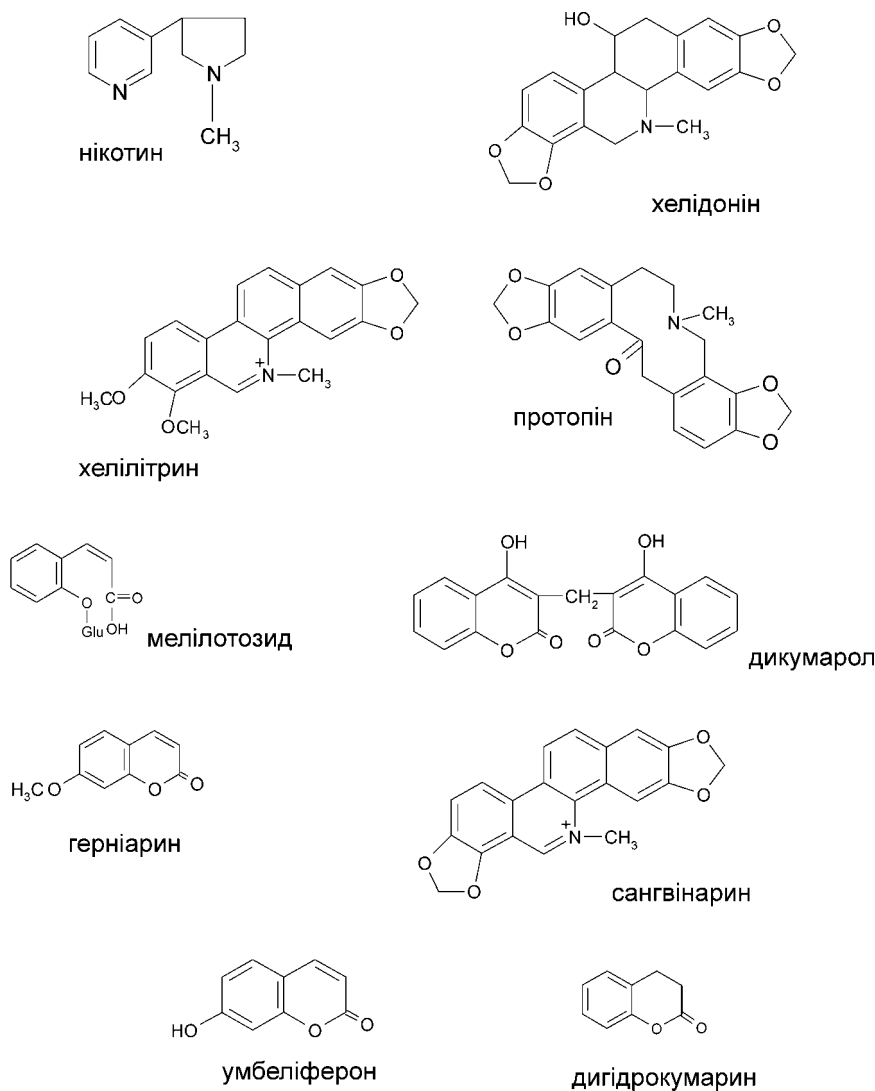


Рис. 1. Біологічно активні речовини настойки складної "Простатофіт".

жуть впливати на фармакологічну дію препарату (за попередніми клінічними дослідженнями впливають на обмін речовин у передміхуровій залозі та корегують уродинаміку), для стандартизації були обрані наступні групи сполук:

- ідентифікація — кумарини, алкалоїди та поліфенольні сполуки;
- кількісне визначення — сума похідних кумарину у перерахунку на кумарин та ефірна олія [4, 6-8, 10].

Метою нашого дослідження стала розробка методик ідентифікації (алкалоїди, кумарини, поліфенольні сполуки) та кількісного визначення суми похідних кумарину у перерахунку на кумарин і ефірної олії у складній настійці методом диференційної спектрофотометрії з використанням алюмінію хлориду як комплексоутворювача.

Ми використовували лабораторні зразки настійки складної "Простатофіт", отриманої методом перколяції. У ході розробки методики визначали спектральні характеристики та умови, час утворення комплексу і його стійкість.

Для ідентифікації алкалоїдів використовують ряд специфічних реактивів. До загальних алка-

лоїдних реактивів належать: реактив Бушарда або Вагнера KI_3 , реактив Майєра K_2HgI_4 , реактив Марме K_2CdI_4 , реактив Драгендорфа KVI_4 , реактив Зонненштейна або де Вріза $H_3PO_4 \cdot 12MoO_3 \cdot 2H_2O$, реактив Шейблера $H_3PO_4 \cdot 12WO_3 \cdot 2H_2O$, реактив Годфруа або Бертрана $12WO_3 \cdot SiO_2 \cdot 4H_2O$, танін, пікринова кислота, сулема та ін. Проте не всі алкалоїди і не в однаковій мірі осаджуються зазначеними реактивами, тому при дослідженні препаратів на наявність алкалоїдів треба провести 5-6 реакцій. Нами проведено дослідження зразків з цілим рядом кольорових осадкових та спеціальних загальних алкалоїдних реактивів. Результати досліджень наведені у табл. 1.

Як видно з даних табл. 1, усі реактиви можуть служити для ідентифікації алкалоїдів у настійці, оскільки дають специфічні осадки чи забарвлення. Але для розробки АНД ми вибрали реактив калію йодовісмутат розчин Р, який увійшов до ДФУ як реакція на алкалоїди [1].

Для визначення наявності класу поліфенольних сполук ми використовували загальну якісну реакцію на поліфеноли із розчином заліза (III) хло-

Таблиця 1

Результати взаємодії алкалоїдів у настойці "Простатофіт" з загальноалкалоїдними реактивами

| Назва реактиву | Забарвлення зразків настойки "Простатофіт" |
|--|--|
| Калію йодовісмутат розчин Р | Яскраво-жовте |
| Пікринова кислота | Світло-коричнєве |
| Розчин таніну | Осад, розчин жовто-зеленого кольору |
| Амонію ванадат у концентрованій сірчаній кислоті | Осад, розчин помаранчевого кольору |
| Розчин калію йодиду йодований | Жовтий |
| Реактив Фреде | Осад, розчин зеленого кольору |
| Розчин ваніліну у концентрованій сірчаній кислоті | Коричнєве |
| Молібдено-ванадієвий реактив | Жовтувате |
| Розчин формальдегіду у концентрованій сірчаній кислоті | Осад, розчин червоно-коричневого кольору |

риду Р, у результаті якої має з'явитися зеленкувато-буре забарвлення. Для максимального візуального ефекту реакцію проводили на папері.

Ідентифікацію кумаринів проводили методом тонкошарової хроматографії. На стадії прободготовки проводили екстракцію ефіром. На етапі розробки методики як маркери також використо-

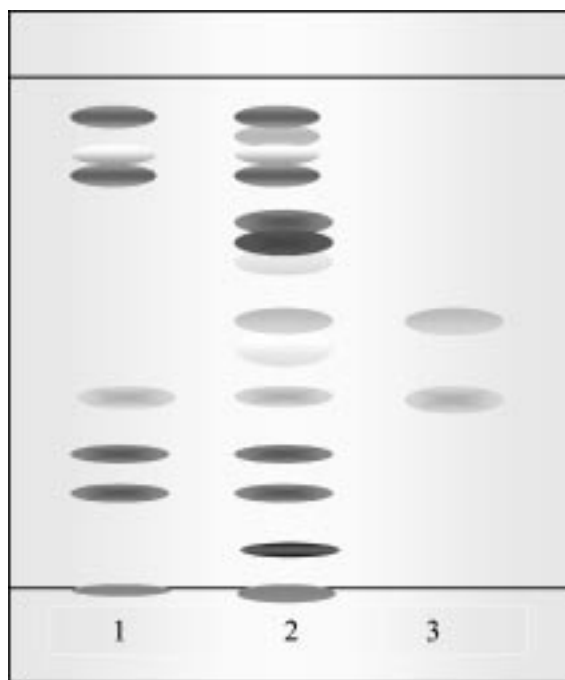


Рис. 2. Схема тонкошарової хроматограми, одержаної при ідентифікації кумаринів у настойці "Простатофіт", після обробки хроматограми спиртовим розчином калію гідроксиду в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм. Система розчинників: бензол Р - етилацетат Р (3:2).

1 - витяжка з коренів кропиви;
2 - розчин препарату;
3 - розчин скополетину (зона розташована нижче), умбеліферону.

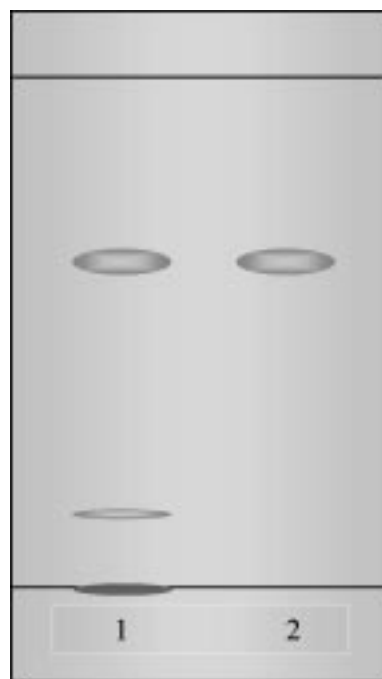


Рис. 3. Схема тонкошарової хроматограми, одержаної при ідентифікації ситостерину у коренях кропиви, після обробки хроматограми сірчанокислим розчином ваніліну. Система розчинників: бензол Р - етилацетат Р (3:2).
1 - витяжка з коренів кропиви;
2 - розчин холестерину.

ували стандартні зразки скополетину і умбеліферону. У подальшому використання фармакопейних стандартних зразків на виробництві може бути замінено речовинами-свідками. Як відомо, скополетин міститься в коренях кропиви і використовується як речовина-свідок для їх ідентифікації. Тому нами було здійснено спробу використати як речовину-свідок витяжку з коренів кропиви. Схема хроматограми, одержаної при ідентифікації скополетину у коренях кропиви та ситостерину, зона якого розташовується на рівні зони холестерину, наведена на рис. 2. Однак на хроматограмі препарату ця зона виявляється дуже слабо, збільшення кількості розчину препарату, який наноситься на тонкий шар, не дає чіткого розподілу зон, тому в АНД на препарат вимоги до наявності ситостерину не включені.

Схема хроматограми препарату у порівнянні з речовиною-свідком та стандартним зразком наведена на рис. 2.

Відвідно до даних літератури найбільший вплив на заявлену фармакологічну дію можуть чинити ефірні олії та кумарини. Тому кількісний вміст саме цих речовин ми вирішили включити до АНД.

Диференційний спектр поглинання суми похідних кумаринів настойки "Простатофіт" і рутину з алюмінію хлоридом наведений на рис. 3.

Експериментальна частина

Усі реактиви, які використовувались у даній роботі, відповідають вимогам Державної фармакопеї України [1].

Ідентифікація алкалоїдів. Препарат (25 мл) поміщали до круглодонної колби місткістю 100 мл і упарювали на киплячій водяній бані під вакуумом до злегка вологого залишку. Вміст колби охолоджували до кімнатної температури, додавали 15 мл оцтової кислоти розведеної Р, приєднували зворотний холодильник і нагрівали на водяній бані протягом 30 хв. Охолоджували до кімнатної температури і відстоювали при температурі 10-12°C протягом 30 хв. Фільтрували крізь лійку зі складчастим фільтром у ділільну лійку місткістю 100 мл, додавали близько 10 мл аміаку розчину концентрованого Р до рН 10 (рН контролювали за допомогою універсального індикатора паперу). Додавали 20 мл хлороформу Р, струшували протягом 1 хв, давали відстоятися до повного розподілу шарів і хлороформну витяжку фільтрували до круглодонної колби місткістю 100 мл крізь лійку зі складчастим фільтром з 20 г натрію сульфату безводного Р. Процедури екстрагування та фільтрування повторювали ще двічі порціями по 15 мл хлороформу Р. Об'єднані хлороформні витяжки упарювали на киплячій водяній бані під вакуумом до злегка вологого залишку, додавали 1 мл ацетону Р і перемішували (розчин А).

Ідентифікація кумаринів. На фільтрувальний папір наносили в одну точку 0,02 мл випробовуваного розчину А, обприскували калію йодовісмутату розчином Р, пікриновою кислотою, розчином таніну, амонію ванадатом у концентрованій сірчаній кислоті, розчином калію йодиду йодованого, реактивом Фреде, розчином ваніліну у концентрованій сірчаній кислоті, молібдено-ванадієвим реактивом, розчином формальдегіду у концентрованій сірчаній кислоті, концентрованою сірчаною кислотою та концентрованою азотною кислотою.

Поліфенольні сполуки. На фільтрувальний папір наносили в одну точку 0,05 мл препарату, сушили на повітрі протягом 3 хв, обприскували заліза (III) хлориду розчином Р3; повинно з'явитися зеленкувато-буре забарвлення.

Розчин препарату хроматографували у системі розчинників: бензол Р — етилацетат Р (3:2). Для детектування використовували розчин калію гідроксиду спиртовий Р1 і УФ-світло за довжини хвилі 365 нм. На хроматограмі досліджуваного розчину Б мають виявлятися не менше двох флуоресціюючих зон блакитного кольору, одна з яких розташована на рівні зони на хроматограмі розчину порівняння кропиви (похідні α -пірону, кумарини).

Примітки. 1. Приготування розчину порівняння буркуну: 1,0 г трави буркуну (АНД 64-22716897-006-03), здрібненої до розміру часток, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,2 мм, поміщали до круглодонної колби місткістю 50 мл, додавали 10 мл 70% спирту Р і нагрівали зі зворотним холодильником на водяній бані при температурі (70±5)°С протягом 15 хв. Вміст колби охолоджували і фільтрували крізь паперовий фільтр.

Термін придатності розчину — 7 діб при зберіганні у захищеному від світла місці.

2. Приготування розчину порівняння кропиви: 1,0 г коренів кропиви (АНД 64-22716897-019-05), здрібнених до розміру часток, що проходять крізь сито з отворами діаметром 0,2 мм, поміщали до круглодонної колби місткістю 50 мл, додавали 10 мл 70% спирту Р і нагрівали зі зворотним холодильником на водяній бані при температурі (70±5)°С протягом 15 хв. Вміст колби охолоджували і фільтрували крізь паперовий фільтр.

Термін придатності розчину 7 — діб при зберіганні в захищеному від світла місці.

Кількісне визначення. Похідні кумарину. Препарат (10 мл) поміщали до колби місткістю 50 мл і випарювали на киплячій водяній бані під вакуумом до об'єму близько 2 мл. Вміст колби охолоджували до кімнатної температури і кількісно переносили за допомогою 10 мл води Р, потім 15 мл хлороформу Р — до ділільної лійки місткістю 50 мл. Вміст ділільної лійки струшували протягом 1 хв і давали відстоюватися до повного розділу шарів. Хлороформну витяжку збирали до круглодонної форми місткістю 100 мл. Екстракцію хлороформом Р повторювали ще двічі порціями по 15 мл. Хлороформні витяжки об'єднували, упарювали до злегка вологого залишку і кількісно переносили до мірної колби місткістю 50 мл за допомогою 25 мл 96% спирту Р, доводили об'єм розчину тим самим розчинником до позначки і перемішували (розчин А). Розчин А (1 мл) поміщали до мірної колби місткістю 25 мл, доводили об'єм розчину 96% спиртом Р до позначки і перемішували.

Вимірювали світлопоглинання одержаного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 272 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння 96% спирт Р.

Вміст суми похідних кумарину (X_1) у препараті (у відсотках) в перерахунку на кумарин обчислювали за формулою:

$$X_1 = \frac{A \times 50 \times 25 \times 100}{734 \times 100 \times 10} = A \times 0,1703,$$

де: А — світлопоглинання досліджуваного розчину; 734 — питомий показник поглинання кумарину за довжини хвилі 272 нм; 10 — об'єм препарату, мл.

Вміст суми похідних кумарину у препараті в перерахунку на кумарин повинен бути не меншим за 0,035%.

Метрологічна характеристика методики наведена у табл. 2.

Ефірна олія. Препарат (50 мл) поміщали до круглодонної колби місткістю 500 мл, додавали 150 мл води очищеної Р і перемішували. Вміст колби переганяли до об'єму близько 50 мл до ділільної лійки місткістю 350 мл, додавали 20 мл хлороформу Р та екстрагували протягом 3 хв. Хлороформний (нижній) шар фільтрували до попередньо

Таблиця 2

Метрологічні характеристики методики кількісного визначення кумарину у "Простатофіті"

| X, % | f | X, % | S ² | S | P, % | t (P, f) | ΔX | ε, % |
|--------|---|--------|-----------------------|----------|------|----------|--------|------|
| 0,0832 | 4 | 0,0835 | 3,12·10 ⁻⁷ | 0,000559 | 95 | 2,78 | 0,0015 | 1,86 |
| 0,0839 | | | | | | | | |
| 0,0827 | | | | | | | | |
| 0,0841 | | | | | | | | |
| 0,0835 | | | | | | | | |

Таблиця 3

Метрологічні характеристики методики кількісного визначення ефірної олії у "Простатофіті"

| X, % | f | X, % | S ² | S | P, % | t (P, f) | ΔX | ε, % |
|-------|---|-------|----------------------|----------|------|----------|-------|------|
| 0,132 | 4 | 0,130 | 3,3·10 ⁻⁶ | 0,001817 | 95 | 2,78 | 0,005 | 3,87 |
| 0,129 | | | | | | | | |
| 0,130 | | | | | | | | |
| 0,129 | | | | | | | | |
| 0,133 | | | | | | | | |

доведеної до постійної маси круглодонної колби зі шліфом місткістю 100 мл крізь лійку зі складчастим фільтром з 10,0 г натрію сульфату безводного Р. Витягнення хлороформом повторювали ще двічі порціями по 20 мл, витяжки об'єднували. Хлороформ відганяли на водяній бані при температурі (65±5)°С під вакуумом при залишковому тиску 12-16 кПа. Колбу із залишком поміщали до ексикатора з фосфору (V) оксидом Р, витримували під вакуумом при залишковому тиску 12-16 кПа протягом 2 год і зважували.

Вміст ефірної олії (X₂) у препараті (у відсотках) обчислювали за формулою:

$$X_2 = \frac{(m_2 - m_1) \times 100}{50},$$

де: m₁ — маса порожньої колби, г;
m₂ — маса колби із залишком, г;

50 — об'єм препарату, мл.

Вміст ефірної олії у препараті повинен бути не меншим за 0,08%.

Метрологічна характеристика методики наведена у табл. 3.

Висновки

1. Розроблена методика якісного визначення вмісту алкалоїдів, поліфенольних сполук та суми похідних кумарину у настійці "Простатофіт".

2. Розроблена методика кількісного визначення спектрофотометричним методом вмісту суми похідних кумарину в перерахунку на кумарин у настійці "Простатофіт". Відносна помилка досліду складає 1,86%.

3. Розроблена методика кількісного визначення ефірної олії у настійці складній. Відносна помилка досліду складає 3,87%.

Література

1. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — X: PIPEP, 2001. — 556 с.
2. Кьосев Л.А. Полный справочник лекарственных растений. — М.: "Эксмо", 2002. — С. 354-356
3. Преображенський В. Сучасна енциклопедія лікарських рослин. — Донецьк: ТОВ ВКФ "БАО", 2005. — 544 с.
4. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В. и др. Спутник хроматографиста. — Воронеж, 2004. — 527 с.
5. Руженкова И.В. Основы фитотерапии. — Ростов-на-Дону: "Феникс", 2005. — 188 с.
6. Сур С.В., Тулюпа Ф.М., Толок А.Я., Пересыпкина Т.Н. // Фармац. журн. — 2000. — №1. — С. 69-71.
7. British Pharmacopoeia. — Vol. 1. — London: HMSO, 2005. — 1389 p.
8. European Pharmacopoeia. — 4th ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2002.
9. Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines. Ibid. — Geneva, 1996. — An. 11.
10. Poole C.F., Poole S.R. Chromatography today. — Ed. 5. — Amsterdam, the Netherlands: Elsevier, 1991. — 1026 p.
11. Schmidtke S. Die Hamorroiden // Pharmaz. Rundschau. — 1997. — Vol. 2. — P. 28-30.

Надійшла до редакції 11.10.2007 р.

УДК 547.814.5

СИНТЕЗ НОВОЇ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНОЇ СИСТЕМИ [1]БЕНЗОФУРО[2,3-*e*][1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-*a*]ПІРИМІДИНУ

Т.М.Ткачук

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка,
01033, м. Київ, вул. Володимирська, 64. E-mail: tkachuk_t@univ.kiev.uaКлючові слова: 3-феноксихромон, [1]бензофуоро[2,3-*e*][1,2,4]триазоло[1,5-*a*]піримідин

Взаємодія хромонів з бінуклеофільними агентами, зокрема амідинами приводить до розкриття піронового кільця та наступного формування піримідинового циклу [1-3]. Виявлено, що при взаємодії 3-феноксихромону 1 з амінотриазолом 2, що містить амідиний фрагмент, реакція не зупиняється на стадії утворення адукту триазолопіримідинової системи 3: гідроксил фенольного ядра нуклеофільно заміщує феноксильну групу з утворенням сполуки 4 — похідної нової гетероциклічної системи [1]бензофуоро[2,3-*e*][1,2,4]триазоло[1,5-*a*]піримідину (схема). Хроматомас-спектрометричний аналіз реакційної суміші свідчить про наявність чотирьох речовин: сполук 1, 4, *p*-хлорфенолу і кетону — продукту розмикання хромону 1 під дією основних агентів. Реакція феноксихромону 1 з гуанідином перебігає за очікуваною схемою з утворенням продукту 5.

Структуру сполук 4,5 доведено на основі мас-спектрів, спектрів ЯМР ^1H , ^{13}C , ^{19}F , РСА-аналізом.

8-Метокси-2,5-біс(трифторометил)[1]бензофуоро[2,3-*e*][1,2,4]триазоло[1,5-*a*]піримідин (4)

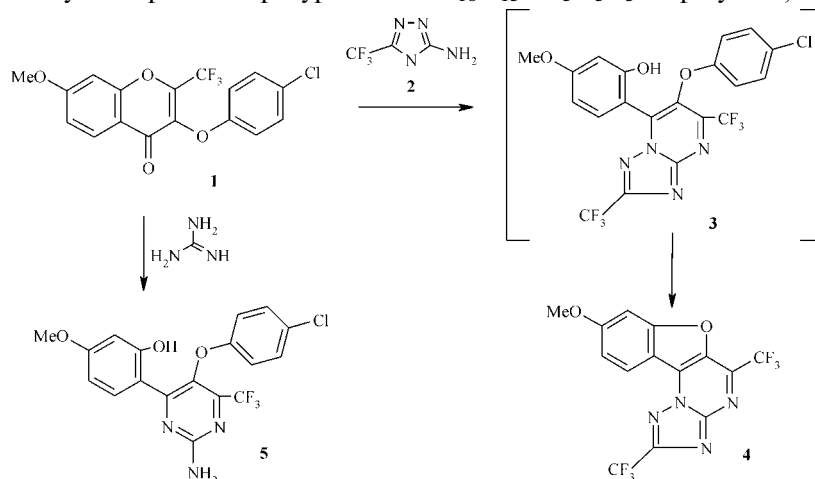
Суміш 0,74 г (2 ммоль) 3-(4-хлорофенокси)-7-метокси-2-(трифторометил)-4Н-хромен-4-ону.

(1), 0,45 г (3 ммоль) 3-(трифторометил)1Н-1,2,4-триазол-5-іламіну (2), 0,28 г (2 ммоль) поташу в 10 мл ДМФА перемішують при температурі 100-

110°C протягом 30 хв, додають 50 мл води, відфільтровують осад, що випав. Кристалізують з толуолу. Вихід — 76%. Т.пл. — 205-206°C. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д., J (Гц): 8,36 (1H, д, $^3J=8,8$, H-10); 7,72 (1H, д, $^4J=2,0$, H-7); 7,35 (1H, дд, $^3J=8,8$, $^4J=2,0$, H-9); 4,04 (3H, с, OCH $_3$ -8). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д., J (Гц): 165,67; 160,01; 157,29 (J=39,9); 152,46; 139,17; 136,51 (J=37,4); 135,30; 124,22; 120,41 (J=273,5, CF $_3$); 119,77 (J=269,0, CF $_3$); 117,25; 108,15; 97,97; 57,28 (CH $_3$ O). Спектр ЯМР ^{19}F (400 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д.: 98,37; 97,43. Мас-спектр: (m/z, eI): 376(M $^+$); 361 (M $^+$ - CH $_3$); 333 (M $^+$ - CH $_3$ - N $_2$); 69 (CF $_3$). Знайдено, %: N — 14,72 C $_{14}$ H $_6$ F $_6$ N $_4$ O $_2$. Вирахувано, %: N — 14,89.

2-[2Аміно-5-(4-хлорофенокси)-6(трифторометил)-4-піримідиніл]-5-метоксифенол (5)

Сполуку 5 одержують аналогічно 4, використовуючи в якості нуклеофільного реагенту карбонат гуанідину (0,36 г, 2 ммоль). Реакція перебігає за 15 хв. Вихід — 85% (з ацетонітрилу). Т.пл. — 188°C. Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6), δ , м.д., J (Гц): 12,86 (1H, с, OH-1); 7,87(1H, д, $^3J=9,2$, H-3); 7,54 (2H, ус, NH $_2$); 7,18 (2H, д, $^3J=9,2$, H-2', H-6'); 6,80 (2H, д, $^3J=9,2$, H-3', H-5'); 6,33 (1H, д, $^4J=2,8$, H-6); 6,23 (1H, дд, $^3J=9,2$, $^4J=2,8$, H-4); 3,73 (3H, с, OCH $_3$ -5). Знайдено, %: Cl — 8,65; N — 10,27 C $_{18}$ H $_{13}$ ClF $_3$ N $_3$ O $_3$. Вирахувано, %: Cl — 8,61; N — 10,20.



Схема

Література

1. Пивоваренко В.Г., Ткачук Т.М. // *Ukrainica Bioorganica Acta*. — 2005. — №2. — С. 22-26.
2. Хуля В.П., Туров А.В., Ткачук Т.М., Шевчук Л.И. // *Химия природ. соединений*. — 2001. — С. 422-426.
3. Sosnovskikh V., Usachev B., Sizov A., Varabanov M. // *Synthesis*. — 2004. — №6. — P. 942-948.

Надійшла до редакції 25.06.2007 р.



Пам'яті талановитого вченого-хіміка Гдаля Мойсейовича Оксенгендлера (1920-1957 рр.)

Оксенгендлер Гдаль Мойсейович народився 20 січня 1920 р. у м. Сквирі Київської області. У 1946 р. закінчив хімічний факультет Київського державного університету ім. Тараса Шевченка. З 1946 по 1949 рр. навчався в аспірантурі Інституту органічної хімії АН УРСР і під керівництвом академіка АН УРСР А.І.Кіпріанова виконав і захистив дисертацію на здобуття вченого ступеня кандидата хімічних наук на тему: “Поліметинові барвники із кетону Міхлера та його похідні”.

Уже під час роботи над дисертацією Оксенгендлер Г.М. виявив здібності талановитого хіміка-синтетика. У 1949 р. він одержав діазстирил бензотіазольного ряду, який був першим представником до тієї пори невідомого класу світлостійких катіонних барвників, що в подальшому знайшли широке застосування у промисловості для фарбування поліакрилонітрильного волокна. Ця робота викликала великий міжнародний резонанс, іноземні фірми не могли запатентувати цей новий клас барвників, так як синтез сполуки було опубліковано у хімічному збірнику Київського державного університету ім. Тараса Шевченка.

Значний інтерес викликають дослідження Г.М.Оксенгендлера з конденсації кетону Міхлера та його вініленового гомолога зі сполуками, які містять активні метильні та метиленові групи. Особливо слід підкреслити його роботи з використання в цих конденсаціях імінів N-метилбензотіазолону замість карбонільних сполук. Надалі такі реакції він використовував для одержання найпростіших ціанінів, а в теперішній час імінопохідні кетонів стали широко застосовувати в органічному синтезі.

З рекомендації А.І.Кіпріанова після захисту дисертації Г.М.Оксенгендлер був прийнятий на роботу в Рубіжанський філіал Науково-дослідного інституту органічних напівпродуктів і барвників (НДІНіБ). Тут він розпочав серйозну роботу з синтезу нових методів одержання широко використовуваних у промисловості тіоіндигоїдних барвників.

У лабораторії, де працював Гдаль Мойсейович, панував дух творчості та ентузіазму, велику увагу він приділяв молодим хімікам. Пам'ять зберегла деякі моменти того періоду. Гдаль Мойсейович часто заходив у лабораторію з традиційними словами: “Молодежь, какими новостями порадуете меня?”, і починався звіт групи, що було зроблено за минулий період.

Під його керівництвом я виконав свою першу роботу з синтезу тіоіндигоїдних барвників, які містять ліпофільні вищі алкільні групи. Г.М.Оксенгендлер був науковим керівником дисертації на здобуття вченого ступеня кандидата хімічних наук Ю.О.Герасименка. Висока оцінка проведеної роботи привела до того, що її молодий автор став замісником директора НДІНіБ у м. Москві. Під керівництвом Гдаля Мойсейовича ми успішно виконували завдання Міністерства хімічної промисловості з синтезу пігменту вишня для індійської фірми на основі червоно-фіолетового тіоіндигоїдного барвника, вперше отриманого Гдалем Мойсейовичем та Юрієм Омельяновичем.

Про практичну важливість виконаних Г.М.Оксенгендлером робіт свідчить ряд одержаних ним авторських свідоцтв з хімії ціанінових та тіоіндигоїдних барвників. Його роботи були багаторазово нагороджені дипломами Всесоюзного хімічного товариства ім. Д.І.Менделєєва в конкурсах зі створення нових марок тіоіндигоїдних барвників, нових методів їх синтезу, дослідження їх цис-транс-ізомерії.

Хочу відмітити доброзичливість і ширість характеру Гдаля Мойсейовича. Він з повагою ставився до молодої людини. На технічних нарадах завжди можна було розраховувати на його підтримку.

Помер Г.М.Оксенгендлер 5 листопада 1957 р., його життя промайнуло як метеор у Всесвіті. Дуже шкода, що така талановита людина так рано пішла з життя.

*Директор Інституту органічної хімії НАН України
академік М.О.Лозинський*

ЗМІСТ

| | |
|---|----|
| 2-МЕТИЛ-6,6-БІС(ТРИФТОРОМЕТИЛ)ЦИКЛОГЕКС-3-ЕН-1-КАРБАЛЬДЕГІД: РЕАКЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ТА ВИКОРИСТАННЯ У ЯКОСТІ МОДЕЛІ ДЛЯ ОТРИМАННЯ 16,16,16,17,17-ГЕКСАФТОРОРЕТИНАЛЬНИХ АНАЛОГІВ Сара Бойшу, Сесіль Бойер, Клаус Бюргер, Алоїз Хаас, Клаус Мерц, Тьеррі Пейдж, Тільман Воллміхрат | 3 |
| СИНТЕЗ ДИПЕПТИДНИХ ПОХІДНИХ 2-(6-R-4-ОКСО-1, 2, 3, 4-ТЕТРАГІДРОЦИКЛОПЕНТА(С)ХРОМЕН-7-ІЛОКСИ)- ТА 2-(4-R-6-ОКСО-7, 8, 9, 10-ТЕТРАГІДРО-6Н- БЕНЗО(С)ХРОМЕН-3-ІЛОКСИ) ОЦТОВИХ КИСЛОТ С.В.Шилін, М.М.Гаразд, В.Ф.Валюк, В.П.Хиля | 13 |
| НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 1-АРИЛ-4-[(НАФТАЛИМИДО)БУТИЛ]ПИПЕРАЗИНА. СИНТЕЗ И НЕЙРОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА С.Г.Соболева, Т.Л.Карасева, А.В.Замковая, С.А.Андронати | 20 |
| [(2-R-3Н-ХІНАЗОЛІН-4-ІЛІДЕН)ГІДРАЗОНО]- α -(β -, γ -)КАРБОНОВІ КИСЛОТИ ТА ЇХ ЕСТЕРИ В РЕАКЦІЇ АМІНОЛІЗУ С.І.Коваленко, О.Ю.Воскобойник, О.В.Карпенко, І.В.Омельченко, О.В.Шишкін, Н.О.Нестерова, Д.Ю.Скоріна | 25 |
| СИНТЕЗ β -АРИЛТИОГЛИКОЗИДОВ N-АЦЕТИЛМУРАМОИЛ-L-АЛАНІЛ-D-ИЗОГЛУТАМИНА А.Е.Земляков, В.Н.Цикалова, Л.Р.Азизова, В.Я.Чирва | 33 |
| СИНТЕЗ ТА АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ 2-АМІНО-3-R-БЕНЗОЇЛ- N-(4-МЕТОКСИФЕНІЛ)-1-ІНДОЛІЗІНКАРБОКСАМІДІВ А.Р.Хайрулін, А.М.Демченко, О.С.Смольський, М.О.Лозинський | 38 |
| СИНТЕЗ И МЕЗОГЕННАЯ СПОСОБНОСТЬ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ 1,3-ДИГИДРОКСИБЕНЗОЛА, СОДЕРЖАЩИХ ЛАТЕРАЛЬНЫЙ ЗАМЕСТИТЕЛЬ Н.С.Новикова, Р.В.Кондратьева, Е.Д.Килименчук, А.В.Мазепа | 42 |
| ІМУНОМОДУЛЮЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ НОВИХ ФЕНІЛСУЛЬФОНІЛЬНИХ ПОХІДНИХ ПІРИМІДИНОВИХ ТА ПІРАЗОЛО[1,5-а]ПІРИМІДИНОВИХ ОСНОВ Л.О.Метелиця, Л.Л.Чарочкіна, С.Є.Могилевич, С.Р.Сливчук, В.С.Броварець, Б.С.Драч | 47 |
| КОНДЕНСОВАНІ ПІРИМІДИНОВІ СИСТЕМИ. 7. ВЗАЄМОДІЯ 2-АЗАГЕТЕРИЛАЦЕТОНІТРИЛІВ З ЕТОКСИКАРБОНІЛІЗОТІОЦІАНАТОМ І АЛКІЛУВАННЯ ПРОДУКТІВ РЕАКЦІЇ П.С.Лебідь, М.В.Вовк | 51 |
| СИНТЕЗ И ПРОТИВОСУДОРОЖНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 1,2-ДИГИДРОХИНОЛИН-2-ОНА Л.В.Гришук, <u>Э.И.Иванов</u> , И.А.Кравченко, В.Е.Кузьмин, А.Г.Артеменко, А.М.Турянская | 56 |
| ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ФОТОКОЛОРИМЕТРІЇ ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ВОДНОГО РОЗЧИНУ ФУРАЦИЛІНУ В АПТЕЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ В.А.Георгіянц, О.А.Євтіфеева, К.І.Проскуріна | 62 |
| РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЯКОСТІ ВАГІНАЛЬНИХ СУПОЗИТОРІЇВ, СТВОРЕНИХ НА ОСНОВІ СУКЦИФЕНАТУ ТА БЕНЗАЛКОНІО ХЛОРИДУ С.І.Мерзлікін, О.В.Суворов, Д.С.Мерзлікін, Є.В.Гладух | 71 |
| РОЗРОБКА МЕТОДИК ВИЗНАЧЕННЯ ЯКОСТІ НАСТОЙКИ СКЛАДНОЇ “ПРОСТАТОФІТ” Л.І.Вишневецька | 76 |
| СИНТЕЗ НОВОЇ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНОЇ СИСТЕМИ [1]БЕНЗОФУРО[2,3-е][1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-а]ПІРИМІДИНУ Т.М.Ткачук | 81 |
| Пам’яті талановитого вченого-хіміка Гдаля Мойсейовича Оксенгендлера (1920-1957 рр.) | 82 |

CONTENTS

| | |
|--|----|
| 2-METHYL-6,6-BIS(TRIFLUOROMETHYL)CYCLOHEX-3-ENE-1-CARBALDEHYDE: REACTIVITY AND APPLICATION AS A MODEL FOR THE PREPARATION OF 16,16,16,17,17,17-HEXAFLUORORETINAL ANALOGS Sarah Boichut, Cecile Boyer, Klaus Burger, Alois Haas, Klaus Merz, Thierry Pages, Tilman Wallmichrath | 3 |
| THE SYNTHESIS OF DIPEPTIDE DERIVATIVES OF 2-(6-R-4-OXO-1, 2, 3, 4-TETRAHYDROCYCLOPENTA[C]CHROMEN-7-YLOXY)- AND 2-(4-R-6-OXO-7, 8, 9, 10-TETRAHYDRO-6H-BENZO[C]CHROMEN-3-YLOXY) ACETIC ACIDS S.V.Shylin, M.M.Garazd, V.F.Valyuk, V.P.Khilya | 13 |
| THE NOVEL 1-ARYL-4-[(NAPHTHALIMIDO)BUTYL]PIPERAZINE DERIVATIVES. THE SYNTHESIS AND NEUROTROPIC PROPERTIES S.G.Soboleva, T.L.Karasyova, A.V.Zamkovaya, S.A.Andronati | 20 |
| [(2-R-3H-QUINAZOLINE-4-GLYDENE)HYDRAZONO] α -(β -, γ -)CARBOXYLIC ACIDS AND THEIR ESTERS IN THE AMONOLYSIS REACTION S.I.Kovalenko, A.Yu.Voskoboynik, A.V.Karpenko, I.V.Omelchenko, O.V.Shishkin, N.A.Nesterova, D.Yu.Skorina | 25 |
| THE SYNTHESIS OF β -ARYLTHIOGLYCOSIDES OF N-ACETYLMURAMYL-L-ALANYL-D-ISOGLUTAMINE A.Ye.Zemlyakov, V.N.Tsikalova, L.R.Azizova, V.Ya.Chirva | 33 |
| THE SYNTHESIS AND ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF 2-AMINO-3-R-BENZOYL- N-(4-METHOXYPHENYL)-1-INDOLYZINE CARBOXAMIDES A.R.Khairulin, A.M.Demchenko, A.S.Smolsky, M.O.Loizinsky | 38 |
| THE SYNTHESIS AND MESOGENIC ABILITY OF 1,3-DIHYDROXYBENZENE ESTERS WITH THE LATERAL SUBSTITUTE N.S.Novikova, R.V.Kondratyeva, Ye.D.Kilimenchuk, A.V.Mazepa | 42 |
| IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF NEW PHENYLSULFONYL DERIVATIVES OF PYRIMIDINE AND PYRAZOLO[1,5-a]PYRIMIDINE BASES L.A.Metelitsa, L.L.Charochkina, S.Ye.Mogilevich, S.R.Slivchuk, V.S.Brovarets, B.S.Drach | 47 |
| FUSED PYRIMIDINE SYSTEMS. 7. INTERACTION OF 2-AZAHETERYL-ACETONITRILES WITH ETHOXYCARBONYLTHIOISOCYANATES AND ALKILATION OF REACTION PRODUCTIONS P.S.Lebed', M.V.Vovk | 51 |
| THE SYNTHESIS AND ANTICONVULSANT ACTIVITY OF THE DERIVATIVES OF 1,2-DIHYDROQUINOLIN-2-ONE L.V.Grishchuk, <u>E.I.Ivanov</u> , I.A.Kravchenko, V.Ye.Kuzmin, A.G.Artemenko, A.M.Turyanskaya | 56 |
| THE USE OF PHOTOCOLORIMETRIC METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF FURACYLIN AQUEOUS SOLUTION IN EXTEMPORAL MEDICINAL FORMS V.A.Georgiyants, O.A.Yevtifeeva, K.I.Proskurina | 62 |
| DEVELOPMENT OF THE QUALITY STANDARTIZATION METHODS FOR VAGINAL SUPPOSITORIES ON THE BASIS OF SUCCIPHENATE AND BENZALKONY CHLORIDE S.I.Merzlikin, A.V.Suvorov, D.S.Merzlikin, Ye.V.Gladukh | 71 |
| METHODS DEVELOPMENT OF QUALITY DETERMINATION OF "PROSTATOPHYTE" COMPOUND TINCTURE L.I.Vishnevskaya | 76 |