

СИНТЕЗ И ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N-АДАМАНТОИЛЗАМЕЩЕННЫХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ АМИНОВ И АНИЛИНОВ

© 2004 В.А. Ермохин, П.П. Пурыгин,¹ Н.А. Кленова²

С целью получения фармакологически активных соединений синтезированы и изучены адамантансодержащие амиды и амины. Некоторые из проверенных на гемолитическую активность N-адамантоилзамещенные амины показали достоверно меньшее повреждающее действие по сравнению с амантадином (1-аминоадамантаном) и являются перспективной группой соединений для экспериментального изучения их биологической активности.

Введение

Среди адамантансодержащих органических соединений значительный интерес представляют амиды адамантанкарбоновой кислоты, которые обладают вирусингибирующим действием [1–3], а адамантиламиды пиридинкарбоновых кислот — противовоспалительным и жаропонижающим действием [4], но при этом они проявляют достаточно высокую токсичность. Одним из лекарственных средств против вируса гриппа А и В является 2-(адамант-2-ил)пиперидин [5]. Замещенные амиды адамантанкарбоновой кислоты могут служить снотворными средствами [6]. Выраженной психостимулирующей активностью обладает 4-адамантоиламино-3-адамантоилокси-6-метил-2-этилпиридин, полученный при проведении ацилирования 4-амино-3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридина хлорангидридом 1-адамантанкарбоновой кислоты [7]. Следует также отметить медицинский препарат тромантадин — гидрохлорид N-(адамантил-1)-2-(2-диметиламиноэтокси)ацетамида, используемый для снижения свертывающей способности крови [8]. С целью получения фармакологически активных соединений синтезированы и изучены адамантансодержащие амиды и амины. Некоторые из приведенных соединений, изучаемых на гемолитическую активность, синтезированы нами ранее [9].

¹Владимир Анатольевич Ермохин (ermohin@ssu.samara.ru), Петр Петрович Пурыгин, кафедра органической химии Самарского государственного университета, 443011, Россия, Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

²Наталья Анатольевна Кленова, кафедра биохимии Самарского государственного университета, 443011, Россия, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

1. Синтез адамантилсодержащих производных анилинов, аминопиридинов и аминохинолинов

В качестве исходных веществ для синтеза были использованы хлорангидрид 1-адамантанкарбоновой кислоты (I) и соответствующие замещенные анилины, аминопиридины и аминохинолины. Были получены следующие соединения (II–XIV) (схема 1).

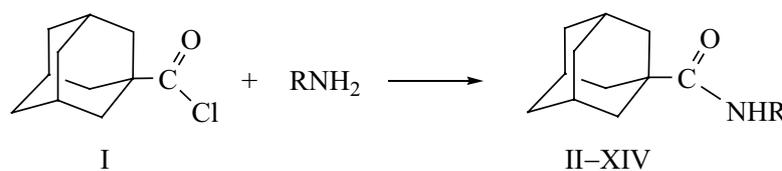


Схема 1. R = 2-нитрофенил (II), 3-нитрофенил (III), 4-нитрофенил (IV), 2,6-дихлор-4-нитрофенил (V), 4-бромфенил (VI), 4-карбоэтоксифенил (VII), 5-бромпиридин-2-ил (VIII), пиридин-2-ил (IX), пиридин-3-ил (X), пиридин-4-ил (XI), хинолин-4-ил (XII), хинолин-6-ил (XIII), 4-метил-2-нитрофенил (XIV)

Амиды II–VII, XIV синтезированы в среде абсолютного толуола действием хлорангидрида и двойном избытке амина. Амиды VIII–XIII получены в среде абсолютного бензола (либо диэтилового эфира) в присутствии триэтиламина. Контроль реакции осуществлялся по ТСХ.

При гидрировании *N*-(1-адамантоил)-4-броманилина получен *N*-(1-адамантилметил)-4-броманилин (XV) (схема 2). Восстановлением литийалюмогидридом в диэтиловом эфире провели гидрирование карбонильной группы до метиленовой.

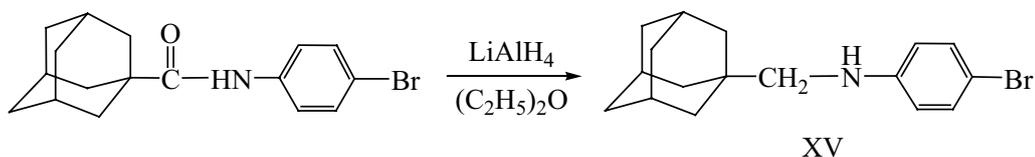


Схема 2. Состав и строение синтезированных соединений II–XV подтвержден физико-химическими данными (табл. 1 и 2)

В ИК спектрах соединений II–XIV наблюдается поглощение 1610–1700 см^{-1} и 3480–3270 см^{-1} , отвечающее валентным колебаниям связей N–H и C=O амидных групп. В спектрах ПМР характерны три сигнала протонов каркаса адамантана в области 1.65–1.80 (6H), 1.80–2.07 (6H) и 1.89–2.15 м.д. (3H). Также характерен протон амидной группы 9.05–9.89 (1H).

Таблица 1

	Т.пл.	Вых.	ИК спектр, ν , cm^{-1}			Спектр ПМР δ , м.д., от ТМС	
			CH_2	CO-NHR		H_{Ad}	$\text{H}_{\text{Ar(Het)}}$, $\text{H}_{\text{(NH)}}$
II	117– 120	75%	2910 2860	3490 3360	1690 1620	1.70c (6H, CH_2) 1.90c (6H, CH_2) 2.03c (3H, CH)	7.35т (1H, Ar) 7.69т (1H, Ar) 7.95д (1H, Ar) 8.00д (1H, Ar) 9.89c (1H, NH)
III	155– 157	70%	2910 2860	3450 3320	1680 1630	1.70c (6H, CH_2) 1.92c (6H, CH_2) 2.02c (3H, CH)	7.57т (1H, Ar) 7.88д (1H, Ar) 8.10д (1H, Ar) 8.65c (1H, Ar) 9.57c (1H, NH)
IV	158– 160	54%	2910 2860	3490 3360	1680 1630	1.70c (6H, CH_2) 1.92c (6H, CH_2) 2.02c (3H, CH)	7.95м (4H, Ar) 9.62c (1H, NH)
V	135– 137	47%	2910 2860	3490 3370	1690 1640	1.65c (6H, CH_2) 1.80c (6H, CH_2) 1.95c (3H, CH)	8.12м (2H, Ar) 9.05 (1H, NH)
VI	221– 225	69%	2910 2860	3300 1630	1680 1630	1.69c (6H, CH_2) 1.89c (6H, CH_2) 2.00c (3H, CH)	7.43д (2H, Ar) 7.62д (2H, Ar) 9.14c (1H, NH)
VII	186– 188	82%	2910 2860	3310 1630	1680 1630	1.70c (6H, CH_2) 1.91c (6H, CH_2) 2.01c (3H, CH)	1.30т (3H, CH_3) 4.27к (2H, CH_2) 7.84к (4H, Ar) 9.36c (1H, NH)
VIII	127– 130	82%	2910 2860	3310 1630	1630	1.70c (6H, CH_2) 1.91c (6H, CH_2) 2.02c (3H, CH)	2.50c (3H, COCH_3) 7.86к (4H, Ar) 9.41c (1H, NH)
IX	112– 114	87%	2915 2870	3300 1610	1690 1610	1.70c (6H, CH_2) 1.92c (6H, CH_2) 2.00c (3H, CH)	8.00к (2H, Het) 8.42c (1H, Het) 9.77c (1H, NH)
X	115– 118	90%	2910 2860	3300 1670	1670	1.70c (6H, CH_2) 1.94c (6H, CH_2) 2.00c (3H, CH)	7.08т (1H, Het) 7.76т (1H, Het) 8.04д (1H, Het) 8.30д (1H, Het) 9.49c (1H, NH)
XI	205– 207	57%	2860 2900	3480 3300	1660	1.75c (6H, CH_2) 1.96c (6H, CH_2) 2.09c (3H, CH) (CDCl_3)	7.26т (1H, Het) 8.21д (1H, Het) 8.32д (1H, Het) 8.54c (1H, Het) 9.55c (1H, NH)
XII	155– 157	70%	2910 2860	3270 1700	1610 1700	1.80c (6H, CH_2) 2.07c (6H, CH_2) 2.15c (3H, CH) (CDCl_3)	7.26т (1H, Het) 7.73т (1H, Het) 8.16д (1H, Het) 8.18 (1H, Het) 8.35д (1H, Het) 8.85д (1H, Het) 9.72c (1H, NH)

Таблица 2

	Т.пл	Вых	ИК спектр, ν , см^{-1}			Спектр ПМР δ , м.д., от ТМС	
			CH ₂	CO-NHR		H _{Ad}	H _{Ar(Het)} , H _{NH}
XIII	230	74%	2910 2860	3330	1650 1560	1.66с (6H, CH ₂) 1.71с (6H, CH ₂) 1.98с (3H, CH) ДМСО 400 МГц	3.08т (2H, CH ₂) 7.30т (1H, NH)
XIV	127– 128	67%	2910 2890	3380	1710 1640	1.70с (6H, CH ₂) 1.90с (6H, CH ₂) 2.03с (3H, CH)	2.44с (3H, CH) 7.35д (1H, Ar) 7.95с (1H, Ar) 8.00д (1H, Ar) 9.85с (1H, NH)
XV	110– 112	59%	2930 2890	3500 1610 (NH ₂)		1.55с (6H, CH ₂) 1.66к (6H, CH ₂) 1.97с (3H, CH)	2.69с (2H, CH ₂) 3.25т (1H, NH) 6.57д (2H, Ar) 7.12д (2H, Ar)

2. Гемолитическое действие синтезированных соединений

При изучении гемолитической активности приведенных соединений было выявлено, что наибольшей гемолитической активностью отличается известный препарат 1-аминоадамантан (амантадин, XVI), остальные изученные производные дают процент гибели клеток, достоверно не превышающий таковой для растворителя (табл. 3). Кроме того, следует отметить явную тенденцию к уменьшению процента гемолизированных клеток. А введение ацетильной группы и использование вещества в виде гидрохлорида приводит к достоверному снижению повреждающего действия по сравнению с 1-аминоадамантаном. В табл. 3 представлена степень токсичности некоторых соединений, выраженная в % гемолизированных клеток.

Введение атома брома в амид практически не влияет на токсичность соединений. Введение в ароматическое кольцо атома азота уменьшает токсичность соединения. Изменение положения азота из *орто*- в *мета*- в пиридиновом кольце от амидной группы вызывает небольшое снижение токсичности. Таким образом, синтезированные N-адамантоилзамещенные амины являются перспективной группой соединений для экспериментального изучения их биологической активности, так как их повреждающее действие сказывается меньше применяемых в настоящее время соединений.

3. Экспериментальная химическая часть

Строение полученных амидов и аминов доказано данными ЯМР ¹H и ИК спектроскопии. ИК спектры синтезированных соединений снимали на спектрофотометре ИКС-29 в таблетках из KBr. Спектры ЯМР получены на

Таблица 3

Соединение	Процент гемолизированных клеток
XVI 1-аминоадамantan	38,97±1,83
DMCO (растворитель)	33,26±2,66
IX N-(1-адамantoил)-2-аминопиридин	33,55±2,32
X N-(1-адамantoил)-3-аминопиридин	32,36±3,71
VIII N-(1-адамantoил)-2-амино-5-бромпиридин	33,73±2,60
XV N-(1-адамантилметил)-4-броманилин	32,76±2,84
VI N-(1-адамantoил)-4-броманилин	35,26±2,60
XVII 1-адамantoилметиламмоний хлорид	28,24±3,04*P<0,05

приборе Bruker WP-200 SY (рабочая частота 200.13 МГц). В качестве растворителя применяли DMCO-d₆, CD₃CN, CDCl₃. Отсчет химических сдвигов проводили относительно сигнала TMS. Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках Silufol UV.

Соединения II–VII, XIV получены с использованием двойного избытка амина. К толуольным растворам замещенных анилинов, полученным при растворении 4 ммоль амина в 20 мл толуола, добавляли по каплям раствор 0,4 г (2 ммоль) хлорангидрида 1-адамantanкарбоновой кислоты в 10 мл бензола при активном перемешивании реакционной массы. Реакционную смесь нагревали от 2 до 18 часов. Охлаждали до 2 °С. Оставляли при данной температуре до выпадения гидрохлорида амина. Далее фильтровали от гидрохлорида амина на мелкопористом фильтре Шотта. Упаривали фильтрат. После упаривания растворителя вещества перекристаллизовывали из гексана и дополнительно очищали методом флаш-хроматографии на сухой колонке. Выходы составляют от 47 до 82%.

Соединения VIII–XIII. К бензольным растворам аминопиридинов (аминохинолинов) и триэтиламина, полученным при растворении 3 ммоль амина и 3 ммоль триэтиламина в 40 мл бензола, добавляли по каплям раствор 0,595 г (3 ммоль) хлорангидрида 1-адамantanкарбоновой кислоты в 20 мл бензола при перемешивании. Реакционную смесь перемешивали при нагревании в течении 8 ч. Охлаждали до 2 °С. Фильтровали от гидрохлорида триэтиламина. Осадок промывали. Фильтрат упаривали, очищали хроматографией на сухой колонке. Элюент — этилацетат. Выходы составляют от 57 до 90%.

4. Экспериментальная биологическая часть

Биологическую токсичность исследуемых соединений изучали по их гемолитической активности по следующей методике: контрольные и опытные пробы инкубировали в течение 5 минут при 37 °С. Каждая опытная проба содержала 5 мл 0,154 М раствор хлорида натрия (рН 7,2); 20 мкл исследуемого вещества, растворенного в ДМСО, и 20 мкл цельной крови. Контрольная проба исследуемого вещества не содержала. После окончания инкубации пробы центрифугировали в режиме 600 g 10 минут и измеряли оптическую плотность надосадочной жидкости при $\lambda = 540$ нм (общий максимум для гемоглобина) и толщине поглощающего слоя 1 см (D_1). Затем пробы подвергали полному гемолизу с помощью добавления тритона X-100 20% (водный раствор) в количестве 0,1 мл для каждой пробы и тщательного перемешивания. Проводили измерение оптической плотности надосадочной жидкости проб при той же длине волны (D_2). Измерения проводили на фотоколориметре КФК-3. Степень гемолиза выражали в % погибших клеток к общему количеству:

$$\% \text{ гемолизированных клеток} = (D_1/D_2) \times 100\%.$$

Литература

- [1] Ковтун В.Ю., Плахотник В.М. // Хим.-фарм. журн. 1987. №8. С. 931–940.
- [2] Галегов Г.А., Петрова И.Г., Леонтьева Н.А. и др. / Науч. конф по химии полиэдранов: Тез. докладов. Волгоград, 1981. С. 58.
- [3] Даниленко Г.И., Вотяков В.И., Андреева О.Т. и др. // Хим.-фарм. журн. 1976. №7. С. 60–62.
- [4] Даниленко Г.И., Мохорт Н.А., Тринус Ф.П. // Хим.-фарм. журн. 1976. №8. С. 51–53.
- [5] Kolocouris A., Tataridis D., Fytas G. et al. // Bioorg. and Med. Chem. Lett. 1999. P. 3465–3470.
- [6] Севастьянова В.В., Краюшкин М.М., Юрченко А.Г. // Успехи химии. 1970. Т. 39. Вып. 10. С. 1721–1753.
- [7] Климова Н.В., Зайцева Н.М., Авдюнина Н.И. и др. // Хим.-фарм. журн. 1990. №1. С. 26–28.
- [8] Регистр лекарственных средств России // РЛС. 2003. Вып. 10. С. 850.
- [9] Ермохин В.А., Пурьгин П.П. // Известия вузов. Сер. Химия и химическая технология. 2003. Т. 46. С. 111–112.

Поступила в редакцию 19/V/2004;
в окончательном варианте — 19/V/2004.

**SYNTHESIS AND HAEMOLYTIC ACTIVITY OF
1-ADAMANTOYL DERIVATIVES OF HETEROCYCLIC
AMINES AND ANILINES**

© 2004 V.A. Ermokhin, P.P. Purygin,³ N.A. Klenova⁴

1-Adamantoylamides and 1-adamantylmethyl-4-bromoaniline are synthesized and tested on haemolytic activity. Some of tested 1-adamantoylamides show realistically smaller damaging action in comparing with amantadine and are perspective for experimental analysis of their biological activity.

Paper received 19/V/2004.

Paper accepted 19/V/2004.

³Ermokhin Vladimir Anatolievich (ermohin@ssu.samara.ru), Purygin Pyotr Petrovich, Dept. of Organic Chemistry, Samara State University, Samara, 443011, Russia.

⁴Nataliya Anatolievna Klenova, Dept. of Biochemistry, Samara State University, Samara, 443011, Russia.