

М.М. Сулейман, С.Г. Ісаєв, О.І. Павлій

## Синтез і фармакологічна активність похідних 7-оксамоїл(сукциноїл) заміщених 3-оксо-1,2,-дигідроіндазолу

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** синтез, фармакологічна активність, 3-оксо-1,2-дигідроіндазоли.

Запропоновано препаративні методи синтезу 7-оксамоїл- і 7-сукциноїлзаміщених 3-оксо-1,2-дигідроіндазолів. Будову синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу й ІЧ-спектрів. Чистоту контролювали методом тонкошарової хроматографії. Встановлено, що синтезовані речовини проявляють бактеріостатичну, фунгістатичну, протизапальну активність. Синтезовані сполуки належать до класу малотоксичних сполук.

### Синтез и фармакологическая активность производных 7-оксамоил(сукциноил)замещенных 3-оксо-1,2-дигидроиндазолов

М.М. Сулейман, С.Г. Исаев, А.И. Павлий

Предложены препаративные методы синтеза 7-оксамоил- и 7-сукциноилзамещенных 3-оксо-1,2-дигидроиндазолов. Строение синтезированных соединений подтверждено данными элементного анализа и ИК-спектров. Чистоту контролировали методом тонкослойной хроматографии. Установлено, что синтезированные вещества проявляют бактериостатическую, фунгистатическую, противовоспалительную активность. Синтезированные вещества относятся к классу малотоксичных соединений.

**Ключевые слова:** синтез, фармакологическая активность, 3-оксо-1,2-дигидроиндазоли.

### Synthesis and pharmacological activity of the derivatives of 7-oxamoyl (succinoyl)-substituted 3-oxo-1,2-dihydroindazoles

M.M. Suleiman, S.G. Isayev, A.I. Pavliy

The synthesis of 7-oxamoyl(succinoyl)substituted 3-oxo-1,2-dihydroindazoles was carried out. The structure of the synthesized compounds was confirmed by elemental analysis and IR spectral data. Purity of synthesized compounds was proved by thin-layer chromatography. It was established that synthesized substances exhibit bacteriostatic, fungistatic, anti-inflammatory activities. The synthesized compounds belong to the class of low-toxic compounds.

**Key words:** synthesis, pharmacological activity, 3-oxo-1,2-dihydroindazols.

Синтез нових біологічно активних речовин – це пошук альтернативних лікарських засобів, що використовуються для лікування різноманітних хвороб.

Головною проблемою сучасної медицини та фармації є створення лікарських препаратів, що вдало поєднують такі показники, як ефективність і безпечність. На світовому фармацевтичному ринку є безліч ліків для усунення патології різного генезу, але не всі вони спрямовані на покращення якості життя хворого. У світі найрозповсюдженішими хворобами є різноманітні інфекції, мікози та запальні захворювання м'язів і суглобів (колагенози), ревматологічні захворювання [3,7,8]. Отже, особливо актуальним є пошук нових синтетичних сполук, що мають комбіновану антибактеріальну, протигрибкову та протизапальну дію. З огляду на це, науковий інтерес становлять новосинтезовані 7-оксамоїл(сукциноїл)заміщені 3-оксо-1,2-дигідроіндазоли.

#### Мета роботи

Синтез нових 7-оксамоїл- і 7-сукциноїлзаміщених 3-оксо-1,2-дигідроіндазолів як потенційних протизапальних, антибактеріальних і протигрибкових засобів.

#### Матеріали і методи дослідження

Протизапальну активність досліджували за здатністю сполук пригнічувати розвиток набряку при гострому запаленні, яке викликали субплантарним введенням 1% розчину карагеніну в лапу миші [6]. Досліджувані похід-

ні (I–IX) вводили перорально у дозах 20 мг/кг маси тіла тварини. Препаратом порівняння обрано диклофенак.

Бактеріостатичну активність синтезованих сполук вивчали *in vitro* за методикою двократних серійних розведень [6] у рідкому поживному середовищі.

Гостру токсичність 7-оксамоїл- і 7-сукциноїлзаміщених 3-оксо-1,2-дигідроіндазолів вивчали на білих мишах при внутрішньошлунковому введенні [6].

*Методика синтезу моноетаноламідів 7-оксамоїл- або 7-сукциноїл-3-оксо-1,2-дигідроіндазолів.*

Спосіб А. До розчину 3,01 г (0,01 моль) метилового естеру моноетаноламідів 3-карбоксі-2-хлороксанілової кислоти або до розчину 3,29 г (0,01 моль) метилового естеру моноетаноламідів 3-карбоксі-2-хлорсукцинанілової кислоти в 25 мл метанолу додають 0,5 г (0,01 моль) гідразингідрату в 5 мл метанолу. Реакційну суміш нагрівають при температурі 80–100°C протягом 30–40 хвилин. Охолоджують, виливають у воду. Осад відфільтровують, сушать.

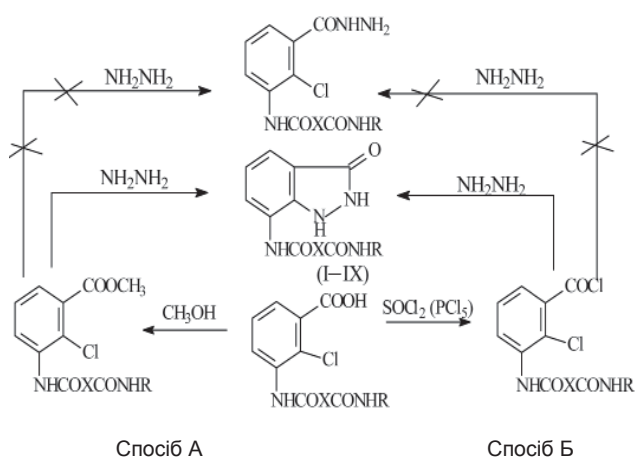
Спосіб Б. До розчину 2,87 г (0,01 моль) моноетаноламідів 3-карбоксі-2-хлороксанілової кислоти або до розчину 3,15 г (0,01 моль) моноетаноламідів 3-карбоксі-2-хлорсукцинанілової кислоти в 20 мл бензолу додають 1,77 г (0,025 моль) тіонілхлориду і нагрівають 20 хвилин. Бензол відганяють і додають 1,5 г (0,02 моль) гідразингідрату. Нагрівають 15 хвилин, охолоджують. Осад від-

фільтрують, сушать. Кристалізують з водного діоксану. Сполуки II–V, VII–IX отримують аналогічно.

**Результати та їх обговорення**

Першочерговою задачею було отримання гідразидів амідів 3-карбоксі-2-хлороксанілової та 3-карбоксі-2-хлорсукцинанілової кислот, але при проведенні реакції гідразинолізу метилових естерів амідів 3-карбоксі-2-хлороксанілової та 3-карбоксі-2-хлорсукцинанілової кислот при нагріванні протягом 30–40 хвилин отримано винятково 7-оксамоїл- і 7-сукциноїлзаміщені 3-оксо-1,2-дигідроіндазоли (схема 1).

Схема 1



Примітка: X = 0, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>.

Здійснення реакції гідразинолізу естерів на холоді також не призводило до утворення гідразидів амідів 3-карбоксі-2-хлороксанілової та 3-карбоксі-2-хлорсукцинанілової кислот. На наш погляд, легкість процесу циклізації пояснюється реакційною здатністю хлору у другому положенні через збільшення полярності C-Cl за рахунок впливу карбоксильної групи.

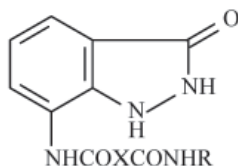
Аналогічні продукти циклізації утворюються при гідразинолізі хлорангідридів цих похідних (спосіб Б) [2]. 7-оксамоїл(сукциноїл)заміщені 3-оксо-1,2-дигідроіндазоли (I–IX) можна синтезувати в одну стадію без виділення відповідного хлорангідриду при безпосередній дії на вихідні алкіламіди 3-карбоксі-2-хлороксанілової та сукцинанілової кислот тіонілхлоридом або пентахлоридом фосфору з подальшим додаванням гідразингідрату. Реакція проходить за 10 хвилин з кількісним виходом.

Будову 7-оксамоїл(сукциноїл)заміщених 3-оксо-1,2-дигідроіндазолів підтверджено зустрічним синтезом, ІЧ-, ПМР-спектрами, якісними реакціями (негативна реакція на ковалентнозв'язаний хлор), елементним аналізом. Відсутність в ІЧ-спектрах (табл. 2) смуги поглинання валентних коливань зв'язку C-Cl є доказом утворення гетероциклічної структури.

ІЧ-спектри 7-оксамоїл(сукциноїл)заміщених 3-оксо-1,2-дигідроіндазолів характеризуються деформаційними та валентними коливаннями основних фрагментів синтезованих речовин: вторинна аміногрупа – 3355–3308 см<sup>-1</sup> (ν<sub>NH</sub>), 1585–1570 см<sup>-1</sup> (δ<sub>NH</sub>), карбонільна група - 1720-1628 см<sup>-1</sup> (ν<sub>C=O</sub>), метиленова група – 1420–1408 см<sup>-1</sup> (δ<sub>CH<sub>2</sub></sub>), зв'язок C-C – 1602–1596 см<sup>-1</sup> (ν<sub>C-C</sub>) (табл. 1).

Таблиця 1

**Фізико-хімічні характеристики 7-оксамоїл та 7-сукциноїлзаміщених 3-оксо-1,2-дигідроіндазолу**



Сполука	X	R	Вихід, % <sup>1</sup>	Тпл°С <sup>2</sup>	Частота поглинання, см <sup>-1</sup>					Rf <sup>3</sup>
					ν <sub>NH</sub>	ν <sub>C=O</sub>	ν <sub>C-C</sub>	δ <sub>NH</sub>	δ <sub>CH<sub>2</sub></sub>	
I	0	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	92/95	240-244	3325 3290	1670 1634	1596	1585	1418	0,72
II	0	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> -i	90/95	209-212	3355 3322, 3232	1714 1682	1602	1572	1412	0,68
III	0	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> -н	95/98	233-237	3324 3285	1702 1638	1600	1570	1414	0,59
IV	0	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	95/98	258-259	3320 3277	1720 1655	1598	1576	1420	0,57
V	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	88/95	272-275	3324 3220, 3155	1690 1650	1596	1572	1410	0,74
VI	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	88/98	217-220	3308 3240	1710, 1638	1598	1570	1410	0,55
VII	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> -н	92/96	200-202	3334 3218	1702 1640	1600	1576	1416	0,58
VIII	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> -н	90/95	250-252	3330 3228	1670 1632	1602	1576	1408	0,52
IX	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	92/95	237-239	3328 3220	1684 1628	1592	1574	1408	0,48

Примітки: <sup>1</sup>чисельник – синтез проводили за способом А, знаменник – за способом Б; <sup>2</sup> – кристалізують з водного діоксану; <sup>3</sup> – значення Rf наведено в системі ацетон-етанол-гексан (2:2:0,5).

У ПМР-спектрі моноетаноламіді 7-сукциноіл-3-оксо-1,2-дигідроіндазолу (VI) інтерпретовано сигнали (Ar-NH), що спостерігаються у вигляді синглету при 10,31 м.ч. (1H, с). Сигнали ароматичних протонів (Ar-H) фіксуються в області 7,51–8,12 м.ч. (3H, м). Фрагмент індазольної групи (-CO-NH-NH-) інтерпретовано у ділянці 6,53 м.ч. у вигляді синглету (2H, с). У спектрі спостерігаються сигнали протонів сукциноільного фрагмента (-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO-) (4H, с) в області 2,78 м.ч. та -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- групи (5H, с) в області 3,48 м.ч. Протон гідроксильної групи фіксується у вигляді синглету (1H, с) в полі 4,79 м.ч.

Здійснено також хроматографічний контроль реакції гідразинолізу метилового естеру моноетаноламіді 3-карбокси-2-хлороксанілової кислоти при утворенні 7-оксамоїлмоноетаноламіді 3-оксо-1,2-дигідроіндазолу. Системою для хроматографування обрано метанол-гексан (1:1). Показник R<sub>f</sub> відповідного метилового естеру складає 0,58, дигідроіндазолу – 0,41.

Результати мікробіологічного скринінгу (табл. 2) показали, що 7-оксамоїлзаміщені 3-оксо-1,2-дигідроіндазоли (I–IV) відносно золотистого стафілококу, кишкової, сінної та синьогнійної паличок інгібують ріст мікро-

організмів у концентрації 31,2–250 мкг/мл. Наявність високої бактеріостатичної дії на кишкову паличку у синтезованих солей став поштовхом до дослідження сполук (I–IV) на кишкову групу патогенних мікроорганізмів. 7-оксамоїлзаміщені 3-оксо-1,2-дигідроіндазолу виявляють бактеріостатичну та фунгістатичну активність у концентрації 31,2–250 мкг/мл (табл. 2).

Це група речовин вибірковіше діє на ріст золотистого стафілокока (I–IV), кишкової палички (I, III, IV) і грибів роду *Candida albicans* (МПК=31,2–62,5 мкг/мл).

Результати досліджень свідчать, що солі (II, III, IV) інгібують ріст золотистого стафілокока у концентрації 62,5–250 мкг/мл і не перевищують дію етакридину лактату. Синтезовані сполуки інгібують ріст кишкової палички у концентрації 125–250 мкг/мл. Щодо проти-грибкової активності, то синтезовані сполуки мають помірну дію на гриби роду *Candida* (*Candida albicans*, *Microsporium canis*), референс-препаратом обрано нітрофурал (табл. 2)

За класифікацією К.К. Сидорова, 7-оксамоїлзаміщені 3-оксо-1,2-дигідроіндазоли при внутрішньошлунковому введенні належать до класу малотоксичних речовин, їх ЛД<sub>50</sub> > 2500 мг/кг (табл. 2).

Таблиця 2

**Біологічна активність 7-оксамоїл(сукциноіл)заміщених 3-оксо-1,2-дигідроіндазолів**

Сполука	Проти-запальна, % у дозі 20 мг/кг	Бактеріостатична, МПК, мкг/мл				Фунгістатична, МПК, мкг/мл		ЛД <sub>50</sub> , мг/кг (в/шлунково)
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Echerichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Microsporium canis</i>	
I	27,5	31,2	250	62,5	125	31,2	125	>2500
II	0	62,5	125	125	125	31,2	125	-
III	15,4	125	125	62,5	250	62,5	125	>2500
IV	0	250	125	62,5	250	62,5	250	-
V	0	62,5	250	31,2	125	62,5	125	-
VI	0	31,2	125	125	250	125	125	-
VII	27,8	62,5	250	62,5	500	125	125	>2000
VIII	31,2	125	250	62,5	250	62,5	250	>2000
IX	30,4	125	500	125	250	125	250	>2000
Диклофенак (ЕД <sub>50</sub> = 8 мг/кг)	37,5	-	-	-	-	-	-	360
Нітрофурал	-	-	-	-	-	64	-	-
Етакридину лактат	-	31,2	15,6	31,2	62,5	-	-	21*
Мефенамінова кислота у дозі 100 мг/кг	30,0	-	-	-	-	-	-	628
Фурацилін	-	250	250	250	-	64	-	82,5
Стрептоцид	-	250	250	250	-	-	-	-

Примітка: \*ЛД<sub>50</sub> – при внутрішньочеревинному введенні.

З метою планування фармакологічних досліджень здійснено попередній прогноз біологічної активності синтезованих 7-сукциноїлзаміщених 3-оксо-1,2-дигідроіндазолів за допомогою комп'ютерної програми PASS [9]. Результати програми показали, що отримані речовини мають високу вірогідність прояву антиаритмічної, кардіопротекторної, гіпоглікемічної, протизапальної, антимікробної, фунгістатичної, снодійної та жовчогінної дії. Індекс активності сполук знаходиться в інтервалі від 0,445 до 0,855.

Слід відзначити, що сукциноїлзаміщені 3-оксо-1,2-дигідроіндазоли проявляють вираженіший протизапальний ефект, ніж вихідні метилові естери [4], а анальгетичну активність синтезовані сполуки не проявляють.

Сукциноїлзаміщені 3-оксо-1,2-дигідроіндазолу (V–IX)

виявляють помірну протизапальну активність, але жодна субстанція (табл. 2) не перевищує диклофенак натрію (37,5%). У результаті мікробіологічних досліджень встановлено, що циклізація метилових ефірів 3-карбоксі-2-хлорсукцинанілових кислот призводить до підвищення бактеріостатичної, фунгістатичної активності та гострої токсичності (приблизно 1000 мг/кг) (табл. 2).

#### Висновки

1. Запропоновано препаративні методи синтезу 7-оксамоїл та 7-сукциноїлзаміщених 3-оксо-1,2-дигідроіндазолів і встановлено їх будову за допомогою комплексу сучасних методів дослідження.

2. Фармакологічний скринінг виявив сполуки з високою бактеріостатичною, фунгістатичною та помірною протизапальною активністю.

#### Список літератури

1. *Ісаєв С.Г.* Ацилгідрозиди 2-метилнітросукцинанілових та гідрозиди β-(2-бензімідазоліл)пропіонової кислоти, їх синтез та фармакологічні властивості / С.Г. Ісаєв, Н.Л. Березнякова, О.О. Павлій // Вісник фармації. – 2006. – №1 (45). – С. 26–28.
2. *Ісаєв С.Г.* Синтез, реакційна здатність і біологічна активність похідних орто-галогенбензойних, ароматичних амінокислот та акридину: дис. ... д-ра фармац. наук: 15.00.02 / С.Г. Ісаєв. – Харків, 2008. – 357 с.
3. «Круглий стіл» по проблемам епідеміології, клініки і лікування микозової шкіри та її придатків // Дерматологія та венерологія. – 2001. – №4 (14). – С. 64–79.
4. Метилові ефіри амідів 3-карбоксі-2-хлорсукцинанілової кислоти, їх синтез та фармакологічна активність / С.Г. Ісаєв, М.М. Сулейман, Н.П. Кобзар [та ін.] // Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. – 2009. – Вип. 18., кн. 3. – С. 588–591.
5. Пат. 48038 Україна, МКИ С07С 243/34, А61К 31/165. Гідрозид 2-хлор-3-карбоксіоксанилової кислоти, що проявляє протизапальну активність: Пат. 48038 Україна, МКИ С07С 243/34, А61К 31/165/ С.Г. Ісаєв, І.С. Шульга, А.І. Березнякова та ін. – № 4487223; Заявл. 21.09.88; Опубл. 15.08.02; Бюл. № 8. – 2 с.
6. *Стефанов О.В.* Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. реком. / За ред. член-кор. АМН України Стефанова О.В. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
7. *Bijlsma J.W.* Strategies for the prevention and management of osteoarthritis of the hip and knee / J.W. Bijlsma // Best Pract. Res. Clin. Rheumatol. – 2007. – Vol. 21, № 3. – P. 59–76.
8. *Borenstein D.* Management of radicular pain in rheumatic disease: insight for the physician / D. Borenstein // Nat. Rev. Rheumatol. – 2010. – №6. – P. 227–231.
9. <http://www.pharmaexpert.ru/PASSonline/>.

#### Відомості про авторів:

Сулейман М.М., аспірант каф. медичної хімії НФаУ.

Ісаєв С.Г., д. фарм. н., професор каф. медичної хімії НФаУ.

Павлій О.І., д. фарм. н., професор каф. хімії природних сполук НФаУ.

Надійшла в редакцію 04.02.2013 р.