ПОИСК МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ НОВЫХ ЗАМЕЩЕННЫХ 2,2'-[(6-МЕТИЛПИРИМИДИН-2,4-ДИИЛ) БИС (3-ФЕНИЛ-1Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-1,5-ДИИЛ)]ДИПРОПАНОВЫХ КИСЛОТ, ОБЛАДАЮЩИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

© Алексеева Лилия Николаевна, Яковлев Игорь Павлович, Ксенофонтова Галина Владимировна, Семакова Тамара Леонидовна

Санкт-Петербургский государственный Химико-Фармацевтический университет. 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14. E-mail: liya-105@mail.ru

Ключевые слова: 2,5-дизамещенные 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-он; 2,2'-[(6-метилпиримидин-2,4-диил)бис(3-фенил-1Н-1,2,4-триазол-1,5-диил)]дипропановая кислота; 2,4-дигидразинил-6-метилпиримидин; программа PASS; острая токсичность; анальгезирующая и противовоспалительная активность.

Введение. Желание населения и медицинских работников применять для лечения различных заболеваний лекарственные препараты, оказывающие мягкое воздействие на организм и в оптимальной дозе не проявляющие побочных эффектов, требует расширения их ассортимента. В связи с этим, синтез новых биологически активных соединений, доказательство их строения, изучение фармакологической активности и разработка норм качества является одной из актуальных задач фармацевтической химии.

Особый интерес представляют 1,2,4-триазолил алкановые кислоты, обладающие широким спектром биологической активности.

Цель работы: синтез ранее неописанных 2,2'-[(6-метилпиримидин-2,4-диил)бис(3-фенил-1Н-1,2,4-триазол-1,5-диил)]дипропановых кислот и изучение их биологической активности.

Материалы и методы. За основу были взяты 2,5-дизамещенные 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-оны и 2,4-дигидразинил-6-метилпиримидин, в качестве растворителя были выбраны метанол, этанол, бутанол, этилацетат и уксусная кислота.

Изучение острой токсичности проводились на белых мышах-самцах общей массой 16–20 г. Препараты вводили внутрибрюшинно в виде суспензии, стабилизированной твином-80. Расчёт средней летальной дозы (LD_{50}) проводили с помощью пробит-анализа по методу Миллера-Тейтнера.

Для экспериментальной оценки анальгезирующей активности исследуемых соединений использовали модель генерации уксуснокислых «корчей» у мышей самцом. Суспензию исследуемого соединения в дозе 1/10 от LD_{50} вводили внутрибрюшинно. Через 40 мин внутрибрюшинно вводили 0,2 мл уксусной кислоты 3%-го раствора. Наблюдали за животными в течение 20 мин. В ходе эксперимента регистрировали время от начала судорог и количество судорог за временной интервал.

Противовоспалительную активность исследовали на скрининговой модели — формалиновый отёк лапы у крыс. Исследуемый нативный раствор вводили крысам внутрибрюшинно в виде суспензии в ДМСО:вода очищенная (1:5).

Результаты. Первой нашей задачей являлось разработка методов синтеза новых 2,2'-[(6-метилпиримидин-2,4-диил)бис(3-фенил-1Н-1,2,4-триазол-1,5-диил)]дипропановых кислот. Нами было установлено, что проведение реакции 2,5-дизамещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов с 2,4-дигидразинил-6-метилпиримидином в среде абсолютного метанола при температуре 18–20 °С, в течение 40–50 часов, приводит к образованию ожидаемых продуктов с выходом 73–85%. Увеличение температуры в реакционной массе до 55–60 °С снижает время реакции почти в два раза, но понижает выход целевых продуктов до 42–56%, способствуя образованию побочных веществ — метиловых эфиров N-замещенных малонамовых кислот с выходом 35–48%. Образование последних связано с протеканием конкурирующей реакции нуклеофильного расщепления оксазинов метанолом по углеродному атому С6-гетероцикла.

Замена метанола на этиловый и бутиловый спирты, с целью повышения растворимости в них исходных регентов, позволила сократить

время реакции до 25–30ч в обычных условиях, но и уменьшило выход целевого продукта до 50–55% в виду образования побочных этиловых и бутиловых эфиров, N-замещенных малонамовых кислот что, может быть связано с увеличением нуклеофильности выбранных спиртов по сравнению с метанолом.

С целью увеличения селективности реакции образования 2,2'-[(6-метилпиримидин-2,4-диил)бис(3-фенил-1Н-1,2,4-триазол-1,5-диил)]дипропановых кислот была предложена замена растворителя на этилацетат. В результате время процесса увеличилось до 55–60 ч, а выход ожидаемых продуктов уменьшился до 45–52%, что, на наш взгляд, связано с уменьшением растворимости исходных соединений в этилацетате. В качестве побочных продуктов образовывались смолистые, трудно идентифицируемые примеси.

Попытки ускорить реакцию путем нагрева реакционной массы до 60–65 °С приводили к декарбоксилированию целевого продукта с образованием этил-1,2,4-триазолов.

Поэтому для сокращения времени проведения реакции и увеличения выхода основного продукта было решено подобрать полярный протонный растворитель, который бы хорошо растворял исходные реагенты и обладал низкой нуклеофильностью.

В результате проведенных исследований было установлено, что ледяная уксусная кислота является наиболее приемлемым растворителем. Проведение синтеза при 18–20 °С, в среде ледяной уксусной кислоты, позволило повысить селективность и выход целевых продуктов реакции до 79–85%, а также существенно уменьшить продолжительность процесса — до 3–6 часов.

Прежде чем начать изучение биологической активности нами был проведен скрининг с помощью программы PASS. Которая показала вероятность проявления противовирусной, анальгетической, противовоспалительной и других видов биологической активности, что послужило поводом для изучения более детальных фармакологических исследований полученных соединений.

Из полученных данных 2,2'-[(6-метилпиримидин-2,4-диил)бис(3-фенил-1Н-1,2,4-триазол-1,5-диил)]дипропановые кислоты по классификации Сидорова К.К. относятся к классу практически нетоксичных веществ, что подтверждает целесообразность дальнейших, более глубоких исследований.

Для экспериментальной оценки анальгезирующей активности исследуемых соединений использовали модель генерации уксуснокислых «корчей» у мышей самцом. Препаратом сравнения являлся метамизол натрия. Из полученных результатов следует, что 2,2'-[(6-метилпиримидин-2,4-диил)бис(3-фенил-1Н-1,2,4-триазол-1,5-диил)]дипропановые кислоты уменьшали число судорог у животных на 85–67% по сравнению с контролем. Установлено, что данные соединения обладают выраженным анальгезирующим действием и не уступают, а иногда превышают действие препарата сравнения метамизола натрия.

Противовоспалительную активность исследовали на скрининговой модели — формалиновый отёк лапы у крыс. Препарат сравнения — диклофенак натрия. Полученные 2,2›-[(6-метилпиримидин-2,4-диил)бис(3-фенил-1*Н*-1,2,4-триазол-1,5-диил)]дипропановые кислоты обладают выраженной противовоспалительной активностью и низкой токсичностью по сравнению с препаратом сравнения.

Заключение. Разработаны методы синтеза новых замещенных 2,2'-[(6-метилпиримидин-2,4-диил)бис(3-фенил-1Н-1,2,4-триазол-1,5-диил)]дипропановых кислот на основе взаимодействия 2,5-дизамещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов с 2,4-дигидразинил-6-метилпиримидином в среде уксусной кислоты. Строение полученных соединений доказана с помощью УФ-спектрофотометрии, ИК и ЯМР-спектроскопии. Показано, что определяющее влияние на скорость реакции, ее направление и строение образующихся продуктов оказывает выбор растворителя и температурный режим процесса. Установлено, что 2,2'-[(6-метилпиримидин-2,4-диил)бис(3-фенил-1Н-1,2,4-триазол-1,5-диил)]дипропановые кислоты по классификации Сидорова К.К. относятся к классу практически нетоксичных веществ. Полученные соединения обладают анальгезирующей и противовоспалительной активностью.