

К. В. Андруков*, И. П. Рудакова, Л. М. Коркодинова, Е. В. Зверева

СИНТЕЗ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АМИДОВ И ГИДРАЗИДОВ *N*-АРОИЛЗАМЕЩЕННЫХ МОНО(ДИ)ГАЛОГЕН-АНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ

ФГБОУ ВО "Пермская государственная фармацевтическая академия" Минздрава РФ, Россия, 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2.

* e-mail: k_andrukov@mail.ru

Осуществлен синтез новых амидов и гидразидов *N*-ароилзамещенных моно(ди)галогенантраниловых кислот (**I–XII**) реакцией амидирования 6-бром-, 6-йод- (6,8-дихлор-, 6,8-дибром-)-2-замещенных-3,1-бензоксазин-4(3*H*)-онов, с соответствующими 4-метилфенил-, бензил- и бутиламинами и гидразином. Проведена оценка противовоспалительной активности ряда синтезированных соединений. Активными являются соединения, содержащие в амидной группе заместители: 4-метилфенил, бутил и бензил, значения процента торможения каррагенинового отека реакции воспаления находятся в интервале от 45,8 % до 76,9 %. Установлено, что данный класс соединений является перспективным для дальнейшего поиска биологически активных веществ с противовоспалительной активностью.

Ключевые слова: антраниловая кислота; амид; реакция амидирования; противовоспалительная активность

Антраниловая кислота является составной частью многих биологически активных соединений, которые проявляют широкий спектр биологической активности. В частности, ядро антраниловой кислоты является биохимическим предшественником и метаболитом [1] аминокислоты триптофан и ее производных [2]. Нарушение метаболизма триптофана может явиться причиной изменения нормального физиологического состояния организма человека и животных, приводящего к болезни Альцгеймера [3].

Производные антраниловой кислоты относятся к одному из перспективных классов биологически активных веществ, обладают широким спектром биологической активности: анальгетической [4], антибактериальной [5, 6] и противовоспалительной [7]. В связи с этим дальнейшее исследование фармакологической активности таких соединений является актуальным.

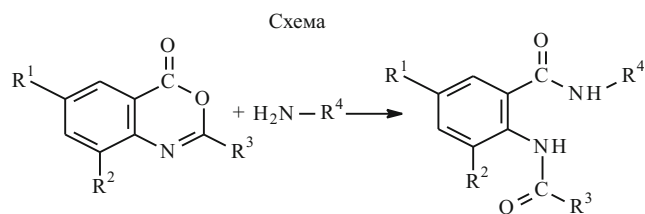
В данной работе представлен синтез новых амидов и гидразидов *N*-ароилзамещенных моно(ди)галогенантраниловых кислот (**I–XII**) реакцией амидирования по известной методике [8], а также результаты изучения противовоспалительной активности (ПВА) вновь полученных амидов (**I–X**).

Осуществлен синтез 12 новых амидов и гидразидов *N*-ароилзамещенных моно(ди)галогенантраниловых кислот реакцией 6-бром-, 6-йод- (6,8-дихлор-, 6,8-дибром-)-2-замещенных-3,1-бензоксазин-4(3*H*)-онов, с соответствующими 4-метилфенил-, бензил- и бутиламинами и гидразином при нагревании до температуры 120 °С в смеси ДМСО и ледяная уксусная кислота (1:1), получали замещенные амиды и гидразиды *N*-ароил-5-бром-(5-йод-, 3,5-дибром-, 3,5-дихлор-)антраниловых кислот (**I–XII**) [8] (схема).

Экспериментальная химическая часть

ИК-спектры соединений записаны на спектрофотометре Spesord M-80 в таблетках с КВг. ¹H ЯМР-спектры были зарегистрированы на спектрометре Bruker 300 (рабочая частота 300 МГц) в растворе ДМСО-*d*₆, внутренний стандарт — тетраметилсилан (ТМС). Элементный анализ проведен на приборе Elmer 2400. Данные элементного анализа соответствуют вычисленным значениям. Масс-спектры получены в режиме ESI⁺ методом ультра-ВЭЖХ-МС на приборе Waters ACQUITY UPLC I-Class, колонка Acquity UPLC VEN C₁₈ 1,7 мкм, подвижные фазы — ацетонитрил — вода, скорость потока 0,6 мл/мин, масс-детектор Xevo TQD, УФ-детектор ACQUITY UPLC PDA el Detector.

4-Метилфениламид *N*-бензоил-3,5-дихлорантраниловой кислоты (I**) (общая методика).** К смеси 0,002 моль 6,8-дихлор-2-фенил-3,1-бензоксазин-4(3*H*)-



- R¹ = Cl, R² = Cl, R³ = C₆H₅, R⁴ = 4-CH₃C₆H₄ (**I**);
- R¹ = Cl, R² = Cl, R³ = C₆H₅, R⁴ = CH₂C₆H₅ (**II**);
- R¹ = Br, R² = H, R³ = C₆H₅, R⁴ = 4-CH₃C₆H₄ (**III**);
- R¹ = Br, R² = Br, R³ = C₆H₅, R⁴ = CH₂C₆H₅ (**IV**);
- R¹ = Br, R² = Br, R³ = C₆H₅, R⁴ = 4-CH₃C₆H₄ (**V**);
- R¹ = I, R² = H, R³ = C₆H₅, R⁴ = 4-CH₃C₆H₄ (**VI**);
- R¹ = Cl, R² = Cl, R³ = 4-CH₃C₆H₄, R⁴ = 4-CH₃C₆H₄ (**VII**);
- R¹ = Cl, R² = Cl, R³ = 4-CH₃C₆H₄, R⁴ = CH₂CH₂CH₂CH₃ (**VIII**);
- R¹ = Cl, R² = Cl, R³ = 4-CH₃C₆H₄, R⁴ = CH₂C₆H₅ (**IX**);
- R¹ = Br, R² = H, R³ = 2-фурил, R⁴ = 4-CH₃C₆H₄ (**X**);
- R¹ = Br, R² = Br, R³ = C₆H₅, R⁴ = NH₂ (**XI**);
- R¹ = Cl, R² = Cl, R³ = 4-CH₃C₆H₄, R⁴ = NH₂ (**XII**).

она и 0,003 моль *para*-толуидина добавляют 4 мл ДМСО и 4 мл ледяной уксусной кислоты, нагревают до температуры 120 °С, затем смесь охлаждают до комнатной температуры, выпавший осадок отфильтровывают, высушивают и перекристаллизовывают из смеси этилацетат — этанол (1:1) [8]. Выход: 0,60 г (76 %). Белые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 244–246 °С (EtOAc — EtOH, 1:1). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3232, 3104 (N-H), 1644, 1624 (C=O). ^1H ЯМР-спектр (δ , м.д.): 2,18 (с, 3H, CH_3), 6,94–7,79 (м, 11H, $\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2$, C_6H_5 , C_6H_4), 10,09 (с, 1H, CONH), 10,11 (с, 1H, NHCO). Масс-спектр (ESI^+): m/z 398,90 (M + H⁺). $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$.

Соединения II–XII получали аналогично соединению I.

Бензиламид *N*-бензоил-3,5-дихлорантраниловой кислоты (II). Выход: 0,68 г (86 %). Белые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 212–214 °С (EtOAc — EtOH, 1:1). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3272, 3104 (N-H), 1752, 1704, 1656 (C=O). ^1H ЯМР-спектр (δ , м.д.): 4,29 (д, 2H, CH_2 , J 4,7 Гц), 7,10–7,89 (м, 12H, $\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2$, $2\text{C}_6\text{H}_5$), 8,79 (с, 1H, CONH), 10,03 (с, 1H, NHCO). Масс-спектр (ESI^+): m/z 398,85 (M + H⁺). $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$.

4-Метилфениламид *N*-бензоил-5-бромантраниловой кислоты (III). Выход: 0,71 г (87 %). Белые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 236–238 °С (EtOAc — EtOH, 1:1). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3344, 3268 (N-H), 1660, 1632 (C=O). ^1H ЯМР-спектр (δ , м.д.): 2,35 (с, 3H, CH_3), 7,10–8,40 (м, 12H, $\text{C}_6\text{H}_3\text{Br}$, C_6H_5 , C_6H_4), 8,49 (с, 1H, CONH), 11,50 (с, 1H, NHCO). Масс-спектр (ESI^+): m/z 410,9 (M + H⁺). $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{BrN}_2\text{O}_2$.

Бензиламид *N*-бензоил-3,5-дибромантраниловой кислоты (IV). Выход: 0,59 г (61 %). Белые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 218–220 °С (EtOAc — EtOH, 1:1). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3344, 3264 (N-H), 1640, 1626 (C=O). ^1H ЯМР-спектр (δ , м.д.): 4,30 (д, 2H, CH_2 , J 4,7 Гц), 7,10–8,00 (м, 12H, $\text{C}_6\text{H}_2\text{Br}_2$, $2\text{C}_6\text{H}_5$), 8,77 (с, 1H, CONH), 10,03 (с, 1H, NHCO). Масс-спектр (ESI^+): m/z 488,75 (M + H⁺). $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$.

4-Метилфениламид *N*-бензоил-3,5-дибромантраниловой кислоты (V). Выход: 0,84 г (87 %). Белые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 239–241 °С (EtOAc — EtOH, 1:1). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3304, 3232 (N-H), 1648, 1628 (C=O). ^1H ЯМР-спектр (δ , м.д.): 2,24 (с, 3H, CH_3), 6,90–7,82 (м, 11H, $\text{C}_6\text{H}_2\text{Br}_2$, C_6H_5 , C_6H_4), 7,90 (с, 1H, CONH), 9,90 (с, 1H, NHCO). Масс-спектр (ESI^+): m/z 488,78 (M + H⁺). $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$.

4-Метилфениламид *N*-бензоил-5-йодантраниловой кислоты (VI). Выход: 0,72 г (80 %). Белые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 236–238 °С (EtOAc — EtOH, 1:1). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3330 (N-H), 1670, 1630, 1615 (C=O). ^1H ЯМР-спектр (δ , м.д.): 2,35 (с, 3H, CH_3), 7,10–8,30 (м, 12H, $\text{C}_6\text{H}_3\text{I}$, C_6H_5 , C_6H_4), 8,40 (с, 1H, CONH), 11,50 (с, 1H, NHCO). Масс-спектр (ESI^+): m/z 456,86 (M + H⁺). $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{IN}_2\text{O}_2$.

4'-Метилфениламид *N*-(4'-метилбензоил)-3,5-дихлорантраниловой кислоты (VII). Выход: 0,66 г (81 %). Белые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 234–236 °С (EtOAc — EtOH, 1:1). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3320, 3232 (N-H), 1648, 1628 (C=O). ^1H ЯМР-спектр (δ , м.д.): 2,21 (с, 3H,

CH_3), 2,33 (с, 3H, CH_3), 6,96–7,79 (м, 10H, $\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2$, $2\text{C}_6\text{H}_4$), 9,97 (с, 1H, CONH), 10,13 (с, 1H, NHCO). Масс-спектр (ESI^+): m/z 412,89 (M + H⁺). $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$.

Бутиламид *N*-(4'-метилбензоил)-3,5-дихлорантраниловой кислоты (VIII). Выход: 0,56 г (74 %). Белые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 208–210 °С (EtOAc — EtOH, 1:1). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3280, 3088 (N-H), 1744, 1656, 1648 (C=O). ^1H ЯМР-спектр (δ , м.д.): 0,78 (т, 3H, CH_3), 1,26 (м, 6H, 3 CH_2), 2,35 (с, 3H, CH_3), 7,19–8,14 (м, 7H, $\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2$, C_6H_4 + CONH), 9,90 (с, 1H, NHCO). Масс-спектр (ESI^+): m/z 378,91 (M + H⁺). $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$.

Бензиламид *N*-(4'-метилбензоил)-3,5-дихлорантраниловой кислоты (IX). Выход: 0,57 г (70 %). Белые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 234–236 °С (EtOAc — EtOH, 1:1). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3344, 3280 (N-H), 1656, 1644, 1632 (C=O). ^1H ЯМР-спектр (δ , м.д.): 2,35 (с, 3H, CH_3), 4,30 (д, 2H, CH_2 , J 5,5 Гц), 7,10–7,78 (м, 11H, $\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2$, C_6H_4 , C_6H_5), 8,75 (с, 1H, CONH), 9,95 (с, 1H, NHCO). Масс-спектр (ESI^+): m/z 412,89 (M + H⁺). $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$.

4'-Метилфениламид *N*-(2'-фураноил)-5-бромантраниловой кислоты (X). Выход: 0,52 г (90 %). Белые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 203–205 °С (EtOAc — EtOH, 1:1). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3288 (N-H), 1712, 1652, 1628 (C=O). ^1H ЯМР-спектр (δ , м.д.): 2,27 (с, 3H, CH_3), 6,65–8,42 (м, 10H, $\text{C}_6\text{H}_3\text{Br}$, C_6H_4 , $\text{C}_4\text{H}_3\text{O}$), 10,41 (с, 1H, CONH), 11,58 (с, 1H, NHCO). Масс-спектр (ESI^+): m/z 398,83 (M + H⁺). $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{BrN}_2\text{O}_3$.

Гидразид *N*-бензоил-3,5-дибромантраниловой кислоты (XI). Выход: 0,64 г (84 %). Белые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 232–234 °С (EtOH). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3240 (N-H), 1700, 1640 (C=O). ^1H ЯМР-спектр (δ , м.д.): 5,74 (д, 2H, NH_2 , J 4,5 Гц), 7,40–7,87 (м, 7H, $\text{C}_6\text{H}_2\text{Br}_2$, C_6H_5), 8,25 (с, 1H, CONH), 8,37 (с, 1H, NHCO). Масс-спектр (ESI^+): m/z 413,67 (M + H⁺). $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{Br}_2\text{N}_3\text{O}_2$.

Гидразид *N*-(4'-метилбензоил)-3,5-дихлорантраниловой кислоты (XII). Выход: 0,45 г (74 %). Белые кристаллы, $T_{\text{пл}}$ 184–186 °С (EtOH). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3355 (N-H), 1695, 1640 (C=O). ^1H ЯМР-спектр (δ , м.д.): 2,41 (с, 3H, CH_3), 5,74 (д, 2H, NH_2 , J 4,5 Гц), 7,27–8,14 (м, 7H, $\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2$, C_6H_4 + CONH), 8,24 (с, 1H, NHCO). Масс-спектр (ESI^+): m/z 337,86 (M + H⁺). $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$.

Экспериментальная биологическая часть

Объектом исследования явились 10 соединений — замещенные амиды *N*-ароил-5-бром-(5-йод-, 3,5-дибром-, 3,5-дихлор-)антраниловых кислот (I–X).

Все исследовательские работы с лабораторными животными проводились в соответствии с общепринятыми этическими нормами обращения с животными с соблюдением Правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований, действующих на территории РФ [9].

Определение ПВА основано на оценке прироста объема воспаления стопы крыс после введения флогогенного вещества каррагинина [10].

Исследование проводили на нелинейных половозрелых крысах обоего пола массой 180 – 250 г (группа включала 6 животных) на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1 % водного раствора каррагинина. Увеличение объема стопы, свидетельствующее о развитии отека, оценивали онкометрически до введения и через 3 ч после введения каррагинина. Исследуемые вещества вводили внутривентрально в дозе 50 мг/кг за 0,5 ч до введения флогогенного вещества.

Контрольной группе животных вводили эквивалентный объем крахмальной слизи. Препаратом сравнения служил нимесулид.

Статистическую обработку проводили по методу Стьюдента. На основе полученных результатов определяли эффект торможения воспаления в процентах к контрольному уровню. О наличии противовоспалительного действия судили по выраженности торможения воспалительной реакции. Если этот показатель больше 30%, результат учитывался как положительный.

Результаты и их обсуждение

Соединения **I–XII** (схема) представляют собой белые кристаллические вещества, производные **I–IX** растворимы в ДМФА, при нагревании — в ДМСО, нерастворимы в воде, этаноле, ацетоне, уксусной кислоте, толуоле, бензоле. Соединения **X–XII** растворимы при нагревании в этаноле, ацетоне.

В ИК-спектрах соединений **I–XII** наблюдаются полосы поглощения в области 3355 – 3088 см⁻¹ валентных колебаний N-H: NH-ацильной (NHCO) и амидной (CONH) групп. Полоса, обусловленная сложными ко-

лебаниями карбонильной группы (C=O), смещена в низкочастотную область 1752 – 1615 см⁻¹.

В ¹H ЯМР-спектрах группа сигналов, характеризующая протоны бензольного кольца, прописывается в интервале: 6,65 – 8,42 м.д. Сигнал амидной группы наблюдается в области 7,90 – 10,41 м.д. Синглет NH-ацильной группы прописывается при 8,24 – 11,58 м.д.

Результаты исследования ПВА синтезированных соединений представлены в таблице.

Введение флогогенного вещества вызывало существенное увеличение стопы животных к 3 часу наблюдения, прирост достигал 66,10 %, что было принято за контрольную величину. Использование препарата сравнения нимесулида (Нимесил, Лабораториос Менарини С. А., Испания), который успешно применяется в практической медицине в качестве противовоспалительного средства, при аналогичном способе введения, в аналогичной дозе, показало достоверное снижение каррагининового отека до 33,90 %. Профилактическое введение исследуемых соединений вызывало торможение воспалительной реакции по сравнению с контролем. Введение радикалов в амидную группу, таких как 4-метилфенил (**I, III, V, VI, VII, X**), приводит к увеличению силы торможения отека в течение 3 часа и составляет от 36,20 до 71,10 %, в сравнении с другими амидами этого ряда. Активными также являются соединения, содержащие в амидной группе бутильный (**VIII**) и бензильный (**II, IV, IX**) заместители, значения ПВА находятся в интервале от 45,8 до 76,9 %.

В результате проведенного исследования ПВА обнаружено четыре соединения с активностью более 70 %: бензиламид *N*-бензоил-3,5-дихлорантраниловой кислоты (**II**), бутиламид *N*-(4'-метилбензоил)-3,5-дихлорантраниловой кислоты (**VIII**), бензиламид *N*-(4'-метилбензоил)-3,5-дихлорантраниловой кислоты (**IX**), 4''-метилфениламид *N*-(2'-фураноил)-5-бромантраниловой кислоты (**X**).

Таким образом, проведение поиска биологически активных соединений в ряду производных антраниловой кислоты позволило выявить перспективные соединения, обладающие выраженным противовоспалительным действием.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра “Рациональное недропользование” (2022 год).

ЛИТЕРАТУРА

1. P. Chatterjee, K. Goozee, C. K. Lim, *Sci. Rep.*, **8**, 8008 – 8017 (2008).
2. V. Chobot, F. Hadacek, W. Weckwerth, et al., *J. Organomet. Chem.*, **782**, 103 – 110 (2015).
3. L. M. Giil, O. Midttun, H. Refsum, et al., *J. Alzheimer's Dis.*, **60**(2), 495 – 504 (2017).
4. T. J. D. Dewi, S. Siswodihardjo, J. Ekowati, *Int. J. Pharm. Chem.*, **7**(12), 162 – 166 (2017).
5. A.-R. Khaldoon, A. Al-Kaf, Y. Shada, et al., *Adv. Pharmacoevidemol. Drug Saf.*, **2**(2), 2 – 6 (2013).
6. S. A. Shiba, A. K. El-Ziaty, N. K. El-Aasar, et al., *Org. Chem. Ind. J.*, **8**(4), 135 – 144 (2012).

Экспериментальные результаты исследования ПВА замещенных амидов *N*-ароил-5-бром-(5-йод-, 3,5-дибром-, 3,5-дихлор-)антраниловых кислот **I–X**

Соединение	Прирост объема стопы через 3 ч, %	Торможение реакции, %
I	36,10 ± 5,60*	45,40
II	15,27 ± 4,65*	76,90
III	42,20 ± 9,30*	36,20
IV	36,80 ± 4,20*	45,80
V	34,80 ± 8,80*	47,30
VI	37,30 ± 8,10*	43,50
VII	37,20 ± 5,60*	43,70
VIII	17,98 ± 4,71*	72,80
IX	17,89 ± 5,03*	72,90
X	19,08 ± 7,09*	71,10
Нимесулид	33,90 ± 6,80 *	48,70
Контроль	66,10 ± 6,70	

* Различие достоверно в сравнении с контролем при $p < 0,05$.

7. A. A. H. Eissa, G. A. E.-H. Soliman, M. H. Khataibeh, *Chem. Pharm. Bull.*, **60**(10), 1290 – 1300 (2012).
8. К. В. Андрюков, Л. М. Коркодинова, *Успехи соврем. естествозн.*, **7**, 9 – 14 (2018).
9. Правила надлежащей лабораторной практики: приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199н от 1 апреля 2016 г., Москва (2016).
10. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, под ред. А. Н. Миронова, Гриф и К, Москва (2012).

Поступила 20.05.22

SYNTHESIS AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF *N*-AROYL SUBSTITUTED MONO(DI)HALOGEN-ANTHRANILIC ACID AMIDES AND HYDRAZIDES

K. V. Andryukov^{1,*}, I. P. Rudakova¹, L. M. Korkodina¹, and E. V. Zvereva¹

¹ Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, 614990 Russia

* e-mail: k_andryukov@mail.ru

A series of new amides and hydrazides of *N*-aroyl substituted mono(di)halogen anthranilic acids (**I–XII**) were synthesized via the amidation reaction of 6-bromo-, 6-iodo- (6,8-dichloro-, 6,8-dibromo-)-2-substituted-3,1-benzoxazin-4(3*H*)-ones with the corresponding 4-methylphenyl-, benzyl- and butylamines and hydrazine. The anti-inflammatory activity of some synthesized compounds was evaluated. Compounds containing 4-methylphenyl, butyl and benzyl substituents in the amide group were active, showing the values of percentage inhibition of carrageenan edema inflammatory reaction ranging from 45.8 to 76.9%. It is established that this class of compounds can be promising in the search for biologically active substances with anti-inflammatory activity.

Keywords: anthranilic acid; amide; amidation reaction; anti-inflammatory activity.