

И. В. Украинец¹, Е. В. Моспанова², А. А. Давиденко³

СИНТЕЗ И АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ГИДРОХЛОРИДОВ N-R-АМИДОВ 4-ГИДРОКСИ-6,7-ДИМЕТОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГИДРОХИНОЛИН-3-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

¹ Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина;² Институт химических технологий Восточно-украинского национального университета им. Владимира Даля, Рубежное, Украина;³ Винницкий национальный медицинский университет им. Н. И. Пирогова, Винница, Украина

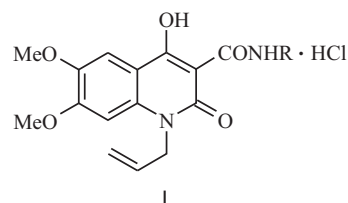
С целью выявления новых биологически активных веществ с антигипоксическим действием реакции метилового эфира 4-гидрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты с диалкиламиноалкиламинами осуществлен целенаправленный синтез серии соответствующих N-R-амидов, выделенных в виде хорошо растворимых в воде гидрохлоридов. По результатам первичного фармакологического скрининга обнаружены важные для последующих изысканий структурно-биологические закономерности. Будучи практически нетоксичными веществами, некоторые из полученных амидов проявили высокий антигипоксический эффект. Одно из таких соединений, а именно гидрохлорид 3-(морфолин-4-ил)-пропиламида 4-гидрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты рекомендован для углубленных фармакологических испытаний в качестве перспективного антигипоксанта.

Ключевые слова: 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоксамиды; синтез; амидирование; строение; антигипоксическая активность.

Антигипоксантами представляют собой лекарственные средства, обладающие способностью улучшать усвоение циркулирующего в организме кислорода и повышать стойкость к кислородной недостаточности. Нормализуя основы жизнедеятельности клетки, препараты данной фармакологической группы в критических состояниях предотвращают развитие необратимых изменений в органах и тем самым зачастую вносят решающий вклад в спасение больного [1]. Благодаря этому, их активно применяют в комплексной терапии стенокардии напряжения [2], в ургентной наркологии [3], в акушерстве [4], в стоматологии [5], в профилактике и лечении атеросклероза [6], в лечении гипертонической энцефалопатии [7], при анафилаксии [8], для уменьшения нарушений сперматогенеза [9], при заболеваниях печени [10] и других патологических состояниях. Следует отметить, что в настоящее время наблюдается резкое повышение интереса к антигипоксантам со стороны медицины, а перечень показаний к их применению быстро расширяется. Поэтому поиск принципиально новых биологически активных веществ с такими свойствами остается актуальной задачей современной химии лекарственных средств и привлекает внимание многих исследователей [11 – 14].

Несомненный интерес в этом плане представляют 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоксамиды. Выбор в качестве объектов исследования соединений именно этого химического класса не случаен. Теоретическим обоснованием для него послужило проведенное нами ранее по программе PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substances* [15]) предварительное математическое прогнозирование спектра биологической активности гидрохлоридов диалкиламиноалкила-

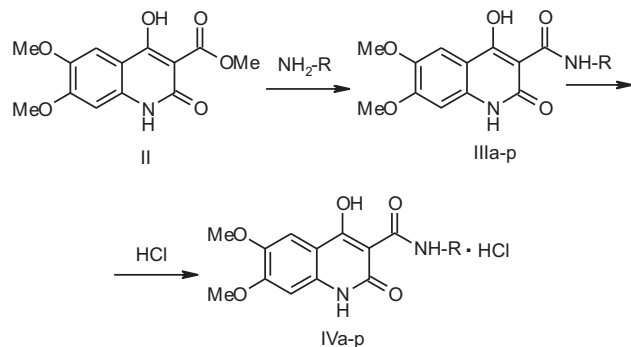
мидов 1-аллил-4-гидрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты общей формулы I, показавшее средний ($p_a = 0,475$) уровень вероятности появления у них антигипоксических свойств.



Последующие фармакологические испытания полностью подтвердили результаты виртуального скрининга — большинство изученных веществ действительно проявили выраженную антигипоксическую активность [16]. И хотя по уровню биологического эффекта они несколько уступали препарату сравнения мексидолу, тем не менее предпосылка для дальнейших поисковых исследований была получена.

Одним из наиболее распространенных способов улучшения фармацевтических и/или фармакологических свойств биологически активного вещества на сегодняшний день остается целенаправленное внесение в его строение незначительных структурных изменений [17]. В отношении вышеуказанных N-R-амидов (I) наиболее рациональной и простой в исполнении химической модификацией представляется удаление из их молекулы 1-N-аллильного заместителя. Незамещенные в положении 1 4-гидроксихинолин-2-оны способны легко образовывать 2,4-дигидроксиформы [18], что, в принципе, должно способствовать усилению антигипоксической активности. Каким в действительности окажется эффект от такой трансформации и призвано ответить настоящее исследование.

Целевые N-R-амиды 4-гидрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты получали амидированием метилового эфира (II) соответствующими первичными аминами в кипящем этаноле с последующим превращением промежуточных амидов-оснований (III) в более удобные для фармакологических испытаний водорастворимые гидрохлориды (IV). В большинстве случаев для успешного протекания реакции достаточно эквимолярного соотношения реагентов. Исключение составляет лишь амид IIIa, при синтезе которого использовали 5-кратный избыток 3-аминопропиламина, позволяющий подавить нежелательное образование симметричного диамида.



III – IV: R=3-аминопропил (а), 2-этиламиноэтил (б), 2-(2-гидроксиэтиламино)этил (в), 2-диметиламиноэтил (г), 2-бутил(метил)аминоэтил (д), 2-диэтиламиноэтил (е), 2-дипропиламиноэтил (ж), 2-(тетрагидро-1Н-пиррол-1-ил)этил (з), 2-(пиперидин-1-ил)этил (и), 2-(пиперазин-1-ил)этил (к), 2-(морфолин-4-ил)этил (л), 3-диметиламинопропил (м), 3-диэтиламинопропил (н), 3-(морфолин-4-ил)пропил (о), 3-(пиперидин-1-ил)пропил (п), 3-(4-метилпиперазин-1-ил)пропил (р).

Все синтезированные соединения представляют собой бесцветные кристаллические вещества с узкими интервалами температур плавления, при комнатной температуре растворимые в воде, диметилформамиде (ДМФА) и диметилсульфоксиде (ДМСО), малорастворимые в этаноле и практически не растворимые в эфи-

ре и гексане (табл. 1). Для подтверждения их строения использованы элементный анализ и спектроскопия ^1H ЯМР (табл. 2), которые дают достаточно полное представление о строении изучаемых веществ. Так, в частности, протоны 4-ОН-групп общего для всех соединений 4-гидрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолинового фрагмента в спектрах ^1H ЯМР проявляются узкими синглетами интенсивностью 1H в характерном для енолов слабом поле (17,14 – 16,49 м.д.). Протоны хинолонового ядра изолированы друг от друга и существенно различаются по магнитным свойствам. Поэтому их сигналы тоже имеют вид хорошо разрешенных синглетов, но уже в ароматической области спектра. Напротив, окружение метоксигрупп в силу структурных особенностей амидов IVa – р оказывается весьма схожим. В результате наблюдаются довольно близкие, но все же различимые значения их резонансных частот.

Большинство функциональных групп карбоксамидных фрагментов в спектрах ^1H ЯМР проявляются более сложными сигналами, сосредоточенными в сильном поле и к тому же на очень коротком отрезке. Тем не менее интегральная интенсивность и мультиплетность каждого из сигналов позволяют идентифицировать все входящие в их состав протоны без особых затруднений (табл. 2).

Экспериментальная химическая часть

Спектры ЯМР ^1H регистрировали на спектрометре Varian Mercury-VX-200 (США), рабочая частота 200 МГц, растворитель ДМСО- d_6 , внутренний стандарт ТМС. Элементный анализ проводили на микроанализаторе Euro Vector EA-3000 (Великобритания). Данные элементного анализа соответствуют вычисленным. Температуры плавления определяли в капилляре на цифровом анализаторе точки плавления SMP10 Stuart (Великобритания). Исходный метиловый эфир 4-гидрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты (II) получали по известной методике [19].

Гидрохлорид 3-аминопропиламида 4-гидрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты (IVa). Раствор 2,79 г (0,01 моль) метилового эфира II и 4,17 мл (0,05 моль) 3-аминопропиламина в 20 мл этанола кипятят с обратным холодильником в течение 3 ч. Обратный холодильник заменяют нисходящим и при пониженном давлении отгоняют растворитель вместе с избытком 3-аминопропиламина. Остаток (амид-основание IIIa) растворяют в 15 мл пропанола-2, прибавляют насыщенный газообразным HCl пропанол-2 до pH реакционной смеси около 4, после чего выдерживают 10 – 12 ч при температуре около – 20 °С. Кристаллы гидрохлорида амида IVa отфильтровывают, промывают охлажденным безводным диэтиловым эфиром и сушат на воздухе.

Гидрохлориды N-R-амидов 4-гидрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты (IVб – р). Общая методика. Раствор 2,79 г (0,01 моль) метилового эфира II и 0,01 моль соответ-

Таблица 1
Характеристики гидрохлоридов N-R-амидов (IVa – р)

Соединение	Брутто-формула	Т. пл., °С	Выход, %
IVa	$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$	273 – 275	90
IVб	$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$	316 – 318	84
IVв	$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_6 \cdot \text{HCl}$	261 – 263	88
IVг	$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$	240 – 242	92
IVд	$\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$	219 – 221	85
IVе	$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$	253 – 255	94
IVж	$\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$	250 – 252	95
IVз	$\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$	244 – 246	83
IVи	$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$	307 – 309	81
IVк	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_5 \cdot 2\text{HCl}$	278 – 280	95
IVл	$\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_6 \cdot \text{HCl}$	257 – 259	90
IVм	$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$	236 – 238	87
IVн	$\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$	232 – 234	83
IVо	$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_6 \cdot \text{HCl}$	261 – 263	91
IVп	$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$	229 – 231	88
IVр	$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_5 \cdot 2\text{HCl}$	235 – 237	93

вующего амина в 15 мл этанола кипятят с обратным холодильником 3 ч. После этого реакционную массу охлаждают до комнатной температуры. При интенсивном перемешивании прибавляют насыщенный газообразным HCl пропанол-2 до pH около 4 и помещают в морозильный шкаф при температуре -20°C на 10–12 ч. Кристаллы гидрохлоридов амидов IVб – р отфильтровывают, промывают охлажденным безводным диэтиловым эфиром и сушат на воздухе.

Экспериментальная биологическая часть

Все биологические исследования проведены в полном соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспе-

риментальных и других научных целей и Законом Украины № 3447-IV “О защите животных от жестокого поведения” (2006).

Антигипоксическую активность синтезированных соединений и препарата сравнения (мексидола) изучали на модели острой гемической гипоксии, вызванной метгемоглобин-образователями [20]. Для моделирования данного типа гипоксии использовали нитрит натрия, который угнетает тканевое дыхание. Подкожное введение этого вещества мышам в дозе 200 – 225 мг/кг вызывает гибель всех животных через 25 – 30 мин. Испытания каждого соединения проводили на 6 белых нелинейных мышах-самцах массой 20 г. Синтезированные соединения IVа – р и мексидол (Фармасофт,

Таблица 2

Спектры ЯМР ^1H гидрохлоридов N-R-амидов (IVа – р)

Соединение	Химические сдвиги, δ , м.д., (J, Гц)
IVа	17,14 (с, 1H, 4-OH), 11,54 (с, 1H, 1-NH), 10,37 (т, J 5,3 Гц, 1H, CONH), 8,50 (уш. с, 3H, N^+H_3), 7,27 (с, 1H, H-5), 6,92 (с, 1H, H-8), 3,84 (с, 3H, OMe), 3,80 (с, 3H, OMe), 3,43 (к, J 6,7 Гц, 2H, CONHCH_2), 2,83 (м, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+\text{H}_3$), 1,87 (кв, J 7,4 Гц, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+\text{H}_3$)
IVб	17,03 (с, 1H, 4-OH), 11,52 (с, 1H, 1-NH), 10,40 (т, J 5,9 Гц, 1H, CONH), 8,93 (уш. с, 2H, N^+H_2), 7,24 (с, 1H, H-5), 6,92 (с, 1H, H-8), 3,84 (с, 3H, OCH ₃), 3,80 (с, 3H, OCH ₃), 3,69 (к, J 6,0 Гц, 2H, CONHCH_2), 3,10 (м, 2H, $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2$), 2,95 (к, J 7,2 Гц, 2H, CH_2CH_3), 1,20 (т, J 7,2 Гц, 3H, CH_2CH_3)
IVв	16,67 (с, 1H, 4-OH), 11,62 (с, 1H, 1-NH), 10,39 (т, J 5,2 Гц, 1H, CONH), 9,13 (уш. с, 2H, NH_2^+), 7,23 (с, 1H, H-5), 6,93 (с, 1H, H-8), 3,83 (с, 3H, OCH ₃), 3,80 (с, 3H, OCH ₃), 5,22 (уш. с, 1H, OH), 3,69 (м, 4H, $\text{CONHCH}_2 + \text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3,16 (т, J 6,5 Гц, 2H, $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2$), 3,03 (т, J 5,3 Гц, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$)
IVг	16,63 (с, 1H, 4-OH), 11,62 (с, 1H, 1-NH), 10,43 (уш. с, 2H, $\text{CONH} + \text{NH}^+$), 7,27 (с, 1H, H-5), 6,91 (с, 1H, H-8), 3,84 (с, 3H, OCH ₃), 3,81 (с, 3H, OCH ₃), 3,71 (к, J 6,2 Гц, 2H, CONHCH_2), 3,18 (т, J 6,4 Гц, 2H, NHCH_2CH_2), 2,73 (с, 6H, 2CH_3)
IVд	16,56 (с, 1H, 4-OH), 11,64 (с, 1H, 1-NH), 10,71 (уш. с, 1H, N^+H), 10,42 (т, J 5,1 Гц, 1H, CONH), 7,25 (с, 1H, H-5), 6,92 (с, 1H, H-8), 3,84 (с, 3H, OCH ₃), 3,80 (с, 3H, OCH ₃), 3,76 (к, J 6,1 Гц, 2H, CONHCH_2), 3,23 (т, J 6,4 Гц, 2H, NHCH_2CH_2), 3,07 (т, J 7,2 Гц, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2,77 (с, 3H, NCH ₃), 1,66 (кв, J 7,7 Гц, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,31 (м, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0,88 (т, J 7,2 Гц, 3H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$)
IVе	16,49 (с, 1H, 4-OH), 11,50 (с, 1H, 1-NH), 10,43 (уш. с, 2H, $\text{CONH} + \text{NH}^+$), 7,29 (с, 1H, H-5), 6,96 (с, 1H, H-8), 3,85 (с, 3H, OCH ₃), 3,82 (с, 3H, OCH ₃), 3,76 (к, J 6,6 Гц, 2H, CONHCH_2), 3,22 (т, J 6,9 Гц, 2H, NHCH_2CH_2), 3,12 (к, J 7,2 Гц, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,25 (т, J 7,2 Гц, 6H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$)
IVж	16,55 (с, 1H, 4-OH), 11,60 (с, 1H, 1-NH), 10,86 (уш. с, 1H, N^+H), 10,41 (т, J 5,6 Гц, 1H, CONH), 7,24 (с, 1H, H-5), 6,95 (с, 1H, H-8), 3,83 (с, 3H, OCH ₃), 3,80 (с, 3H, OCH ₃), 3,76 (к, J 6,4 Гц, 2H, CONHCH_2), 3,24 (т, J 6,7 Гц, 2H, NHCH_2CH_2), 3,03 (т, J 7,3 Гц, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,72 (м, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 0,86 (т, J 7,4 Гц, 6H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$)
IVз	16,57 (с, 1H, 4-OH), 11,63 (с, 1H, 1-NH), 10,95 (уш. с, 1H, N^+H), 10,43 (т, J 6,1 Гц, 1H, CONH), 7,24 (с, 1H, H-5), 6,93 (с, 1H, H-8), 3,83 (с, 3H, OCH ₃), 3,80 (с, 3H, OCH ₃), 3,76 (к, J 6,4 Гц, 2H, CONHCH_2), 3,34 (т, J 6,6 Гц, 2H, NHCH_2CH_2), 3,22 (м, 4H, $2'\text{-CH}_2 + 5'\text{-CH}_2$), 1,93 (м, 4H, $3'\text{-CH}_2 + 4'\text{-CH}_2$)
IVи	16,61 (с, 1H, 4-OH), 11,63 (с, 1H, 1-NH), 10,42 (т, J 5,6 Гц, 1H, CONH), 11,49 (уш. с, 1H, N^+H), 7,25 (с, 1H, H-5), 6,93 (с, 1H, H-8), 3,84 (с, 3H, OCH ₃), 3,80 (с, 3H, OCH ₃), 3,75 (к, J 6,7 Гц, 2H, CONHCH_2), 3,14 (м, 6H, $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2)_2$), 1,76 (м, 4H, $3',5'\text{-(CH}_2)_2$), 1,52 (м, 2H, $4'\text{-CH}_2$)
IVк	16,60 (с, 1H, 4-OH), 11,62 (с, 1H, 1-NH), 10,43 (т, J 6,2 Гц, 1H, CONH), 9,78 (уш. с, 3H, $\text{N}^+\text{H} + \text{N}^+\text{H}_2$), 7,27 (с, 1H, H-5), 6,91 (с, 1H, H-8), 3,84 (с, 3H, OCH ₃), 3,81 (с, 3H, OCH ₃), 3,75 (к, J 6,7 Гц, 2H, CONHCH_2), 3,41 (м, 8H, $4 \times \text{CH}_2$ пиперазина), 3,27 (т, J 6,1 Гц, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}$)
IVл	16,56 (с, 1H, 4-OH), 11,62 (с, 1H, 1-NH), 11,06 (уш. с, 1H, NH^+), 10,43 (т, J 5,8 Гц, 1H, CONH), 7,26 (с, 1H, H-5), 6,91 (с, 1H, H-8), 3,84 (с, 3H, OCH ₃), 3,81 (с, 3H, OCH ₃), 3,77 (м, 6H, $\text{CONHCH}_2 + \text{O}(\text{CH}_2)_2$), 3,43 (т, J 6,2 Гц, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3,24 (м, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ морфолина)
IVм	16,90 (с, 1H, 4-OH), 11,56 (с, 1H, 1-NH), 10,37 (т, J 6,0 Гц, 1H, CONH), 9,95 (уш. с, 1H, NH^+), 7,25 (с, 1H, H-5), 6,93 (с, 1H, H-8), 3,83 (с, 3H, OCH ₃), 3,80 (с, 3H, OCH ₃), 3,43 (к, J 6,4 Гц, 2H, CONHCH_2), 3,03 (т, J 7,2 Гц, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2,69 (с, 6H, 2CH_3), 1,96 (кв, J 7,6 Гц, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$)
IVн	16,89 (с, 1H, 4-OH), 11,57 (с, 1H, 1-NH), 10,37 (уш. с, 2H, $\text{CONH} + \text{NH}^+$), 7,27 (с, 1H, H-5), 6,91 (с, 1H, H-8), 3,84 (с, 3H, OCH ₃), 3,81 (с, 3H, OCH ₃), 3,44 (к, J 6,1 Гц, 2H, CONHCH_2), 3,06 (м, 6H, $\text{N}(\text{CH}_2)_3$), 1,96 (кв, J 7,9 Гц, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1,20 (т, J 7,3 Гц, 6H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$)
IVо	16,89 (с, 1H, 4-OH), 11,56 (с, 1H, 1-NH), 10,35 (т, J 5,8 Гц, 1H, CONH), 11,34 (уш. с, 1H, N^+H), 7,25 (с, 1H, H-5), 6,91 (с, 1H, H-8), 3,90 (м, 4H, CH_2OCH_2), 3,83 (с, 3H, OCH ₃), 3,80 (с, 3H, OCH ₃), 3,44 (к, J 6,4 Гц, 2H, NHCH_2), 3,35 – 2,97 (м, 6H, $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2)_2$), 2,03 (кв, J 7,7 Гц, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$)
IVп	16,88 (с, 1H, 4-OH), 11,57 (с, 1H, 1-NH), 10,62 (уш. с, 1H, NH^+), 10,35 (т, J 5,8 Гц, 1H, CONH), 7,24 (с, 1H, H-5), 6,92 (с, 1H, H-8), 3,83 (с, 3H, OCH ₃), 3,80 (с, 3H, OCH ₃), 3,42 (к, J 6,3 Гц, 2H, $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3,22 (м, 2H, 2-CH_2 пиперидина), 3,01 (т, J 8,0 Гц, 2H, $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2,84 (м, 2H, 6-CH_2 пиперидина), 2,02 (кв, J 7,9 Гц, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1,76 (м, 4H, $3,5\text{-CH}_2$ пиперидина), 1,39 (м, 2H, 4-CH_2 пиперидина)
IVр	16,89 (с, 1H, 4-OH), 11,56 (с, 1H, 1-NH), 10,35 (т, 1H, J 5,6 Гц, CONH), 9,86 (уш. с, 2H, $\text{N}^+\text{H} + \text{N}^+\text{H}_2$); 7,25 (с, 1H, H-5), 6,91 (с, 1H, H-8), 3,83 (с, 3H, OCH ₃), 3,80 (с, 3H, OCH ₃), 3,56 (м, 8H, 4CH_2 пиперазина), 3,44 (к, J 6,4 Гц, 2H, $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3,14 (т, J 7,4 Гц, 2H, $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2,79 (с, 3H, N-CH ₃), 2,01 (кв, J 7,6 Гц, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$)

Россия) вводили мышам внутрибрюшинно в дозе 100 мг/кг (эффективная доза мексидола [21]) в виде стерильных водных растворов. Контрольная группа животных получала изотонический раствор натрия хлорида. Через 1 ч всем подопытным животным подкожно вводили натрия нитрит в дозе 200 мг/кг, после чего вели наблюдение за продолжительностью их жизни по сравнению с контролем и действием мексидола.

Все результаты биологических испытаний обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента. Эффект считался статистически достоверным при $p \leq 0,05$.

Анализ приведенных в табл. 3 экспериментальных данных свидетельствует о том, что предпринятое нами с целью возможного усиления антигипоксических свойств удаление 1-N-аллильного заместителя в целом следует признать весьма удачным вариантом необратимой химической модификации исследуемых веществ. Подтверждением этому служит тот факт, что синтезированные соединения проявляют значительно более высокую активность, чем соответствующие им гидрохлориды диалкиламиноалкиламидов 1-аллил-4-гидрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты [16]. Наиболее активные из них способны продлевать жизнь подопытных животных в 3 – 7 раз по сравнению с контрольной группой, тогда как

у препарата сравнения мексидола в такой же дозе этот показатель превышает контрольные данные лишь вдвое.

На основании полученных результатов можно утверждать, что длина углеводородной цепочки, разделяющей амидный и четвертичный атомы азота в карбоксамидном фрагменте, на антигипоксических свойствах амидов IVa – p отражается неоднозначно. В одних случаях структурно однотипные амиды IVи, IVп или IVг и IVм — этильные производные — оказываются гораздо активнее пропиловых аналогов, а в других — амиды IVл и IVо или IVе и IVн — наблюдается обратная картина.

Усилению антигипоксического действия способствует удаление одного или двух алкильных заместителей, находящихся при терминальном атоме азота: 3-аминопропил- (IVа) и 2-этиламиноэтил- (IVб) амиды представляют собой гораздо более мощные антигипоксиканты, чем их замещенные аналоги с открытыми алкильными цепями. В то же время гидроксильная группа в моноэтильном фрагменте (амид IVв) полностью лишает молекулу активности.

Самым же благоприятным оказалось наличие при терминальном атоме азота циклоалкильных и особенно 6-членных гетероциклических заместителей, содержащих в качестве дополнительного гетероатома азот или кислород. Два соединения из всей группы изученных веществ, а именно 2-(пиперазин-1-ил)этил- (IVк) и 3-(морфолин-4-ил)пропил- (IVо) амиды продемонстрировали настолько высокий эффект, что в будущем могут претендовать на возможное применение в медицине.

Одной из важнейших характеристик всякого лекарственного вещества, безусловно, является его безопасность. Поэтому следующим этапом нашего исследования стало изучение острой токсичности отобранных по результатам биологического скрининга амидов IVк и IVо. Тестирование проведено на интактных белых мышках-самцах массой 18 – 23 г по 6 животных в серии с каждой дозой. Исследуемые вещества вводили внутрибрюшинно в виде водных растворов в дозах 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 и 3500 мг/кг (при высоких дозах в 2 – 3 приема с интервалом 10 мин). Количество выживших животных регистрировали каждые 24 ч в течение 14 сут. Среднесмертельные дозы (ЛД₅₀) рассчитывали по методу Кербера, а приближенные стандартные ошибки по Гэддаму [20]. В результате найдено, что по классификации К. К. Сидорова [22] амиды IVк и IVо относятся к V классу токсичности, т.е. практически нетоксичны (табл. 4). Следует все же отметить, что при этом 2-(пиперазин-1-ил)этиламид

Таблица 3
Антигипоксическая активность гидрохлоридов N-R-амидов 4-гидрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты (IVa-p) и мексидола на модели острой гемической гипоксии у мышей

Соединение	R	Антигипоксическая активность	
		Длительность жизни подопытных животных, мин	%
IVa	3-аминопропил	109,5 ± 4,5*	365
IVб	2-этиламиноэтил	110,2 ± 4,6*	367
IVв	2-(2-гидроксиэтиламино)этил	22,2 ± 1,4	74
IVг	2-диметиламиноэтил	57,9 ± 2,8	193
IVд	2-бутил(метил)аминоэтил	42,0 ± 1,9	140
IVе	2-диэтиламиноэтил	43,8 ± 1,9*	146
IVж	2-дипропиламиноэтил	25,8 ± 1,3	86
IVз	2-(тетрагидро-1H-пиррол-1-ил)этил	64,5 ± 2,8*	215
IVи	2-(пиперидин-1-ил)этил	121,8 ± 4,1*	406
IVк	2-(пиперазин-1-ил)этил	209,5 ± 5,8*	698
IVл	2-(морфолин-4-ил)этил	33,6 ± 1,6	112
IVм	3-диметиламинопропил	20,1 ± 1,3	67
IVн	3-диэтиламинопропил	52,2 ± 1,6*	174
IVо	3-(морфолин-4-ил)пропил	206,3 ± 5,4*	688
IVп	3-(пиперидин-1-ил)пропил	28,8 ± 1,6	96
IVр	3-(4-метилпиперазин-1-ил)пропил	30,6 ± 1,5	102
Мексидол	-	60,8 ± 3,2*	203
Контроль	-	30,0 ± 1,6	100

* — различия значений достоверны при $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таблица 4
Острая токсичность и средние эффективные дозы амидов IVк и IVо

Соединение	ЛД ₁₆ , мг/кг	ЛД ₅₀ , мг/кг	ЛД ₈₄ , мг/кг	ЕД ₅₀ , мг/кг
IVк	375	1267,4 ± 92,3	1998	67,9 ± 7,8
IVо	1484	2250,3 ± 127,6*	3107	53,4 ± 6,2

* — различия достоверны при $p < 0,05$ по сравнению с амидом IVк.

IVк значительно уступает по этому показателю 3-(морфолин-4-ил)пропиламиду IVо, среднесмертельная доза которого для мышей почти в 2 раза выше.

Средние эффективные дозы (ЕД₅₀) амидов IVк и IVо определяли на стандартной модели гипоксии с гиперкапнией (в замкнутом пространстве) [20] и рассчитывали по методу Кербера. Опыты проведены на белых мышках-самцах массой 18 – 23 г по 6 животных в серии с каждой дозой. Соединения вводили внутривенно в виде водных растворов в дозах 15, 20, 40, 60, 80 и 100 мг/кг за 30 мин до начала испытаний. Животные контрольной группы получали изотонический раствор хлорида натрия.

Оба вещества продемонстрировали довольно близкие результаты (табл. 4). Однако предпочтение отдано 3-(морфолин-4-ил)пропиламиду IVо, который проявил антигипоксический эффект в несколько меньшей дозе и после этого теста еще больше укрепил свои позиции в качестве структуры-лидера.

Таким образом, по результатам проведенного нами химико-биологического исследования выявлен гидрохлорид 3-(морфолин-4-ил)пропиламида 4-гидрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты, который будучи практически нетоксичным веществом проявляет высокую антигипоксическую активность, благодаря чему может быть рекомендован для дальнейших фармакологических испытаний в качестве потенциального антигипоксанта нового химического класса.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. В. Оковитый, А. В. Смирнов, *Эксперим. клин. фармакол.*, **64**(3), 76 – 80 (2001).
2. П. А. Бакумов, Е. В. Богачева, Е. Н. Лихоносова, *Вестн. ВолГМУ*, № 3, 38 – 40 (2008).
3. О. И. Клиндухова, О. Е. Новгородов, Н. Н. Сергиенко и др., *Применение мексидола в urgentной наркологии*, Наука, Санкт-Петербург (2006).
4. В. В. Абрамченко, *Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве: Оксидативный стресс в акушерстве и его терапия антиоксидантами и антигипоксантами*, ДЕАН, Санкт-Петербург (2001).

5. Н. А. Георгиади, Д. К. Льянова, Т. В. Георгиади и др., *Рос. стоматол. ж.*, № 2, 15 – 17 (2011).
6. В. Е. Рыженков, В. Г. Макаров, А. Е. Александрова, *Тез. докл. 9 Междунар. съезда “Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения” (ФИТОФАРМ 2005)*, Санкт-Петербург (2005), сс. 126 – 134.
7. О. Д. Остроумова, В. И. Шмырев, Л. С. Боброва, *Рус. мед. ж.*, **15**(9), 704 – 706 (2007).
8. М. А. Демидова, Н. А. Шадохина, С. Я. Шнеур, А. А. Ковтун, *Фармация (Россия)*, № 5, 35 – 37 (2006).
9. С. В. Кузнецова, Т. Е. Потемина, Д. И. Рыжаков, *Актуальные вопросы андрологии: Межвузовский сборник научных трудов, посвященный 40-летию Военно-медицинского института ФСБ РФ*, Воен.-мед. ин-т ФСБ России, Н. Новгород (2006), сс. 40 – 43.
10. Е. И. Климкина, В. Е. Новиков, А. О. Пономарева, Л. А. Ковалева, *Материалы конф. “Фармация и общественное здоровье”*, Екатеринбург (2008), сс. 173 – 175.
11. Л. М. Макарова, В. Е. Погорельский, *Эксперим. клин. фармакол.*, **76**(7), 11 – 14 (2013).
12. Н. С. Lin, W. L. Yang, J. L. Zhang, et al., *Asian J. Androl.*, **15**(3), 387 – 390 (2013).
13. T. V. Sanikidze, M. Beridze, N. Mitagvaria, et al., *Int. J. Neurosci.*, **123**(2), 104 – 113 (2013).
14. I. Toma-Dasu, J. Uhrdin, L. Antonovic, et al., *Acta Oncol.*, **51**(2), 222 – 230 (2012).
15. V. Poroikov and D. Filimonov, *Computer-aided prediction of biological activity spectra. Application for finding and optimization of new leads. Rational Approaches to Drug Design*, H.-D. Holtje and W. Sippl (eds.), Prous Science, Barcelona (2001), pp. 403 – 407.
16. О. В. Моспанова, I. В. Українець, О. О. Давиденко, *Вісник фармації*, № 2, 77 – 78 (2010).
17. Г. Кубинь, *Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева)*, **L**(2), 5 – 17 (2006).
18. I. V. Ukrainets, S. G. Taran, O. V. Gorokhova, et al., *Chem. Heterocycl. Comp.*, **32**(8), 952 – 959 (1996).
19. I. V. Ukrainets, O. V. Bevz, E. V. Mospanova, et al., *Chem. Heterocycl. Comp.*, **48**(2), 320 – 326 (2012).
20. Л. Н. Сернов, В. В. Гацура, *Элементы экспериментальной фармакологии*, ППП “Типография “Наука”, Москва (2000).
21. А. И. Курбанов, Н. Н. Самойлов, Е. Н. Стратиевко и др., *Психофармакол. биол. наркол.*, **6**(1 – 2), 1164 – 1170 (2006).
22. К. К. Сидоров, в: *Токсикология новых промышленных химических веществ*, Вып. 13, Медицина, Москва (1973), сс. 47 – 51.

Поступила 12.01.14

SYNTHESIS AND ANTIHYPOXIC ACTIVITY OF 4-HYDROXY-6,7-DIMETHOXY-2-OXO-1,2-DIHYDROQUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACID N-R-AMIDE HYDROCHLORIDES

I. V. Ukrainets¹, Ye. V. Mospanova², and A. A. Davidenko³

¹ National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

² Chemical Technologies Institute, Vladimir Dal' Eastern-Ukrainian National University, Rubizhne, Ukraine

³ N. I. Pirogov Vinnitsa National Medical University, Vinnitsa, Ukraine

To find new biologically active substances with the antihypoxic action, we have carried out the reaction of methyl 4-hydroxy-6,7-dimethoxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate with dialkylaminoalkylamines and synthesized a series of N-R-amides isolated as hydrochlorides readily soluble in water. According to the results of the primary pharmacological screening, the structural and biological relationships that are important for further studies have been found. Being practically non-toxic substances, some of the amides obtained exhibited a high antihypoxic effect. One of these compounds, namely, 4-hydroxy-6,7-dimethoxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acid 3-(morpholin-4-yl)propylamide hydrochloride, has been recommended for profound pharmacological research as a promising antihypoxant.

Keywords: 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamides; synthesis; amidation; antihypoxic activity