

## Синтез и анальгетическая активность производных бис(3,4-дигидрохиноксалин-2(1H)-она) и бис(3,4-дигидро-2H-1,4-бензоксазин-2-она)

Иван В. Кулаков<sup>1\*</sup>, Анастасия А. Карбаинова<sup>1</sup>, Зарина Т. Шульгау<sup>2</sup>, Тулеген М. Сейлханов<sup>3</sup>, Юрий В. Гатилов<sup>4,5</sup>, Александр С. Фисюк<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup> Омский государственный университет им. Ф. М. Достоевского, пр. Мира, 55а, Омск 644077, Россия; e-mail: kulakov@chemotmsu.ru

<sup>2</sup> Республиканское государственное предприятие "Национальный центр биотехнологии" Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, Шоссе Кургальжинское, 13/5, Астана 010000, Казахстан; e-mail: shulgau@biocenter.kz

<sup>3</sup> Кокшетауский государственный университет им. Ш. Уалиханова, ул. Абая, 76, Кокшетау 020000, Казахстан; e-mail: tseilkhanov@mail.ru

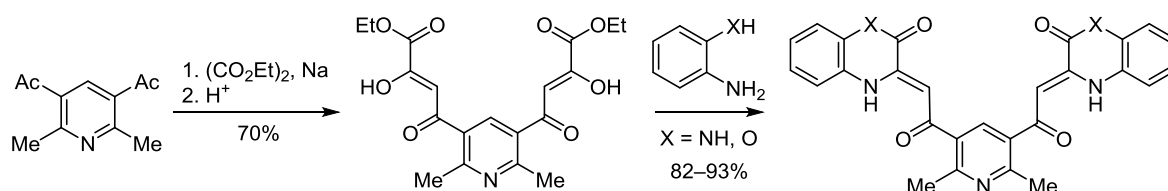
<sup>4</sup> Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН, пр. Академика Лаврентьева, 9, Новосибирск 630090, Россия; e-mail: gatilov@nioch.nsc.ru

<sup>5</sup> Новосибирский государственный университет, ул. Пирогова, 2, Новосибирск 630090, Россия

<sup>6</sup> Лаборатория новых органических материалов, Омский государственный технический университет, пр. Мира, 11, Омск 644050, Россия; e-mail: fisyuk@chemotmsu.ru

Поступило 13.07.2017

Принято 11.08.2017



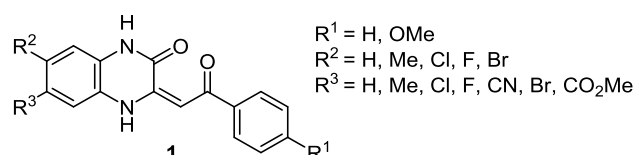
Сложноэфирной конденсацией 3,5-диацетил-2,6-диметилпиридина с избытком диэтилоксалата был получен 4,4'-(2,6-диметилпиридин-3,5-диил)бис(2-гидрокси-4-оксобут-2-еноат). Показано, что синтезированный гидроксиэфир легко взаимодействует с *o*-фенилендиамином и *o*-аминофенолом с образованием производных бис(3,4-дигидрохиноксалин-2(1H)-она) и бис(3,4-дигидро-2H-1,4-бензоксазин-2-она), которые в эксперименте *in vivo* показали анальгетическую активность в ряде случаев выше, чем у препарата сравнения – анальгина.

**Ключевые слова:** 3,5-диацетил-2,6-диметилпиридин, 3,4-дигидро-2H-1,4-бензоксазин-2-он, 3,4-дигидрохиноксалин-2(1H)-он, анальгетическая активность, рентгеноструктурный анализ.

Известно, что производные пиперазин-2-она и хиноксалин-2-она обладают высокой анальгетической, противовоспалительной, спазмолитической, противосудорожной и другими видами биологической активности.<sup>1-5</sup> Например, соединения **1**, содержащие 3,4-дигидрохиноксалиноновый фрагмент, проявляют хорошие нейрозащитные свойства и могут с успехом применяться для лечения расстройств центральной нервной системы (рис. 1).<sup>6</sup>

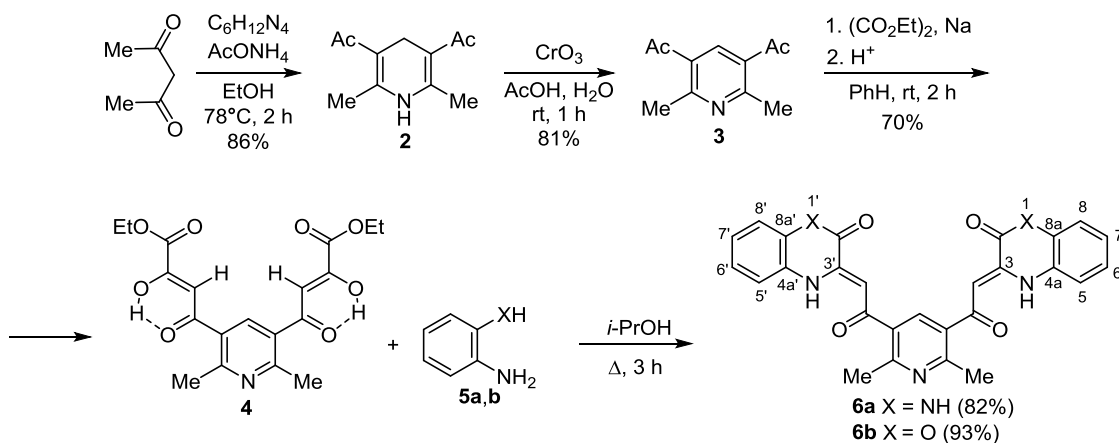
Производные хиноксалин-2-она и его структурного аналога – бензо[1,4]оксазин-2-она – получают взаимодействием ароилпируватов с *o*-фенилендиамином или *o*-аминофенолом.<sup>3-5</sup> С целью получения новых про-

изводных этих соединений, представляющих интерес в качестве потенциальных биологически активных веществ, нами осуществлен синтез ранее неизвестного диэтил 4,4'-(2,6-диметилпиридин-3,5-диил)бис(2-гидрокси-4-оксо-бут-2-еноата) (**4**). Исходным соединением для



**Рисунок 1.** Производные хиноксалин-2-она, обладающие нейрозащитными свойствами.

## Схема 1



его синтеза послужил 3,5-диацетил-2,6-диметилпиридин (**2**), доступный конденсацией ацетилацетона, уротропина и ацетата аммония (реакцией Ганча) с последующим окислением образующегося 1,4-дигидропиридина **2**<sup>7,8</sup> хромовым ангидридом в уксусной кислоте (схема 1).

Диэтил-(2*Z*,2'*Z*)-4,4'-(2,6-диметилпиридин-3,5-диил)бис-(2-гидрокси-4-оксобут-2-еноат) (**4**) получен с выходом 70% взаимодействием пиридина **3** с 4-кратным избытком диэтилоксалата (для предотвращения возможного образования монопродукта) в бензоле (схема 1). Необходимо отметить, что подобная конденсация ранее была реализована для 1,3-диацетилбензолов.<sup>9</sup> В последнее время интерес к соединениям такого типа (бис-β-дикетонам и их производным, в том числе пиридинового ряда) существенно вырос в связи с их использованием в качестве лигандов для синтеза люминесцентных комплексов, металлоциклофанов и других супрамолекулярных структур, которые используются в органической электронике, для визуализации биологических объектов и т. д.<sup>10–12</sup>

Структура полученного соединения **4** подтверждена спектрами ЯМР <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C и рентгеноструктурным анализом.

Примечательно, что полученный диэфир **4** как в растворе (в CDCl<sub>3</sub> по данным спектроскопии ЯМР <sup>1</sup>H), так и в кристаллическом состоянии (рис. 2), в отличие от многих простых дикетонов,<sup>13</sup> находится на 100% в енольной форме. В кристалле соединения **4** заместители в положении C(3) и C(5) выведены из плоскости пиридинового цикла. Торсионные углы C(4)–C(5)–C(9)–C(10) и C(4)–C(3)–C(9')–C(10') равны –40.3 и –30.7° соответственно. В близком аналоге этого соединения, этил 4-(2,6-диметоксифенил)-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноате,<sup>14</sup> этот угол достигает 62.9°. Отметим, что в молекуле **4** между карбонильными группами и гидроксильными группами енольного фрагмента образуются прочные внутримолекулярные водородные связи O(2)–H···O(1) и O(2')–H···O(1') с расстояниями H···O 1.88(3) и 1.78(3) Å.

Диэтил-(2*Z*,2'*Z*)-4,4'-(2,6-диметилпиридин-3,5-диил)бис-(2-гидрокси-4-оксобут-2-еноат) **4** был введен во взаимодействие с *o*-фенилендиамином (**5a**) и *o*-амино-

фенолом (**5b**), в результате которого были получены ранее неизвестные производные 3,4-дигидрохиноксалин-2(1*H*)-она **6a** и 3,4-дигидро-2*H*-1,4-бензоксазин-2-она **6b** (схема 1).

Полученные бис(3,4-дигидрохиноксалин-2(1*H*)-он) **6a** и бис(3,4-дигидро-2*H*-1,4-бензоксазин-2-он) **6b** представляют собой ярко-желтые и оранжевые кристаллы, труднорастворимые в органических растворителях.

Строение синтезированных соединений **6a,b** подтверждено элементным анализом, данными спектров ИК, ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C.

С учетом литературных данных об анальгетической активности производных хиноксалин-2(1*H*)-она нами были проведены биологические испытания соединений **6a,b**. Для изучения анальгетического действия была использована модель боли – "уксуснокислые корчи", вызванные внутрибрюшинным введением уксусной кислоты лабораторным мышам. Анальгетический эффект оценивали по уменьшению количества судорог (корчей) в процентах к контролю.

Результаты скрининга соединений **6a,b** на предмет наличия анальгетической активности приведены в

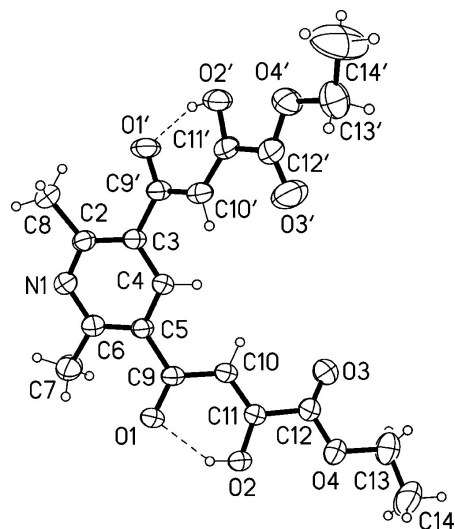


Рисунок 2. Строение молекулы **4** в представлении атомов эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью.

**Таблица 1.** Анальгетическая активность соединений **6a, b** в тесте "уксуснокислых корчей"

Соединение (дозировка)	Количество корчей за 15 минут	Уменьшение количества корчей в % к контролю
<b>6a</b> (100 мг/кг)	38.2 ± 5.2	31.5
<b>6b</b> (100 мг/кг)	44.8 ± 6.9	19.7
Метамизол натрия (100 мг/кг)	45.0 ± 6.8	19.4
Контроль (животные без лечения)	55.8 ± 5.8	–

табл. 1. Соединение **6a** способствует уменьшению количества корчей на 31.5%, что в 1.6 раза превышает значения препарата сравнения (метамизола натрия, или анальгина), уменьшающего количество корчей только на 19.4%. Соединение **6b** способствует уменьшению количества корчей на 19.7%, что сравнимо с анальгином.

Таким образом, сложноэфирной конденсацией 3,5-ди-ацетил-2,6-диметилпиридина с избытком диэтил-оксалата был получен диэтил-(2*Z*,2'*Z*)-4,4'-(2,6-диметилпиридин-3,5-диил)бис(2-гидрокси-4-оксобут-2-еноат), который взаимодействует с *o*-фенилендиамином и *o*-аминофенолом с образованием производных бис-3,4-дигидрохиноксалин-2(1*H*)-она и бис-3,4-дигидро-2*H*-1,4-бензоксазин-2-она. Биологические испытания показали, что анальгетическая активность синтезированных соединений в ряде случаев выше, чем у препарата сравнения – анальгина.

### Экспериментальная часть

ИК спектры зарегистрированы на фурье-спектрометре ФТ-801 в таблетках КВг. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C зарегистрированы на приборе Jeol JNM-ECA 400 (400 и 100 МГц соответственно) в CDCl<sub>3</sub> или DMSO-*d*<sub>6</sub>, внутренний стандарт ТМС или остаточные сигналы дейтерорастворителя. Сигналы атомов углерода отнесены с использованием метода АРТ с учетом известного диапазона химических сдвигов атомов углерода, входящих в структуры функциональных групп.<sup>15</sup> Элементный анализ выполнен на приборе Carlo Erba 1106 CHN. Температуры плавления определены на столике Кофлера.

**1,1'-(1,4-Дигидро-2,6-диметилпиридин-3,5-диил)диэтанон (2)** синтезирован по методике работы.<sup>16</sup>

**1,1'-(2,6-Диметилпиридин-3,5-диил)диэтанон (3).** К суспензии 10.0 г (50 ммоль) 1,4-дигидропиридина **2** в 25 мл ледяной уксусной кислоты при интенсивном перемешивании добавляют 7.5 г (75 ммоль) хромового ангидрида в 10 мл воды с такой скоростью, чтобы температура реакционной среды не превышала 30 °С. После добавления хромового ангидрида реакционную смесь перемешивают в течение 1 ч при комнатной температуре, затем выливают в стакан со льдом и нейтрализуют водным раствором аммиака. После охлаждения осадок отфильтровывают, промывают ледяной водой, сушат на воздухе и перекристаллизо-

вывают из гексана. Выход 8.0 г (81%), белые кристаллы, т. пл. 69–70 °С (т. пл. 68–70 °С<sup>17</sup>).

**Диэтил-(2*Z*,2'*Z*)-4,4'-(2,6-диметилпиридин-3,5-диил)бис(2-гидрокси-4-оксобут-2-еноат) (4).** К раствору 4.0 г (20 ммоль) 3,5-диацетил-2,6-диметилпиридина **3** в 60 мл бензола приливают 11.7 г (80 ммоль) диэтилоксалата и при перемешивании вносят 1.2 г (50 ммоль) натрия. После растворения натрия, перемешивают еще 2 ч. Затем осадок натриевой соли отфильтровывают, промывают бензолом, сушат. Растворяют осадок в теплой воде, фильтруют через бумажный фильтр и подкисляют разбавленной соляной кислотой до появления хлопьевидного осадка. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой и сушат. Перекристаллизовывают из смеси гексан–хлороформ, 2:1. Выход 5.7 г (70%), красно-оранжевые игольчатые кристаллы, т. пл. 105–106 °С (гексан–хлороформ, 2:1). ИК спектр, ν, см<sup>-1</sup>: 3098 (ОН), 2996 (С–Н), 1731, 1622 (С=О), 1250 (С–О). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): 1.42 (6H, т, *J* = 7.1, 2OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2.80 (6H, с, 2,6-CH<sub>3</sub>); 4.41 (4H, к, *J* = 7.1, 2OCH<sub>2</sub>); 6.82 (2H, с, 2=CH); 8.11 (1H, с, Н-4). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д.: 14.1 (2CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 24.5 (2,6-CH<sub>3</sub>); 62.9 (2OCH<sub>2</sub>); 101.4 (2=CH); 128.9 (C-3,5 Py); 136.8 (C-4 Py); 160.3 (2 COO); 161.7 (C-2,6 Py); 169.7 (2=C–ОН); 192.3 (2C=O).

**(3*Z*,3'*Z*)-3,3'-[(2,6-Диметилпиридин-3,5-диил)бис(2-оксоэтан-2-ил-1-илиден)]бис(3,4-дигидрохиноксалин-2(1*H*)-он) (6a).** Смесь 391 мг (1 ммоль) пирувата **4** и 216 мг (2 ммоль) *o*-фенилендиамина в 10 мл 2-пропанола кипятят при перемешивании в течение 3 ч. Раствор с выпавшим осадком ярко-желтого цвета охлаждают, отфильтровывают, осадок промывают 2-пропанолом и перекристаллизовывают из смеси 2-пропанол–хлороформ. Выход 393 мг (82%), ярко-желтые кристаллы, т. пл. >330 °С. ИК спектр, ν, см<sup>-1</sup>: 3175 (N–H), 2922 (C–H), 1688, 1609 (C=O). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): 2.66 (6H, с, 2,6-CH<sub>3</sub>); 6.46 (2H, с, 2=CH); 7.13–7.18 (6H, м, Н-5,5',6,6',7,7' Ar); 7.54 (2H, д, *J* = 4.6, Н-8,8' Ar); 8.05 (1H, с, Н-4); 12.06 (2H, уш. с, 2NH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, м. д.: 23.6 (CH<sub>3</sub>-2,6); 92.5 (2=CH); 115.4; 116.7; 123.7; 123.9 (C-4a,4a'); 124.2; 126.8 (C-8a,8a'); 132.4 (C-3,5 Py); 135.1 (C-4 Py); 145.4 (C-3,3'); 155.5; 156.6; 190.8 (2C=O). Найдено, %: С 68.01; Н 4.73; N 14.26. C<sub>27</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>. Вычислено, %: С 67.63; Н 4.41; N 14.61.

**(3*Z*,3'*Z*)-3,3'-[(2,6-Диметилпиридин-3,5-диил)бис(2-оксоэтан-2-ил-1-илиден)]бис(3,4-дигидро-2*H*-1,4-бензоксазин-2-он) (6b)** получают из 391 мг (1 ммоль) пирувата **4** и 218 мг (2 ммоль) *o*-аминофенола аналогично методике получения соединения **6a**. Выход 449 мг (93%), оранжевые кристаллы, т. пл. 266–268 °С (2-пропанол–диоксан). ИК спектр, ν, см<sup>-1</sup>: 2979 (C–H), 1760, 1622 (C=O), 1270 (C–O). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д. (*J*, Гц): 2.78 (6H, с, 2,6-CH<sub>3</sub>); 6.74 (2H, с, 2=CH); 7.20–7.25 (8H, м, Н-5,5',6,6',7,7',8,8' Ar); 8.11 (1H, с, Н-4 Py); 13.02 (2H, уш. с, 2NH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ, м. д.: 24.0 (2,6-CH<sub>3</sub>); 97.4 (2=CH); 116.2; 117.2; 123.3; 124.5; 126.0 (C-8a,8a'); 132.2 (C-3,5 Py); 135.8 (C-4 Py); 139.3 (C-4a,4a'); 141.4

(C-3,3'); 155.7; 158.3; 193.5 (2C=O). Найдено, %: C 67.90; H 4.35; N 8.48. C<sub>27</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>. Вычислено, %: C 67.36; H 3.98; N 8.73.

**Рентгеноструктурное исследование соединения 4** проведено при комнатной температуре на дифрактометре Bruker Карра Apex II (MoK $\alpha$ -излучение, графитовый монохроматор). Учет поглощения – по программе SADABS.<sup>18</sup> Структуры расшифрованы прямым методом и уточнены анизотропно полноматричным МНК по всем отражениям с помощью комплекса программ SHELXTL.<sup>19</sup> Положения атомов водорода рассчитаны геометрически и уточнены по модели "наездник". Положения гидроксильных атомов водорода уточнены изотропно. Кристаллы соединения **4** (C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>8</sub>, *M* 391.37) ромбические, пространственная группа *Iba*2; *a* 19.9161(9), *b* 24.2350(10), *c* 8.0158(4) Å; *V* 3869.0(3) Å<sup>3</sup>; *Z* 8; *d*<sub>выч</sub> 1.344 г/см<sup>3</sup>;  $\mu$  0.106 мм<sup>-1</sup>. Всего собрано 38717 отражений ( $2\theta_{\max}$  55°), из них 4451 независимых, *R*<sub>int</sub> 0.0492. Окончательные значения факторов расходимости *R* 0.0402 (для 3786 отражений с *I* > 2 $\sigma$ (*I*)), *wR*<sub>2</sub> 0.1340, *S* 1.055 для всех отражений. Полные кристаллографические данные депонированы в Кембриджском банке структурных данных (CCDC 1560535).

**Исследование анальгетической активности** проведено на мышах с фиксированием специфической болевой реакции корчи (характерные движения животных, включающие сокращения брюшных мышц, чередующиеся с их расслаблением, вытягиванием задних конечностей и прогибанием спины), вызываемые внутрибрюшинным введением 0.75% уксусной кислоты (0.1 мл на 10 г массы тела). В течение последующих 15 мин после инъекции подсчитывают количество корчей для каждого животного (по 5 животных в группе). Анальгетический эффект оценивают по уменьшению количества корчей в процентах к контролю. Исследуемые вещества вводят внутривенно с помощью зонда за полчаса до введения уксусной кислоты в дозе 100 мг/кг веса в виде суспензии на питьевой воде. В качестве препарата сравнения использован метамизол натрия (анальгин), который вводят по аналогичной схеме, в дозе 100 мг/кг веса. Контрольным животным аналогично вводят эквивалентное количество питьевой воды.<sup>20</sup>

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проект 4.1657.2017 / 4.6).

## Список литературы

1. Andreichikov, Yu. S.; Tokmakova, T. N.; Pidemskii, E. L.; Voronova, L. A.; Vilenchik, Ya. M. *Pharm. Chem. J.* **1977**, *11*, 668. [*Хим.-фарм. журн.* **1977**, *11*(5), 85.]
2. Milyutin, A. V.; Safonova, N. V.; Makhmudov, R. R.; Andreichikov, Yu. S.; Aliev, E. G. *Pharm. Chem. J.* **1998**, *32*, 26. [*Хим.-фарм. журн.* **1998**, *32*(1), 27.]
3. Andreichikov, Yu. S.; Pitirimova, S. G.; Saraeva, R. F.; Gein, V. L.; Plakhina, P. N.; Voronova, L. A. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1978**, *14*, 336. [*Химия гетероцикл. соединений* **1978**, 407.]
4. Andreichikov, Yu. S.; Nekrasov, D. D.; Pitirimova, S. G.; Zaks, A. S.; Korshennikov, M. I.; Plaksina, P. N.; Semenova, Z. N.; Kopeikin, V. A. *Pharm. Chem. J.* **1989**, *23*, 665. [*Хим.-фарм. журн.* **1989**, *23*, 946.]
5. Mashevskaya, I. V.; Tolmacheva, I. A.; Voronova, É. V.; Odegova, T. F.; Aleksandrova, G. A.; Goleneva, A. F.; Kol'tsova, S. V.; Maslivets, A. N. *Pharm. Chem. J.* **2002**, *36*, 86. [*Хим.-фарм. журн.* **2002**, *36*(2), 33.]
6. Biehl, E. R.; Haribabu, A.; Sukanta, K. US Patent 8669363 B2.
7. Озолс, Я. Я.; Дубуре, П. Р.; Виганте, Б. А.; Бундуле, М. Ф.; Зуйка, И. В.; Бруверис, З. П.; Дубур, Г. Я. *Латв. хим. журн.* **1991**, 209.
8. Garkushenko, A. K.; Makarova, M. A.; Sorokina, O. P.; Poendaev, N. V.; Vorontsova, M. A.; Sagitullina, G. P. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2011**, *47*, 482. [*Химия гетероцикл. соединений* **2011**, 586.]
9. Veera, M. B.; Srimannarayana, G. *Indian J. Chem., Sect. B: Org. Chem. Incl. Med. Chem.* **1982**, *21*, 975.
10. Fenton, D. E.; Regan, C. M.; Casellato, U.; Vigato, P. A.; Vidali, M. *Inorg. Chim. Acta* **1980**, *44*, L105.
11. Pons, J.; Chadghan, A.; García-Antón, J.; Ros J. *Lett. Org. Chem.* **2010**, *7*, 178.
12. Borilovic, I.; Roubeau, O.; Fernandez Vidal I; Teat, S. J.; Aromí, G. *Magnetochemistry* **2015**, *1*, 45.
13. Tumambac, G. E.; Francis, C. J.; Wolf, C. *Chirality* **2005**, *17*, 171.
14. Baxendale, I. R.; Cheung, S.; Kitching, M. O.; Ley, S. V.; Shearman, J. W. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 4378.
15. Сильверстейн, Р.; Вебстер, Ф.; Кимл Д. *Спектрометрическая идентификация органических соединений*; Бином. Лаборатория знаний: Москва, 2012, с. 239.
16. Torchy, S.; Cordonnier, G.; Barbry, D.; Vanden Eynde, J. J. *Molecules* **2002**, *7*, 528.
17. Xia, J.-J.; Wang, G.-W. *Synthesis* **2005**, 2379.
18. Sheldrick, G. M. *SADABS v.2.10. Program for Empirical Absorption Correction of Area Detector*; University of Gottingen, 2003.
19. Sheldrick, G. M. *SHELXTL v.6.14. Structure Determination Software Suite*; Bruker AXS: Madison, 2000.
20. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*; Миронов, А. Н., Ред.; Гриф и К: Москва, 2012, ч. 1, с. 746.