

Синтез та біологічна активність похідних 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден) оцтової кислоти

С.В.Колісник, В.В.Болотов, С.Г.Леонова, О.В.Колісник

Національний фармацевтичний університет, кафедра аналітичної хімії
Харків, Україна

Здійснено синтез амідованих похідних 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти. Будову синтезованих речовин доведено сучасними методами інструментального аналізу (у т.ч. рентгеноструктурного). Вивчена антигіпоксична активність синтезованих сполук.

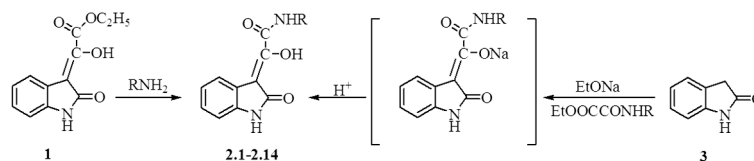
Ключові слова: синтез, похідні 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти, антигіпоксична активність.

ВСТУП

Важливим аспектом оптимізації пошуку нових лікарських субстанцій є розробка нових оригінальних економічно вигідних методів синтезу, встановлення закономірностей зв'язку між хімічною будовою та біологічною дією сполук, що складає теоретичний фундамент для розвитку цілеспрямованого синтезу і дозволяє уникнути тотального фармакологічного скринінгу всіх синтезованих речовин.

Аналіз наукової та патентної літератури свідчить про перспективність пошуку біо-

логічно активних сполук серед похідних 2-оксоіндоліну. У медичну практику впроваджено ряд лікарських засобів, серед яких протівірусний препарат метисазон [4], засіб для лікування паркінсонізму – ропінірол [9]; до 2-оксоіндолінових інгібіторів протеїн-тирозинкінази відноситься сунітініб, що проявляє високу протипухлинну активність у випадках, коли пухлинні клітини резистентні до традиційної цитотоксичної хіміотерапії [11]. Нещодавно було відкрито новий клас анальгетиків, протизапальних та протиартритних засобів, найбільш активним з яких є тенідап [8, 10]. Дослідження в галузі синтезу 2-оксоіндолін-карбонових кислот та їх похідних є одним з наукових напрямів НФаУ (наукові школи проф. П.О.Петюніна, проф. В.В.Болотова). Проте біологічна активність похідних із фрагментом 2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти практично не досліджувалась. Тому з метою пошуку нових біологічно активних сполук у ряду 2-оксоіндоліну ми зосередили свою увагу на синтезі похідних 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти, які поєднують в одній структурі оксоіндоліновий цикл та фрагмент оцтової кислоти – двох активних фармакофорів, та на дослідженні впливу на проявів біологічних властивостей подібного комбінування.



2.1 R=Me; 2.2 R=Et; 2.3 R=Bn; 2.4 R=піридин-2-ілметил; 2.5 R=піридин-3-ілметил; 2.6 R=(CH₂)₆Ph; 2.7 R=тіазол-2-іл; 2.8 R=4-(адамантил-1)-тіазол-2-іл; 2.9 R=1,5-диметил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідро-1H-піразол-4-іл; 2.10 R=Py-2; 2.11 R=5-Cl-Py-2; 2.12 R=5-F-Py-2; 2.13 R=4-піколіл; 2.14 R=Py-3.

Рис. 1. Синтез амідованих похідних 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти (2.1-2.14).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Алкіл- та гетериламіди 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-ілден)оцтової кислоти (2.1-2.14) були синтезовані конденсацією етилового естеру 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-ілден)оцтової кислоти (1) з еквімолярними кількостями відповідних амінів у середовищі диметилформаміду або етанолу (рис. 1).

Інший спосіб отримання амідів (2.1-2.14) полягає у взаємодії естерів оксамінових кислот із оксіндолом (3) у середовищі абсолютного етанолу в присутності натрію етанолату, який беруть в еквімолярних кількостях. Зазначена

конденсація для нас викликала інтерес з точки зору підтвердження структури цільових амідів (зустрічний синтез):

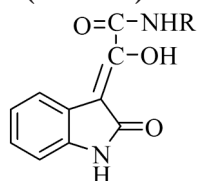
При вивченні об'єктів дослідження з метою підтвердження будови та чистоти синтезованих речовин у роботі було використано фізико-хімічні методи, наведені в Державній фармакопеї України (ДФУ, вид. 1) [1].

Температури плавлення визначали каплярним методом на приладі ПТМ (М). Елементний аналіз вмісту нітрогену проводили на автоматичному аналізаторі «СНН» модель ЕА 1108 «Carlo Erba».

ІЧ-спектри були зареєстровані на приладі «Tensor 27» у таблетках КВr, концентрація речовини – 1%.

ТАБЛИЦЯ 1

Характеристики амідів 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-ілден)оцтової кислоти (2.1-2.14) загальної формули



| Сполука | R | Брутто-формула | Знайдено N, % Розраховано N, % | Т пл., °С | Вихід, % |
|---------|--|---|--------------------------------------|-----------|----------|
| 2.1 | CH ₃ | C ₁₁ H ₁₀ N ₂ O ₃ | <u>12,82</u> 12,84 | 267-269 | 93 |
| 2.2 | C ₂ H ₅ | C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃ | <u>12,07</u> 12,06 | 258-260 | 91 |
| 2.3 | Вп | C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ | <u>9,50</u> 9,52 | 224-226 | 96 |
| 2.4 | Піридин-2-ілметил | C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃ | <u>14,21</u> 14,23 | 223-225 | 82 |
| 2.5 | Піридин-3-ілметил | C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃ | <u>14,21</u> 14,23 | 220-222 | 84 |
| 2.6 | (CH ₂) ₂ Ph | C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₃ | <u>9,11</u> 9,09 | 250-252 | 93 |
| 2.7 | Тіазол-2-іл | C ₁₃ H ₉ N ₃ O ₃ S | <u>14,64</u> 14,63 | 259-261 | 50,1 |
| 2.8 | 4-(адамантил-1)-тіазол-2-іл | C ₂₃ H ₂₃ N ₃ O ₃ S | <u>9,98</u> 9,97 | 272-274 | 84,5 |
| 2.9 | 1,5-диметил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідро-1Н-піразол-4-іл | C ₂₁ H ₁₈ N ₄ O ₄ | <u>14,33</u> 14,35 | 232-234 | 92,3 |
| 2.10 | Py-2 | C ₁₅ H ₁₁ N ₃ O ₃ | <u>14,96</u> 14,94 | 234-236 | 45,5 |
| 2.11 | 5-Cl-Py-2 | C ₁₅ H ₁₀ ClN ₃ O ₃ | <u>13,32</u> 13,31 | 290-292 | 77,2 |
| 2.12 | 5-F-Py-2 | C ₁₅ H ₁₀ FN ₃ O ₃ | <u>14,07</u> 14,04 | 289-291 | 77,6 |
| 2.13 | 4-піколіл | C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃ | <u>14,21</u> 14,23 | 284-286 | 40,6 |
| 2.14 | Py-3 | C ₁₅ H ₁₁ N ₃ O ₃ | <u>14,96</u> 14,94 | 272-274 | 72,6 |

ТАБЛИЦЯ 2

ЯМР ¹H спектри амідів 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти (2.1-2.14)

| Сполука | Хімічні зсуви, δ, м.ч. | | | | |
|---------|------------------------|------------------|--------------|-------------------|--|
| | ОН-єнол (1H, с) | NH-індол (1H, с) | CONH (1H, с) | Ar-H | Сигнали протонів інших функціональних груп |
| 2.1 | 16,05 | 11,92 | 11,11 | 8,09-6,74, м, 4H | 2,75 (3H, д, CH ₃) |
| 2.2 | 16,09 | 11,90 | 11,17 | 8,04-6,73, м, 4H | 3,35 (2H, м, CH ₂), 1,12 (3H, т, CH ₃) |
| 2.3 | 16,51 | 11,89 | 10,28 | 8,10-6,89, м, 9H | 4,47 (2H, д, CH ₂) |
| 2.4 | 16,08 | 11,85 | 10,18 | 8,50-6,95, м, 8H | 4,42 (2H, д, CH ₂) |
| 2.5 | 16,08 | 11,81 | 10,30 | 8,50-7,02, м, 8H | 4,48 (2H, д, CH ₂) |
| 2.6 | 16,59 | 11,84 | 9,78 | 8,09-6, 19, м, 9H | 3,51 (2H, м, CH ₂ CH ₂), 2,88 (2H, м, CH ₂ CH ₂) |
| 2.7 | 15,24 | 12,91 | 10,74 | 7,95-6,96, м, 6H | |
| 2.8 | 14,87 | 11,69 | 11,07 | 7,97-6,75, м, 5H | 2,01 (3H, с, γ-Надам.), 1,85 (6H, с, δ-Надам.), 1,61 (6H, с, β-Надам.) |
| 2.9 | 15,89 | 11,90 | 10,67 | 8,12-6,97, м, 9H | 3,40 (3H, с, NCH ₃), 2,20 (3H, с, CH ₃) |
| 2.10 | 15,89 | 12,57 | 11,45 | 8,42-6,75, м, 8H | |
| 2.11 | 15,89 | 12,70 | 11,35 | 8,45-6,85, м, 7H | |
| 2.12 | 15,89 | 12,45 | 11,41 | 8,50-6,83, м, 7H | |
| 2.13 | 15,89 | 11,51 | 10,36 | 8,30-6,52, м, 7H | 2,35 (3H, с, CH ₃) |
| 2.14 | 15,89 | 11,78 | 11,74 | 8,41-6,95, м, 8H | |

Спектри ЯМР ¹H синтезованих речовин записані на спектрофотометрі Varian Mercury VX-200 (робоча частота складає 200 MHz). Розчинник ДМСО-*D*₆, внутрішній стандарт — тетраметилсилан (ТМС). Хімічні зсуви наведені в шкалі δ (м.ч.).

N-бензиламід 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти (2.3)

А. До 2,33 г (0,01 моль) етилового естеру 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти (1) в 10 мл ДМФА додають 1,06 г (0,01 моль) бензиламіну. Реакційну суміш кип'ятять зі зворотнім холодильником протягом 60 хв., охолоджують, виливають у воду. Через 12 годин жовтий осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою і перекристалізують з етанолу. Вихід: 2,8 г (96 %). T_{пл.} = 224-226°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч., (J, Гц): 16.51 (1H, с, ОН-єнол), 11.89 (1H, с, NH-індол), 10.28 (1H, с, NH-амід), 8.10 (1H, д, 4-H_{аром.}), 7.48-7.21 (5H, м, 2',3',4',5',6'-H), 7.14-6.89 (3H, м, 5,6,7-H_{аром.}), 4.47 (2H, д, NHCH₂). Знайдено, %: N 9.50. C₁₇H₁₄N₂O₃. Вираховано, %: N 9.52.

Сполуки 2.1-2.2, 2.4-2.14 отримують аналогічно.

Б. У круглодонній колбі в 15 мл абсолютно го етанолу розчиняють 0,23 г (0,01 моль) металевого натрію і до отриманого розчину додають 1,33 г (0,01 моль) 2-оксиндолу (3). Нагрівають суміш до повного розчинення 2-оксиндолу, після чого в колбу переносять 0,01 моль відповідного естеру оксамінової кислоти і продовжу-

ють кип'ятіння на водяній бані протягом 40 хвилин. Після охолодження реакційну суміш переносять у воду, підкислену хлоридною кислотою до pH 3-4. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою, висушують і перекристалізують з етанолу.

Проба змішування речовин, отриманих за методами А і Б, не дає депресії температури плавлення.

Вивчення антигіпоксичної активності синтезованих сполук проводили на кафедрі патологічної фізіології НФаУ під керівництвом д.м.н., проф. А.І.Березнякової на моделі гіпоксичної гіпоксії в дозі 1/10 їх LD₅₀ у порівнянні з контролем та дією еталонного препарату мексидолу [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Синтезовані аміді 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти (2.1-2.14) представляють собою жовті кристалічні речовини, нерозчинні у воді, розчинні при нагріванні в 1,4-діоксані, диметилформаміді, диметилсульфоксиді.

Будова синтезованих сполук підтверджена даними елементного аналізу, ІЧ- та ПМР-спектрів, а індивідуальність — методом хроматографії в тонких шарах сорбенту (табл. 1, 2).

Аналіз ЯМР ¹H спектрів сполук (2.1-2.14) показав, що в області 6,19-8,50 м.ч. спостері-

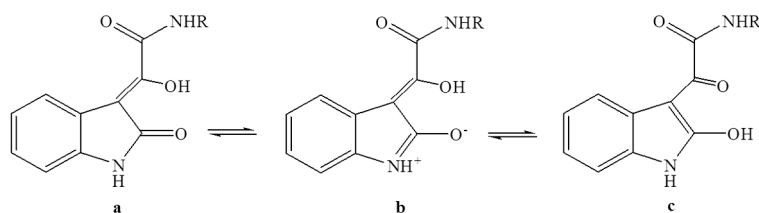


Рис. 2. Резонансні структури молекул *N*-бензиламідів та *N*-(1,5-диметил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідро-1*H*-піразол-4-іл)амідів та 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти.

гається ABCD-система ароматичних протонів у вигляді розширених сигналів. При цьому сигнал протону в положенні 4 2-оксоіндолінового фрагмента спостерігається у вигляді розширеного дублету (у деяких випадках — у вигляді широкого синглетного сигналу в результаті злиття компонента) в області 8,10-8,50 м.ч. Сигнали протонів у положеннях 5,6,7 гетероциклу розташовані поруч — в області 6,19-7,34 м.ч. і в залежності від структури сполук можуть спостерігатися як окремими сигналами, так і у вигляді складного мультиплету. Два сигнали в області 11,51-12,91 м.ч. та 9,78-11,74 м.ч. відносяться до NH-протонів індолінового та карбамідного фрагментів відповідно. Свідченням того, що в ДМСО переважає енольна таутомерна форма, є зумовлені протонами OH-груп синглетні сигнали інтенсивністю 1H в характерній для енолів області.

Просторова будова синтезованих амідів була досліджена за допомогою РСА на прикладі *N*-бензиламідів [5] та *N*-(1,5-диметил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідро-1*H*-піразол-4-іл)амідів та 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти [6]. З'ясовано, що будову молекул досліджених сполук можна представити як суперпозицію трьох резонансних структур з переважним вкладом структури **с** (рис. 2) на відміну від етилового естеру (**1**) з таким же фрагментом, де основний вклад у будову молекули вносила резонансна структура **а** [2].

Висока антигіпоксична активність за показником тривалості життя мишей була виявлена практично в усіх досліджуваних амідів та 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти. При їх введенні життя тварин збільшувалось в 1,5-2,2 рази відносно контролю. Найбільш активним виявився *N*-(2-фенілетил)амід та 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти (**2.6**) (умовна назва «Оксоіндолін»), який за антигіпоксичною дією перевищує мексидол та має набагато нижчу токсичність [7].

ВИСНОВКИ

1. Взаємодію етилового естеру 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти з аліфатичними та гетероциклічними амінами отримано амідовані похідні 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти.

2. Структура та індивідуальність синтезованих сполук підтверджені даними елементного аналізу, УФ-, ІЧ-, ПМР-спектроскопії, рентгеноструктурного аналізу, а також зустрічним синтезом. За результатами РСА встановлено стереоструктуру *N*-бензиламідів та *N*-(1,5-диметил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідро-1*H*-піразол-4-іл)амідів та 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти.

3. Виявлена висока антигіпоксична активність у синтезованих сполук. Найбільш активна з них *N*-(2-фенілетил)амід та 2-гідрокси-2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтової кислоти (умовна назва «Оксоіндолін») рекомендована для поглиблених досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. — Х.: РИРЕГ, 2001. — 556 с.
2. Колесник С.В. Рентгеноструктурное исследование этилового эфира 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты / С.В.Колесник, В.В.Болотов, С.В.Шишкина // Укр. журнал клін. та лаб. мед. — 2009. — Т.4, №2. — С. 84-87.
3. Лукьянова, Л.Д. Методические рекомендации по отбору антигіпоксантов. — М.: 1990. — 18 с.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д.Машковский. — 15-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: Новая Волна, 2005. — 1200 с.
5. Рентгеноструктурное исследование (2E)-*N*-бензил-2-гідрокси-2-(2-оксо-1,2-дигідро-3*H*-індол-3-иліден)-ацетамида / С.В. Колесник, В.В. Болотов, С.В. Шишкина, Е.В. Колесник // Укр. журнал клін. та лаб. медицини. — 2010. — Т.5, №4. — С. 215-218.
6. Рентгеноструктурное исследование *N*-(1,5-диметил-3-оксо-2-феніл-2,3-дигідро-1*H*-піразол-4-ил)-2-гідрокси-2-(оксо-1,2-дигідро-3*H*-індол-3-иліден)ацетамида / С.В.Колесник, В.В.Болотов,

- О.О.Алтухов, С.В.Шишкіна // Укр. журнал клін. та лаб. медицини. — 2010. — Т.5, №1. — С. 76-79.
7. Патент на винахід Україна 85318, МПК (2006) C07D209/04 (2006.01), C07D209/34 (2006.01). N-2(фенілетил)амід-2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти з антигіпоксичною, протизапальною, діуретичною дією / В.В.Болотов, С.В.Колісник, А.І.Березнякова, І.І.Шевцов — №а 200708419; заявл. 23.07.07; опубл. 10.06.09, Бюл. №11. — 6 с.
 8. Пат. RU № 2011381, МПК⁵ А 61 К 31/38. Способ получения кристаллической натриевой соли 5-хлор-3-(2-теноил)-2-оксиндол-1-карбоксамида / Д.Д.М.Аллен, Б.Т.О'Нейл. — №6414718/14; заявл. 01.08.1989. опубл. 30.04.1994.
 9. Jost W.H. Ropinirol, a non-ergoline dopamine agonist / W.H.Jost, D.T.Angersbach. — CNS Drug Reviews. — 2005. — Vol. 11. — №3. — P. 253-272.
 10. New routes to oxindole derivatives / M.Porcs-Makkay, B.Volk, R.Kapiller-Dezsöfi [et al.]. — Monatshefte für Chemie. — 2004. — Vol. 135. — №6. — P. 697-711.
 11. Roskoski R.Jr. Sunitinib: A VEGF and PDGF receptor protein kinase and angiogenesis inhibitor / R.Jr.Roskoski. — Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2007. — Vol. 356. — №2 — P. 323-328.

С.В.Колесник, В.В.Болотов, С.Г.Леонова, Е.В.Колесник. Синтез и биологическая активность производных 2-гидрокси-2-(2-оксоиндолин-3-илиден)уксусной кислоты. Харьков, Украина.

Ключевые слова: синтез, производные 2-гидрокси-2-(2-оксоиндолин-3-илиден)уксусной кислоты, антигипоксическая активность.

Осуществлен синтез амидированных производных 2-гидрокси-2-(2-оксоиндолин-3-илиден)уксусной кислоты. Строение синтезированных соединений доказано современными методами инструментального анализа (в т.ч. рентгеноструктурного). Изучена антигипоксическая активность синтезированных соединений.

S.V.Kolesnik, V.V.Bolotov, S.G.Leonova, O.V.Kolesnik. Synthesis and biological activity of the derivatives of 2-hydroxy-2-(2-oxoindolin-3-ylidene)acetic acid. Kharkiv, Ukraine.

Key words: synthesis, derivatives of 2-hydroxy-2-(2-oxoindolin-3-ylidene)acetic acid, antihypoxant activity.

The synthesis of amides 2-hydroxy-2-(2-oxoindolin-3-ylidene)acetic acid has been carried out. The structure of the compounds has been confirmed by the modern methods of instrumental analysis (including X-ray diffraction method). The antihypoxant activity of synthesized substances has been studied.

Надійшла до редакції 16.06.2012 р.