

DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-3-3-9  
© Коллектив авторов, 2018

Г. В. Мокров\*, Т. А. Воронина, С. А. Литвинова, И. Г. Ковалев,  
Л. Н. Неробкова, А. Д. Дурнев, Т. А. Гудашева, С. Б. Середенин

## СИНТЕЗ И ПРОТИВОСУДОРОЖНАЯ АКТИВНОСТЬ 4-АМИНО-3-НИТРО-1-ТИОКУМАРИНОВ И 4-АМИНО-3-НИТРОХИНОЛИН-2-ОНОВ

ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В. В. Закусова", 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8;  
\* e-mail: g.mokrov@gmail.com

Представлены синтез и результаты исследований противосудорожной активности оригинальных соединений, относящихся к классам тиокумаринов и хинолин-2-онов. Проведен анализ связи структура — действие в ряду синтезированных соединений и ранее полученных производных кумарина. В опытах на мышах наибольшая противосудорожная активность выявлена у метилового эфира *N*-(3-нитро-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-4-ил)-4-аминомасляной кислоты (**3а**) в дозе 12,5 мг/кг (внутрибрюшинно).

**Ключевые слова:** тиокумарины; хинолин-2-оны; противосудорожная активность; тест максимального электрошока; тест антагонизма с коразолом.

В настоящее время в фармакотерапии эпилепсии и пароксизмальных состояний используется значительное число противоэпилептических препаратов с различной фармакодинамикой, что обусловлено гетерогенностью заболевания и наличием отдельных форм эпилептических синдромов. Поэтому поиск новых противоэпилептических средств остается актуальной проблемой. Ранее нами опубликованы данные по противосудорожной активности новых производных 4-амино-3-нитрокумаринов (**1**) [1]. В этой группе были выявлены соединения, обладающие этим видом активности как в тесте максимального электрошока (МЭШ), так и в тесте антагонизма с коразолом.

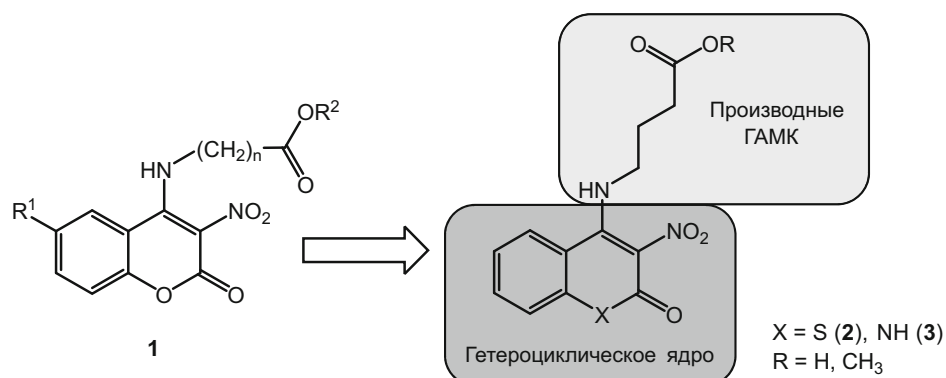
Целью настоящего исследования явился синтез и исследование противосудорожной активности тио- и азааналогов производных 4-амино-3-нитрокумаринов, описанных в работе [1], а именно — производных

4-амино-3-нитро-1-тиокумаринов (**2**) и 4-амино-3-нитрохинолин-2-онов (**3**).

### Экспериментальная химическая часть

Новые соединения конструировались с учетом такого же фармакофорного строения, что и исследованные производные кумаринов (**1**): молекула должна содержать гетероциклическое ядро и фрагмент аминокислотной составляющей использовались только производные  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК). Данная работа позволила выявить влияние гетероатома в кумариновом цикле на активность соответствующих соединений.

Для получения *N*-замещенных 4-амино-3-нитро-1-тиокумаринов **2** нами был предложен метод синтеза на базе тиофенола **4**. Из него на первой стадии получали 4-гидрокси-1-тиокумарин (**5**). При этом воспроизведе-



**Рис. 1.** Дизайн новых производных 4-амино-3-нитро-1-тиокумаринов (**2**) и 4-амино-3-нитрохинолин-2-онов (**3**).

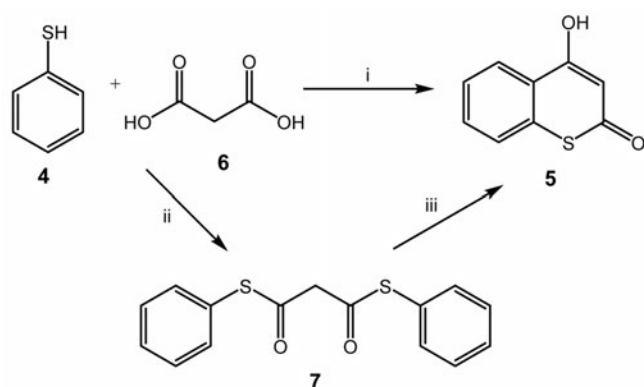


Схема 1. Реагенты и условия: (i)  $\text{POCl}_3$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $100^\circ\text{C}$ , 30 ч; (ii)  $\text{POCl}_3$ , кипячение, 40 мин; (iii)  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $195^\circ\text{C}$ , 25 мин.

ние литературной методики, заключающейся во взаимодействии тиофенола **4** с малоновой кислотой **6** в присутствии фосфорилхлорида и хлорида алюминия при длительном нагревании (схема 1) [2] приводило к образованию **5** с низким выходом 31 %.

В связи с этим нами был предложен альтернативный двухстадийный метод синтеза **5**. На первой стадии происходит взаимодействие тиофенола **4** и малоновой кислоты **6** с образованием дитиофенилового эфира малоновой кислоты **7** с выходом 82 %. На второй стадии происходит циклоконденсация полученного соединения **7** в присутствии  $\text{AlCl}_3$  в качестве кислоты Льюиса, при этом выход **5** достигает 73 % (схема 1). Таким образом, разработанный нами метод синтеза **5** позволяет получить это вещество с существенно большим выходом (суммарный выход — 60 %).

Нитрование **5** осуществляли азотной кислотой в присутствии серной и уксусной кислот, в результате чего получался 4-гидрокси-3-нитро-1-тиокумарин (**8**) с высоким выходом (схема 2) [3]. Гидроксильную

группу в соединении **8** далее замещали на атом хлора действием фосфорилхлорида в ДМФА [3]. Целевой 3-нитро-4-хлор-1-тиокумарин **9** получается с выходом 88 %.

*N*-Замещенные 4-амино-3-нитро-1-тиокумарины **2a**, **b** были получены реакциями 3-нитро-4-хлор-1-тиокумарина **9** с ГАМК и ее метиловым эфиром по аналогии с методами получения соответствующих производных кумаринов **1**, описанными нами ранее [1]. При этом замена атома кислорода на атом серы в гетероцикле не влияла на условия протекания реакций. *N*-(3-Нитро-1-тиокумарин-4-ил)-4-аминоасляная кислота **2a** получалась как при взаимодействии соединения **9** с избытком ГАМК при кипячении в диоксане, так и при кипячении эквимолярных количеств **9** и ГАМК в присутствии триэтиламина в этаноле (схема 2). Взаимодействие 4-хлоркумарина **9** с метиловым эфиром ГАМК происходит значительно быстрее, чем с ГАМК, и в более мягких условиях — при комнатной температуре в толуоле в присутствии триэтиламина (схема 2).

*N*-Замещенные производные 4-амино-3-нитрохинолин-2-онов **3** получали на базе анилина **10** в соответствии с методом синтеза, предложенным для производных тиокумаринов (схема 3). На первой стадии реакцией диэтилового эфира малоновой кислоты **11** с анилином **10** получали дианилид малоновой кислоты **12**. На второй стадии происходит циклоконденсация полученного дианилида **12** в 4-гидроксихинолин-2-он **13** в присутствии свежеприготовленной полифосфорной кислоты при нагревании в течение 5 ч [4–6]. Нитрование 4-гидроксихинолин-2-она **13** проводили в 54 % азотной кислоте в течение 20 мин при  $75^\circ\text{C}$ , при этом образовывался 4-гидрокси-3-нитрохинолин-2-он **14** [7]. 3-Нитро-4-хлорхинолин-2-он **15** был получен замещением гидроксильной группы 4-гидрокси-3-нитрохинолин-2-она **14** на атом хлора действием фосфорилхлорида в присутствии четвертичной аммонийной

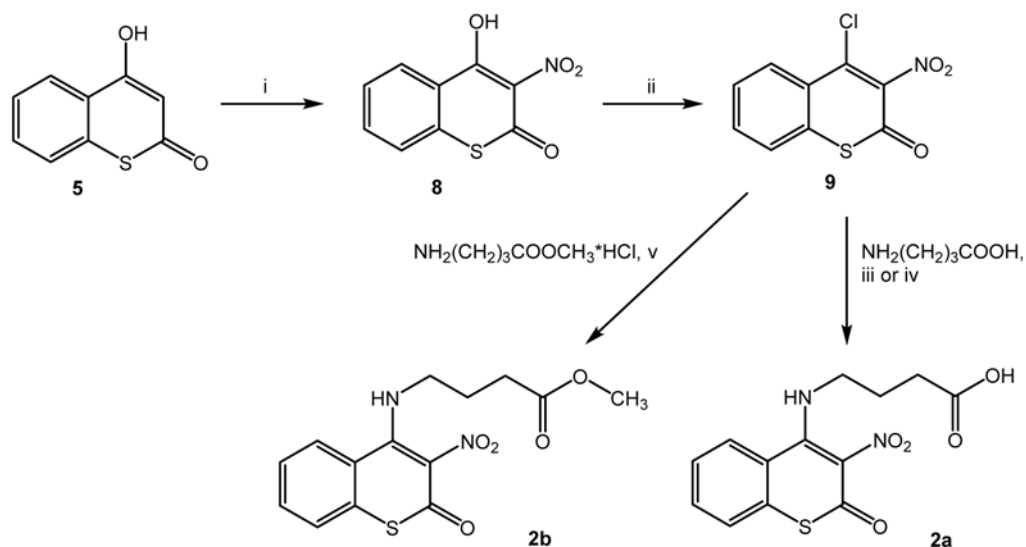
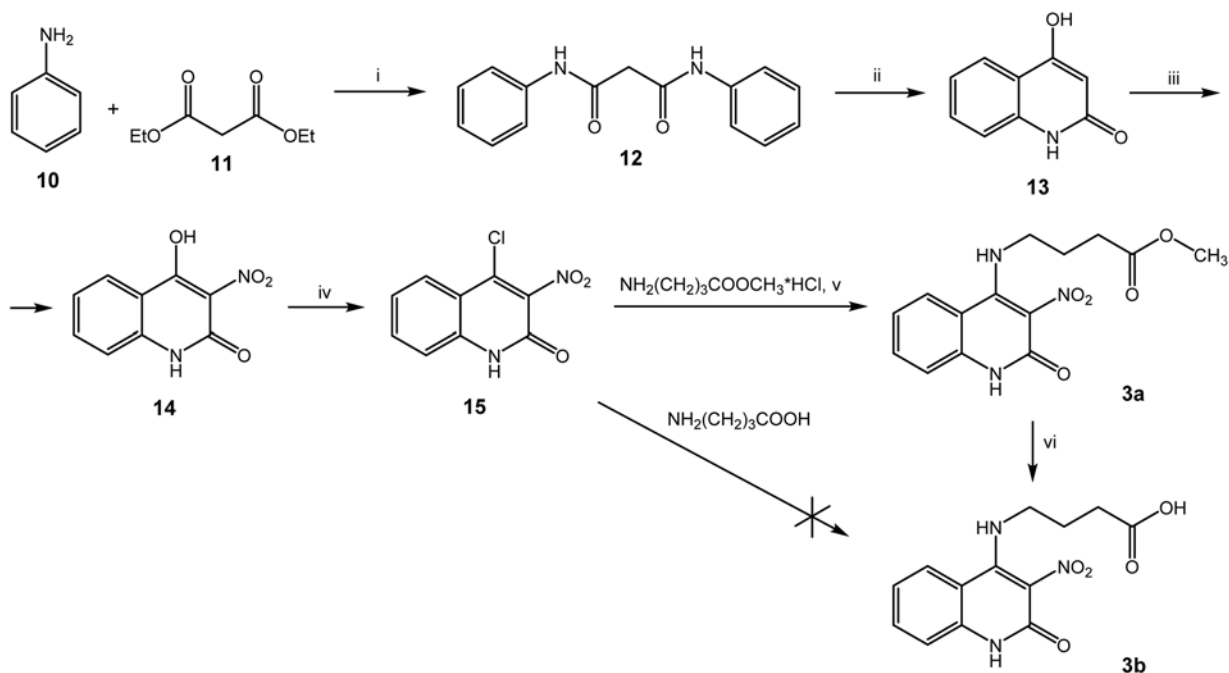


Схема 2. Реагенты и условия: (i)  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{AcOH}$ ,  $T_{\text{к}}$ , 3 ч; (ii)  $\text{POCl}_3$ , DMF, 2 ч; (iii) диоксан, кипячение, 2 ч; (iv) ТЭА, EtOH, кипячение, 3 ч; (v) ТЭА, толуол,  $T_{\text{к}}$ , 30 мин.



**Схема 3.** Реагенты и условия: (i) 210 °С, 5 ч; (ii) полифосфорная кислота, 150 °С, 5 ч; (iii) HNO<sub>3</sub>, 75 °С, 12 мин; (iv) POCl<sub>3</sub>, ТВВАВ, MeCN, 40 °С, 30 мин, затем кипячение, 22 мин; (v) Py, кипячение, 2 ч; (vi) NaOH, H<sub>2</sub>O, MeOH, кипячение, 40 мин.

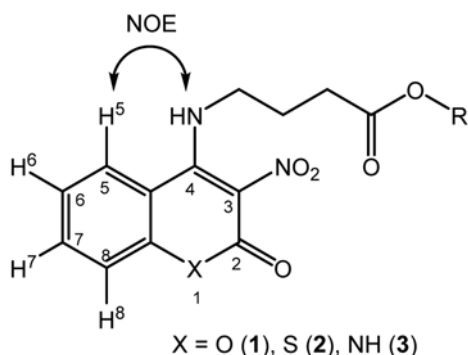
соли ТВВАВ [7]. Целевой продукт получается с выходом 71 % (схема 3).

Для взаимодействия 3-нитро-4-хлорхинолин-2-она **15** с производными аминокислот в качестве растворителя был выбран пиридин вследствие низкой растворимости исходных веществ в других растворителях. Взаимодействие соединения **15** с эфиром ГАМК осуществлялось при кипячении в пиридине в течение 2 ч. Метилловый эфир *N*-(3-нитрохинолин-2-он-4-ил)-4-аминомасляной кислоты **3a** выделен с высоким выходом. В то же время в указанных условиях реакцию с самой ГАМК провести не удалось. *N*-(3-Нитрохинолин-2-он-4-ил)-4-аминомасляная кислота **3b** получена омылением эфира **3a** действием щелочи в водном метаноле.

Строение всех полученных в работе соединений подтверждено данными спектров ЯМР <sup>1</sup>H. При сопоставлении спектров *N*-замещенных 4-амино-3-нитрокумаринов, полученных ранее (**1**) [1], 4-амино-3-нитро-

1-тиокумаринов (**2**) и 4-амино-3-нитрохинолин-2-онов (**3**) были выявлены следующие закономерности влияния изменения гетероатома на химические сдвиги протонов в ароматической системе в спектрах ЯМР <sup>1</sup>H (схема 4). Сигналы протонов H<sup>5</sup>-H<sup>8</sup> производных хинолин-2-онов **3** находятся в более сильном поле относительно соответствующих сигналов в кумаринах **1** и тиокумаринов **2** (разница в химических сдвигах составляет 0,06 – 0,4 м.д.), что может быть объяснено меньшим общим дезэкранирующим эффектом NH-группы по сравнению с атомами O и S. Для всех гетероциклов в самом слабом поле (8,20 – 8,40 м.д.) располагается дублет протона H(5), дезэкранированный за счет стерически близко расположенной NH-группы аминокислотного фрагмента. Протоны H(5) и NH имеют характеристическую корреляцию в спектре NOESY. В ароматических системах кумаринов **1** и хинолонов **3** в наиболее сильном поле находятся протоны H(6) и H(8) (7,41 – 7,45 и 7,24 – 7,28 м.д., соответственно), расположенные в *орто*- и *пара*-положениях относительно гетероатома, экранирующего их. Протон H(7) в этих гетероциклах смещен примерно на 0,3 м.д. в более слабое поле относительно H(6) и H(8), так как располагается в *мета*-положении относительно гетероатома. В то же время для тиокумариновой системы **2** протоны H(6), H(7) и H(8) имеют приблизительно один и тот же химический сдвиг (7,58 – 7,68 м.д.), что может быть объяснено меньшим электронным влиянием атома серы на химические сдвиги протонов гетероцикла вследствие его большего размера.

ЯМР <sup>1</sup>H спектры регистрировали на спектрометрах Bruker AC-250 (Германия) и Bruker Fourier 300 в растворах DMSO-d<sub>6</sub> и CDCl<sub>3</sub>, используя в качестве внутреннего стандарта сигналы остаточных протонов рас-



**Схема 4.** Нумерация в гетероциклах и характеристическая корреляция NOE в спектрах ЯМР.

творителей ( $\delta$  2,50 и 7,25 м.д. соответственно). Температуры плавления определяли в открытых капиллярах с использованием прибора OptiMelt и не корректировали. Контроль за ходом реакций и индивидуальностью полученных веществ осуществляли методом ТСХ с использованием различных хроматографических систем на пластинках Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, с обнаружением в УФ-свете. Используемые растворители очищали и сушили стандартными методами.

#### 4-Гидрокси-1-тиокумарин (5).

**Метод А.** Получение 4-гидрокси-1-тиокумарина **5** из тиофенола **4** и малоновой кислоты **6** напрямую описано в [2].

К суспензии 0,122 моль (13 г) малоновой кислоты (**6**) и 0,122 моль (12,5 мл) тиофенола (**4**) последовательно добавляют 0,366 моль (48,7 г) хлорида алюминия и 0,366 моль (34,85 мл) фосфорилхлорида. Реакционную массу нагревают до 70 °С при перемешивании в течение 30 ч. К реакционной массе добавляют 500 г льда, 500 мл этилацетата, экстрагируют органический слой и трижды промывают его 100 мл воды. Органический раствор трижды экстрагируют 300 мл 10 % раствора гидроксида натрия. Водную фазу подкисляют 10 % раствором соляной кислоты до выпадения осадка (рН = 4). Осадок растворяют в 20 мл этилацетата и промывают 20 мл дистиллированной воды. Органический раствор отфильтровывают через бумажный фильтр, упаривают досуха, остаток перекристаллизовывают из 45 мл этанола, получая 5,36 г (19 %) продукта в виде серого порошка.  $T_{\text{пл}}$  211 – 212 °С (Лит.:  $T_{\text{пл}} = 210$  °С [2]). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (DMSO,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 6,07 (с, 1 Н, НС(3)); 7,48 (м, 2 Н, НС(6), НС(8)); 7,60 (м, 1 Н, НС(7)); 8,13 (д, 1 Н, НС(5), <sup>3</sup>J 8,1); 12,26 (уш. с, 1 Н, ОН).

**Метод Б.** Получение 4-гидрокси-1-тиокумарина **5** из тиофенола **4** и малоновой кислоты **6** через дитиофениловый эфир малоновой кислоты **7**.

#### Дитиофениловый эфир малоновой кислоты (7).

Смесь 75 ммоль (7,81 г) малоновой кислоты **6**, 80 ммоль (12,27 г, 7,46 мл) фосфорилхлорида и 150 ммоль (16,52 г, 15,35 мл) тиофенола **4** кипятят на масляной бане в течение 40 мин. К охлажденной смеси добавляют 80 мл этанола. Образовавшийся осадок отфильтровывают и промывают 50 мл этанола, получая бледно-голубой порошок. После перекристаллизации из 30 мл этанола получают 17,9 г белого кристаллического вещества (выход 82 %).  $T_{\text{пл}}$  94 – 95 °С. (Лит.:  $T_{\text{пл}}$  94,6 – 95,3 °С [8]). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (DMSO,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 4,33 (с, 2 Н, СН<sub>2</sub>); 7,36 – 7,54 (м, 10 Н, 2 Ph).

**4-Гидрокси-1-тиокумарин (5).** К 20 ммоль (5,76 г) дитиофенилового эфира малоновой кислоты **7** добавляют 60 ммоль (8,00 г) хлорида алюминия и 40 ммоль (2,34 г) хлорида натрия и тщательно перемешивают. Смесь нагревают до 195 °С и температуру поддерживают в течение 25 мин. После охлаждения в реакционную массу вливают 100 мл 1 % соляной кислоты и 100 мл этилацетата. Органический слой отделяют, продукт экстрагируют 100 мл 10 % раствора гидроксида натрия. Водный раствор отделяют и подкисляют до

рН = 4, выпавший осадок отфильтровывают и дважды промывают 20 мл дистиллированной воды, получая 1,85 г серого порошка (выход 73 %). Характеристики продукта соответствуют веществу, полученному при помощи метода А.

**4-Гидрокси-3-нитро-1-тиокумарин (8)** [3]. К суспензии 18 ммоль (3,21 г) **5** в 80 мл ледяной уксусной кислоты добавляют смесь 19,8 ммоль (1,4 мл) 65 % азотной кислоты и 19,8 ммоль (1,14 мл) 96 % серной кислоты. Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 3 ч. Выпавший осадок отфильтровывают, дважды промывают 10 мл дистиллированной воды, растворяют при кипячении в толуоле, пропускают горячий раствор через активированный уголь и упаривают досуха, получая 3,78 г продукта в виде желтого порошка (выход 92 %).  $T_{\text{пл}}$  149 – 152 °С (Лит.:  $T_{\text{пл}}$  142 – 143 °С [3]). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (DMSO,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 7,38 (м, 2 Н, НС(6), НС(8)); 7,44 (т, 1 Н, НС(7), <sup>3</sup>J = 8,1); 8,17 (д, 1 Н, НС(5), <sup>3</sup>J = 8,1).

**3-Нитро-4-хлор-1-тиокумарин (9)** [3]. Растворяют 4 ммоль (0,373 мл) фосфорилхлорида в 2,5 мл диметилформамида и перемешивают в течение 30 мин. К раствору добавляют 4 ммоль (0,89 г) 4-гидрокси-3-нитро-1-тиокумарина (**8**) в 9,6 мл диметилформамида, и полученную смесь перемешивают 2 ч. К реакционной смеси добавляют 40 мл холодной воды, выпавший осадок отфильтровывают, трижды промывают 10 мл дистиллированной воды и перекристаллизовывают из 10 мл этанола, получая 0,85 г темно-желтых кристаллов (выход 88 %).  $T_{\text{пл}}$  171 – 173 °С (Лит.:  $T_{\text{пл}}$  176 – 177 °С [3]). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (DMSO,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 7,77, 7,89, 7,94 (три м, по 1 Н, НС(6), НС(7), НС(8)); 8,38 (д, 1 Н, НС(5), <sup>2</sup>J = 8,1).

#### N-(3-Нитро-1-тиокумарин-4-ил)-4-аминомасляная кислота (2a).

**Метод А.** К раствору 10 ммоль (2,42 г) 3-нитро-4-хлор-1-тиокумарина **9** в 20 мл диоксана добавляют 22 ммоль (2,27 г) ГАМК. Реакционную массу кипятят в течение 120 мин, после чего охлаждают. Получившийся осадок отфильтровывают, промывают 10 мл диоксана, трижды дистиллированной водой по 10 мл. Полученное вещество перекристаллизовывают из этанола. Получают **2a** с выходом 60 %.

**Метод Б.** К раствору 10 ммоль (2,42 г) **9** в 200 мл этанола добавляют 10 ммоль (1,03 г) ГАМК и 11 ммоль (1,11 г) триэтиламина. Реакционную массу кипятят в течение 180 мин, после чего упаривают досуха. Остаток промывают трижды дистиллированной водой по 50 мл и перекристаллизовывают из этанола. Получают **2a** с выходом 74 %.

Соединение **2a** представляет собой желтый порошок.  $T_{\text{пл}}$  215 – 216 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (DMSO,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 1,90 (м, 2 Н, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2,30 (т, 2 Н, CH<sub>2</sub>COOH, <sup>3</sup>J = 7,1); 3,18 (м, 2 Н, NHCH<sub>2</sub>); 7,62 (м, 3 Н, НС(6), НС(7), НС(8)); 8,40 (д, 1 Н, НС(5), <sup>3</sup>J = 8,1); 8,43 (уш. с, 1 Н, NH); 12,21 (уш. с, 1 Н, COOH). C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S.

**Метилловый эфир N-(3-нитро-1-тиокумарин-4-ил)-4-аминомасляная кислота (2b).** К раствору 10 ммоль

(2,42 г) **9** в 80 мл толуола при перемешивании добавляют тщательно перемешенную смесь раствора 10 ммоль (1,54 г) хлоргидрата метилового эфира ГАМК в 8 мл воды и 20 ммоль (2,02 г) триэтиламина. Смесь перемешивают при комнатной температуре 30 мин. Отфильтровывают выпавший осадок, промывают 50 мл 1 % HCl и 100 мл дистиллированной воды и просушивают на фильтре. Выход 77 %. Светло-желтый порошок.  $T_{\text{пл}}$  125 – 126 °С. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 1,92 (т, 2 H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2$ ,  $^3J_1 = ^3J_2 = 7,1$ ); 2,38 (т, 2 H,  $\text{CH}_2\text{COOH}$ ,  $^3J = 7,1$ ); 3,19 (м, 2 H,  $\text{NHCH}_2$ ); 3,55 (с, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 7,58 (т, 1 H, H(6),  $^3J = 8,0$ ); 7,64 (м, 1 H, HC(6)); 7,68 (м, 1 H, HC(8)); 8,40 (д, 1 H, HC(5),  $^3J = 8,5$ ); 8,36 (уш. с, 1 H, NH).  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ .

**бис-Анилид малоновой кислоты (12)** [4]. Смесь 200 ммоль (18,64 г) анилина (**10**) и 100 ммоль (16,02 г) диэтилового эфира малоновой кислоты (**11**) нагревают при температуре 210 °С в течение 5 ч. После охлаждения реакционной смеси образующийся осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола, получая 19,3 г белого порошка (выход 76 %).  $T_{\text{пл}}$  227 – 229 °С (лит.:  $T_{\text{пл}}$  226 – 227 °С [4]). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 3,48 (с, 2 H,  $\text{CH}_2$ ); 7,07 (дд, 2 H, 2 H(4),  $^3J_1 = 7,6$ ,  $^3J_2 = 7,4$ ); 7,32 (дд, 4 H, 2 H(3), 2 H(5),  $^3J_1 = 7,6$ ,  $^3J_2 = 8,1$ ); 7,60 (д, 4 H, 2 H(2), 2 H(6),  $^3J = 8,1$ ), 10,17 (с, 2 H, 2 NH).

**4-Гидроксихинолин-2(1H)-он (13)** [4]. Смесь 50 ммоль (12,72 г) бис-анилида малоновой кислоты (**12**) и 80 г полифосфорной кислоты нагревают при температуре 150 °С в течение 5 ч и выливают в 400 г льда. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой до нейтральной реакции и сушат, получая 5,88 г бледно-желтого порошка (выход 73 %).  $T_{\text{пл}} > 300$  °С (лит.:  $T_{\text{пл}} > 300$  °С [4]). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 5,74 (с, 1 H, HC(3)); 7,13 (дд, 1 H, H(6),  $^3J_1 = 8,0$ ,  $^3J_2 = 7,1$ ); 7,27 (д, 1 H, H(8),  $^3J = 8,0$ ); 7,48 (дд, 1 H, H(7),  $^3J_1 = 8,0$ ,  $^3J_2 = 7,1$ ); 7,77 (д, 1 H, H(5),  $^3J = 8,0$ ); 11,96 (с, 1 H, NH).

**4-Гидрокси-3-нитрохинолин-2(1H)-он (14)** [7]. Суспензию 20 ммоль (3,22 г) 4-гидроксихинолин-2(1H)-она (**13**) в 30 мл азотной кислоты ( $d = 1,33$  г/мл) перемешивают при комнатной температуре в течение 10 мин и при температуре 75 °С в течение 20 мин. Полученный раствор выливают в 150 мл ледяной воды. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой до нейтральной среды и сушат, получая 3,83 г оранжевого порошка (выход 93 %).  $T_{\text{пл}}$  243 – 245 °С (лит.:  $T_{\text{пл}}$  250 °С [7]). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 7,27 (м, 2 H, H(6), H(8)); 7,65 (м, 1 H, H(7)); 8,02 (д, 1 H, H(5),  $^3J = 7,6$ ); 11,96 (с, 1 H, NH).

**3-Нитро-4-хлорхинолин-2(1H)-он (15)** [7]. К раствору 60 ммоль (21,38 г) бромид три-*n*-бутилбензиламмония в 60 мл ацетонитрила добавляют 15 ммоль (3,09 г) 4-гидрокси-3-нитрохинолин-2(1H)-она (**14**) и 36 ммоль (5,52 г) фосфорилхлорида. Смесь перемешивают при температуре 40 °С в течение 30 мин, после чего кипятят с обратным холодильником в течение 22 мин и упаривают досуха. К остатку приливают

60 мл воды и перемешивают смесь при комнатной температуре в течение 3 ч. Образовавшийся осадок отфильтровывают, промывают водой до нейтральной реакции и перекристаллизовывают из 20 мл ацетона, получая 2,02 г желтого порошка (выход 60 %).  $T_{\text{пл}}$  231 – 233 °С. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 7,46 (м, 2 H, H(6), H(8)); 7,80 (м, 1 H, H(7)); 8,01 (д, 1 H, H(5),  $^3J = 7,9$ ); 11,03 (с, 1 H, NH).

**Метилловый эфир N-(3-нитро-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-4-ил)-4-аминомасляной кислоты (3a)**. К раствору 1,25 ммоль (0,28 г) 3-нитро-4-хлорхинолин-2(1H)-она (**15**) в 10 мл пиридина добавляют 5 ммоль (0,77 г) хлоргидрата метилового эфира 4-аминомасляной кислоты. Реакционную массу кипятят с обратным холодильником в течение 2 ч. Растворитель упаривают досуха, к остатку добавляют 15 мл воды, и продукт дважды экстрагируют 15 мл дихлорметана. Органический слой упаривают досуха, и остаток перекристаллизовывают из этанола, получая 0,20 г темно-желтого порошка (выход 63 %).  $T_{\text{пл}}$  208 – 210 °С. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 1,98 (м, 2 H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2$ ); 2,36 (т, 2 H,  $\text{CH}_2\text{COOH}$ ,  $^3J = 7,1$ ); 3,11 (м, 2 H,  $\text{NHCH}_2$ ); 3,55 (с, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ); 7,24 (т, 1 H, H(6),  $^3J = 7,6$ ); 7,28 (д, 1 H, H(8),  $^3J = 7,6$ ); 7,42 (т, 1 H,  $\text{NHCH}_2$ ,  $^3J = 4,3$ ); 7,58 (т, 1 H, HC(7),  $^3J = 7,5$ ); 8,20 (д, 1 H, HC(5),  $^3J = 8,2$ ); 11,53 (уш. с, 1 H, NH(хинолина)).  $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_5$ .

**N-(3-Нитро-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-4-ил)-4-аминомасляная кислота (3b)**. Смесь 0,66 ммоль (0,2 г) метилового эфира *N*-(3-нитро-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-4-ил)-4-аминомасляной кислоты (**3a**), 1,3 ммоль (52 мг) гидроксида натрия, 20 мл воды и 20 мл метанола кипятят с обратным холодильником в течение 40 мин, охлаждают до комнатной температуры, подкисляют 1 % соляной кислотой до кислой реакции, выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой и сушат, получая 0,12 г темно-желтого порошка, выход 64 %.  $T_{\text{пл}}$  119 – 120 °С. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 1,85 (м, 2 H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2$ ); 2,28 (т, 2 H,  $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$ ,  $^3J = 7,2$ ); 3,08 (м, 2 H,  $\text{NHCH}_2$ ); 7,24 (м, 1 H, HC(6)); 7,27 (д, 1 H, H(8),  $^3J = 7,6$ ); 7,43 (м, 1 H,  $\text{NHCH}_2$ ); 7,58 (м, 1 H, HC(7)); 8,21 (д, 1 H, HC(5),  $^3J = 8,2$ ); 11,53 (уш. с, 1 H, NH(хинолина)), 12,16 (уш. с, 1 H, COOH).  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_5$ .

### Экспериментальная фармакологическая часть

Для оценки противосудорожной активности синтезированных соединений использовали две экспериментальные модели: методику максимального электрошока (МЭШ) и тест антагонизма с коразолом на мышцах. Методика МЭШ моделирует первично-генерализованные судороги — так называемые “большие” (Grantmal) судорожные припадки [9, 10].

Коразол является антагонистом ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов, при его введении моделируются первично-генерализованные судороги при “малых” (Petit mal) судорожных припадках [9, 11].

Эксперименты проводили на белых беспородных мышах-самцах массой 20 – 26 г. Экспериментальных животных получали из питомника “Столбовая” ГУ НЦБМТ (Московская область). Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) и нормативным документам “Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию вивариев”, утвержденным Главным государственным санитарным врачом 06.04.1973 г. № 1045-73 и Приказом МЗ и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н “Об утверждении Правил лабораторной практики”.

### Противосудорожное действие производных тиюкумарина и хинолинона на модели первично-генерализованных судорог, вызванных МЭШ

Каждую дозу соединения исследовали на 8 – 10 животных. Максимальный электросудорожный припадок (МЭШ) создавали с использованием сертифицированной установки “RodentShockerRS”, type 221 (HarvardApparatus, GmbH, Германия). Животные через специальные корнеальные электроды получали электрические стимулы (режим 500/300 V/mA: 144 mA, длительностью 0,3 с). Регистрировали следующие показатели: тоническую экстензию задних и передних конечностей и гибель животных. Противосудорожный эффект заявляемых соединений оценивали по способности предупреждать развитие тонической экстензии и гибель животных. Соединения вводили внутривентриально за 40 мин до проведения МЭШ [9, 10, 12].

Таблица 1

#### Противосудорожная активность производных тиюкумарина и хинолинона в тесте МЭШ на мышах

Группа	Доза, мг/кг	Количество животных в группе	Процент животных с тонической экстензией	Процент выживших животных
Контроль, МЭШ	-	8	87,5	25
Соединение <b>2a</b> + МЭШ	120	8	50	38
	60	8	50	38
	40	8	75	63
	20	8	63	50
	10	8	75	25
Соединение <b>2b</b> + МЭШ	60	8	88	25
	40	8	100	0
	20	8	100	25
	10	8	88	25
Контроль, МЭШ	-	10	90	20
Соединение <b>3a</b> + МЭШ	50	8	100	0
	25	8	100	13
	12,5	8	50	63

\* Достоверность различий значений между группами определяли с помощью точного критерия Фишера.

### Противосудорожное действие производных тиюкумарина и хинолинона на модели первично-генерализованных судорог, вызванных коразолом

Каждую дозу соединения исследовали на 8 – 10 животных. Коразол (пентилентетразол) использовался компании Sigma-Aldrich (США). Опытным группам животных внутривентриально вводили исследуемые вещества, растворенные в физиологическом растворе, за 40 мин до коразола. Контрольным животным внутривентриально вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. Для получения судорожного припадка животным подкожно в область шейного отдела спины вводили коразол в дозе 100 мг/кг, вызывающей судороги у 97 % мышей. Животные наблюдались в течение 30 – 60 мин после инъекции коразола. Регистрировали число погибших животных [9, 11].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью MS Excel 2010 и BioStat 2009 (Analyst Soft Inc.). Нормальность распределения данных определяли по критерию Шапиро — Уилка. Достоверность различий значений между группами определяли с помощью непараметрических критериев Крускала — Уолиса и точного критерия Фишера.

#### Результаты и их обсуждение

В контрольных опытах установлено, что МЭШ вызывал тоническую экстензию и гибель 75 – 80 % мышей.

Соединение **2a** изменяло кривую выживаемости, зависимость от дозы была куполообразной. Так, в дозах 20 и 40 мг/кг соединение **2a** способствовало устранению тонической экстензии и увеличивало выживаемость мышей до 50 и 63 % соответственно, тогда как в диапазоне доз от 60 до 120 мг/кг эффективность соединения **2a** снижалась по показателю выживаемость до 38 % (табл. 1). Соединение **2b** в дозах от 10 до 60 мг/кг не оказывало существенного влияния на судороги и показатель выживаемости в тесте антагонизма

Таблица 2

#### Противосудорожное действие производных тиюкумарина и хинолинона в тесте антагонизма с коразолом на мышах

Соединение	Доза, мг/кг	Число животных в группе	Выжившие животные, %
Коразол	100	10	0
<b>2a</b>	40	8	25
	20	8	38
	10	8	50 <sup>#</sup>
<b>2b</b>	40	8	38
	20	8	38
	10	8	50 <sup>#</sup>
<b>3a</b>	50	8	0
	25	6	17
	12,5	9	56*

\* Значимость отличий от контрольной группы при  $p < 0,05$  (точный критерий Фишера);

<sup>#</sup> тенденция к достоверности отличий от контрольной группы при  $p < 0,08$  (точный критерий Фишера).

с МЭШ. Соединение **3a** в дозе 12,5 мг/кг увеличивало показатель выживаемости по отношению к контролю до 63 % и уменьшало процент животных с тонической экстензией до 50 %, но с повышением дозы до 25 и 50 мг/кг его противосудорожный эффект не регистрировался (табл. 1).

Таким образом, соединения **2a** и **3a** продемонстрировали активность в тесте с МЭШ в дозах 40 и 12,5 мг/кг, соответственно, на уровне тенденции.

При анализе противосудорожной активности синтезированных соединений в тесте антагонизма с коразолом у контрольных животных установлено, что после введения коразола в дозе 100 мг/кг судорожные проявления развивались в следующей последовательности. 1. Одно или более миоклонических подергиваний всего тела — у 100 % мышей. 2. Повторяющиеся клонические судороги передних и/или задних конечностей длительностью более чем 3 с без потери рефлекса переворачивания — у 100 % мышей. 3. Генерализованные клонические судороги передних и задних конечностей с утратой рефлекса переворачивания — у 90 % мышей. 4. Гибель животных составляла 100 %.

Соединения **2a** и **2b** проявили максимальное противосудорожное действие в дозе 10 мг/кг, увеличивая выживаемость мышей максимально до 50 %. Соединение **3a** проявило противосудорожную активность в дозе 12,5 мг/кг, увеличивая выживаемость мышей до 56 % (табл. 2). С увеличением доз активность соединений снижалась.

Анализ взаимосвязи структура — действие в ряду синтезированных соединений и ранее полученных производных кумарина [1] свидетельствует о том, что активность веществ существенно зависит от гетероатома в кумариновом цикле. Так, при переходе от кислородсодержащего гетероцикла к серосодержащему, с сохранением ГАМК-функции, активность соответствующих соединений (**2a** и **2b**) в тесте МЭШ снижалась и сохранялась лишь на уровне тенденции, в то время как в тесте антагонизма с коразолом была выше. При переходе к азотсодержащему гетероциклу, содер-

жащему в качестве аминокислотного фармакофора метиловый эфир ГАМК, активность соответствующего соединения (**3a**) в тесте МЭШ была выражена приблизительно на том же уровне, что и у аналогичных О- и S-производных, однако в тесте антагонизма с коразолом была существенно более выраженной.

Таким образом, синтезированы новые тиокумарины и хинолин-2-оны, обладающие противосудорожным эффектом. Выявлено влияние гетероатома в ароматической части молекулы на активность соответствующих соединений. Наибольшей эффективностью обладало соединение **3a**, которое в дозе 12,5 мг/кг (внутрибрюшинно) препятствовало развитию судорог и гибели животных как в тесте МЭШ, так и в тесте антагонизма с коразолом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Г. В. Мокров, В. Л. Савельев, Т. А. Воронина и др., *Хим.-фарм. журн.*, **53**(2), 25 – 31 (2019).
2. P. Jamkhandi, S. Rajagopal, *Monatsh. Chem.*, **94**, 1271 (1963).
3. В. Л. Савельев, Т. Г. Афанасьева, В. А. Загоревский, *Химия гетероцикл. соедин.*, **1**, 43 – 47 (1978).
4. N. Shobana, P. Yeshoda, P. Shanmugam, *Tetrahedron*, **45**(3), 757 – 762 (1989).
5. M. Z. Subramanian, P. S. Mohan, P. Shanmugam, K. J. Rajendra Prasad, *Naturforsch., B: Chem. Sci.*, **47**(7), 1016 – 1020 (1992).
6. M. D. Ferretti, A. T. Neto, A. F. Morel, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **81**, 253 – 266 (2014).
7. V. Dolle, E. Fan, C. H. Nguyen, et al., *J. Med. Chem.*, **38**(23), 4679 – 4686 (1995).
8. K. Matsuo, M. Shindo, *Org. Lett.*, **13**(16), 4406 – 4409 (2011).
9. Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова, *Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологических веществ “Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств”*, Часть 1, ФГБУ “НЦЭМСП”, Гриф и К, Москва (2012), сс. 235 – 250.
10. W. Löscher, C. P. Fassbender, B. Nolting, *Epilepsy Res.*, **8**(2), 79 – 94 (1991).
11. W. Löscher, D. Hönack, C. P. Fassbender, B. Nolting, *Epilepsy Res.*, **8**, 171 – 189 (1991).
12. E. A. Swinyard, *Epilepsia*, **10**, 107 – 119 (1969).

Поступила 16.04.18

## SYNTHESIS AND ANTICONVULSANT ACTIVITY OF 4-AMINO-3-NITRO-1-THIOCOUMARINS AND 4-AMINO-3-NITROQUINOLIN-2-ONES

G. V. Mokrov, T. A. Voronina, S. A. Litvinova, I. G. Kovalev, L. N. Nerobkova, A. D. Durnev, T. A. Gudasheva, and S. B. Seredenin

V. V. Zakusov State Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 125315 Russia

The synthesis and results of investigation of the anticonvulsant activity of original compounds belonging to thiocoumarin and quinolin-2-one derivatives are presented. The analysis of the structure – activity relationship in the series of synthesized compounds and previously obtained coumarin derivatives was carried out. *N*-(3-nitro-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-4-yl)-4-aminobutyric acid (compound **3a**) in a dose of 12,5 mg/kg (i.p.) showed the maximum anticonvulsant activity in experiments on mice.

**Keywords:** thiocoumarins; quinolin-2-ones; anticonvulsant activity; maximal electroshock test; corazol antagonism test.