

*На правах рукописи*



**ТРУХАНОВА  
ЮЛИЯ АЛЕКСАНДРОВНА**

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ *C,N*-ДИАРИЛФОРМАМИДИНОВ С  
АНГИДРИДАМИ ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ - ПУТЬ К СОЗДАНИЮ  
НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ *N*-ЗАМЕЩЕННЫХ  
ПРОИЗВОДНЫХ СУКЦИНИМИДА, ФТАЛИМИДА И  
ГЛУТАРИМИДА**

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Санкт-Петербург - 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

**Куваева Елена Владимировна**

кандидат фармацевтических наук, доцент

Официальные оппоненты:

**Клён Елена Эдмундовна**

доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой фармацевтической, аналитической и токсикологической химии

**Шутов Роман Вадимович**

кандидат фармацевтических наук, акционерное общество «Биокад», владелец продукта департамента разработки инновационных малых молекул

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «19» декабря 2024 года в 12.00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.063.01, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, г. Санкт-Петербург, вн.тер.г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д.14, лит. А).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197227, г. Санкт-Петербург, пр. Испытателей, д.14) и на сайте организации (<http://dissovet.spcpu.ru>).

Автореферат разослан «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Ученый секретарь

диссертационного совета 21.2.063.01,  
кандидат фармацевтических наук, доцент



Орлов А.С.

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы

Получение высокофункционализированных гетероциклических структур является важной задачей современного органического синтеза что, в дальнейшем, позволяет рассматривать их как строительные блоки для создания новых биологически активных органических соединений. Отдельной задачей является модификация, в том числе гетероциклизация, тех структур, которые уже показали себя как перспективные биологически активные соединения. В связи с этим, интересным направлением является химическая модификация *C,N*-диарилформаминаминов, хорошо зарекомендовавших себя в медицинской химии. Известно, что *C,N*-диарилформаминамины обладают выраженной анальгезирующей активностью. Они также проявляют противовоспалительную, антимикробную, противогрибковую и антикоагулянтную активности. Однако данные производные являются достаточно токсичными соединениями ( $LD_{50} = 10-650$  мг/кг), что накладывает ограничения на их прямое использование. При этом *C,N*-диарилформаминамины могут выступать в качестве как моно-, так и бинуклеофильными реагентами. Взаимодействие данных объектов с моно- и полиэлектрофильными соединениями приводит к различным ациклическим либо же гетероциклическим соединениям, сохраняющим общий структурный мотив *C,N*-диарилформамидина. При этом зачастую сохраняется, но модифицируется биологическая активность получаемых продуктов.

В этом смысле, взаимодействие *C,N*-диарилформаминаминов с ангидридами дикарбоновых кислот (янтарной, глутаровой, фталевой) интересно как с точки зрения получения новых классов производных *C,N*-диарилформамидина, так и с точки зрения разработки новых эффективных и малотоксичных лекарственных субстанций.

Следует отметить, что в литературе отсутствуют сведения о взаимодействии *C,N*-диарилформаминаминов с ангидридами дикарбоновых кислот (помимо публикаций автора), приводящих к получению производных сукцинимиды, фталимида, глутаримида.

### Степень разработанности темы

Ранее в работах Колесника Д.А., Куваевой Е.В. и др. были изучены реакции *C,N*-диарилформамидинов с диэтилмалонатами или малонилдихлоридами, приводящие к производным пиримидин-4,6-диона. Ацилирование ангидридами дикарбоновых кислот представителей *C,N*-диарилформамидинов в литературе описано не было.

### Цель и задачи исследования

Целью работы является изучение методов получения, строения, свойств и биологической активности ранее не описанных *N*-замещенных производных сукцинимида, фталимида и глутаримида.

### Для этого предстояло решить следующие задачи:

1. Разработать лабораторные способы получения новых *N*-замещенных производных сукцинимида, фталимида и глутаримида на основе реакции ацилирования *C,N*-диарилформамидинов янтарным, фталевым и глутаровым ангидридами.
2. Доказать строение и индивидуальность синтезированных соединений с помощью физико-химических методов анализа: РСА, ЯМР-, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии, элементного анализа, ТСХ.
3. Установить потенциал биологической активности полученных соединений путем компьютерного анализа с помощью программ *GUSAR* и *PASS* (Prediction of Activity Spectra for Substances).
4. Определить острую токсичность и провести изучение биологической активности синтезированных веществ *in vivo*. Установить взаимосвязь «строение-биологическая активность».
5. Изучить физико-химические свойства соединений с наилучшим профилем безопасности и эффективности в рамках разработки подходов к аттестации первичных стандартных образцов.

**Научная новизна.** Настоящая работа является первым целенаправленным исследованием реакций *C,N*-диарилформамидинов с ангидридами дикарбоновых кислот (янтарным, фталевым и глутаровым ангидридами), в ходе которого было синтезировано 64 ранее неизвестных гетероциклических соединения, доказано их строение.

На основании изученных физико-химических свойств, включая хроматографическое поведение, разработан полный спектр аналитических методик для аттестации первичных стандартных образцов и контроля качества наиболее активных соединений. Кроме того, проведена валидация некоторых наиболее значимых методик.

Изучена острая токсичность и биологическая активность 15 производных сукцинимида, фталимида, глутаримида.

Проведена аттестация первичного стандартного образца нового соединения с наилучшим профилем эффективности-безопасности.

Впервые показано, что:

➤ Взаимодействие *C,N*-диарилформамидинов с ангидридами янтарной, глутаровой и фталевой кислот позволяет получить *N*-замещенные пирролидин-2,5-дионы с выходами от 24 до 93%, *N*-замещенные пиперидин-2,6-дионы с выходами от 46 до 88%, *N*-замещенные изоиндолин-1,3-дионы с выходами от 26 до 89%, соответственно.

➤ Установлено, что акцепторные заместители  $R^1$  и  $R^2$  в орто- или пара-положениях *C,N*-диарилформамидинов при взаимодействии последних с ангидридами кислот, приводят к снижению выхода целевых продуктов.

➤ Прогноз острой токсичности в программном обеспечении GUSAR для циклических имидов коррелирует с данными эксперимента *in vivo*. Данные соединения являются мало или практически нетоксичными.

➤ Полученные соединения проявляют высокую анальгезирующую и противовоспалительную активности, при этом наиболее активным является 2-({[4-нитрофенил]имино}(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион.

➤ Проведена аттестация первичного стандартного образца 2-({[4-нитрофенил]имино}(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Разработаны лабораторные методы синтеза новых ранее не описанных *N*-замещенных производных сукцинимида, фталимида, глутаримида. По результатам оценки острой токсичности и биологической активности полученных соединений, наиболее перспективным соединением оказался 2-({[4-нитрофенил]имино}

(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион. Для него разработан первичный стандартный образец.

Результаты исследования внедрены в учебный процесс (акт внедрения от 22.05.2024 г) и научно-исследовательскую деятельность (акт внедрения от 06.05.2024 г) кафедры органической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

#### **Получен патент:**

Патент РФ № 2 807 909 C07D 211/88 A61K 31/45 A61P 29/00 Опубликовано: 21.11.2023 Бюл. № 33, 1-(фенил{фенилимино}метил)пиперидин-2,6-дион и способ его получения / Ю.А. Труханова, Е.В. Куваева, Д.Ю. Ивкин, Т.Л. Семакова, Г.В. Ксенофонтова, И.П. Яковлев. Заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. - № 2023105548; заявл. 09.03.2023.

#### **Методология и методы исследования**

Исследование проводилось в период с 2021 по 2024 гг. Базовыми объектами являлись *C,N*-диарилформамидины, ангидриды янтарной, глутаровой и фталевой кислот. Теоретическую основу исследования составляли труды зарубежных и отечественных ученых по синтезу и свойствам сукцинимидов, фталимидов, глутаримидов и их производных.

Для доказательства строения полученных соединений были использованы физико-химические методы анализа: РСА, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия.

Для изучения динамики протекания реакций были использованы: высокоэффективная жидкостная хроматография с детектированием в ультрафиолетовой области, тонкослойная хроматография.

Все результаты были статистически обработаны.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Методы синтеза новых *N*-замещенных производных сукцинимида, фталимида и глутаримида.

2. Комплекс данных о строении и свойствах синтезированных соединений с помощью физико-химических методов анализа: РСА, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, ТСХ.

3. Результаты изучения острой токсичности, анальгезирующей и антимикробной активностей синтезированных веществ.

4. Параметры аттестации первичного стандартного образца производного фталимида с наилучшим профилем безопасности и эффективности.

### **Соответствие диссертационной работы паспорту научной специальности**

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно: пункту 1 – Исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения структуры синтетического и природного происхождения и выявление связей и закономерностей между строением и свойствами веществ; пункту 2 – Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств; и пункту 3 – Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления.

### **Степень достоверности и апробация работы**

Результаты работы представлены на XI Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2021); Международной научно-практической конференции «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы» (Ташкент, 2021); всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Аспирантские чтения – 2021: молодые ученые – медицине» (Самара, 2021); The 25<sup>th</sup> International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (Сантьяго-де-Компостела, 2021); XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2022); III международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию ташкентского фармацевтического института “Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы” (Ташкент, 2022); 3-й

Международной конференции, посвященной 110-летию доктора биологических наук, профессора А.П. Бресткина (Санкт-Петербург, 2022); Научно-методическая конференция с международным участием «Сандеровские чтения», посвященная памяти выдающегося отечественного ученого в области технологии лекарств Юрия Карловича Сандера (Санкт-Петербург, 2023); 1-ой республиканской научно-практической конференции с международным участием «актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли» (Ташкент, 2023); XIII всероссийская научная конференция «Молодая фармация – потенциал будущего» с международным участием (Санкт-Петербург, 2023); 9-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2023» (Воронеж, 2023).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе 2 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций, а также 4 статьи в изданиях, включенных в международные наукометрические базы данных Scopus и Web of science. Получен патент РФ на изобретение.

**Связь задач с проблемным планом фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России и в рамках государственного задания № АААА-А20-120121790030-8 «Разработка инновационных методов получения, изучение строения, физических и химических свойств N-, O-, S-содержащих гетероциклических и ациклических систем с целью поиска новых лекарственных средств».

**Объём и структура диссертации.** Диссертация изложена на 204 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературных данных, обсуждения результатов собственных экспериментов, экспериментальной части и выводов, содержит 32 таблиц и 36 рисунков. Библиография включает 129 ссылок.



## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Приведены литературные данные методов синтеза азагетероциклов на основе *C,N*-диарилформамидинов с описанием предполагаемых механизмов реакций и реакционной способности исходных субстратов в исследуемых реакциях.

Рассмотрена биологическая активность представителей различных классов соединений, получаемых из *C,N*-диарилформамидинов.

### ГЛАВА 2. СИНТЕЗ И СТРОЕНИЕ НОВЫХ *N*-ЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛИЧЕСКИХ ИМИДОВ: СУКЦИНИМИДОВ, ФТАЛИМИДОВ, ГЛУТАРИМИДОВ

Производные сукцинимиды были получены нами реакцией *C,N*-диарилформамидинов **1a-c**, **1h**, **1j** с янтарным ангидридом **2** в среде абсолютного хлороформа в течение 4-6 часов при температуре  $20 \pm 2$  °C (Рисунок 1).

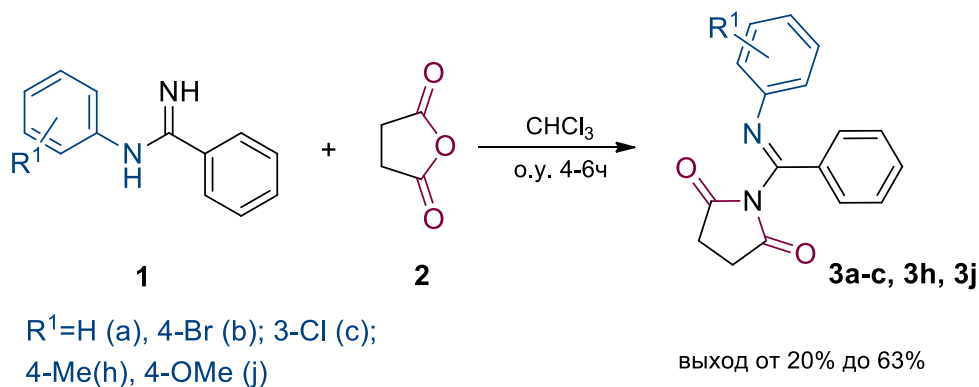


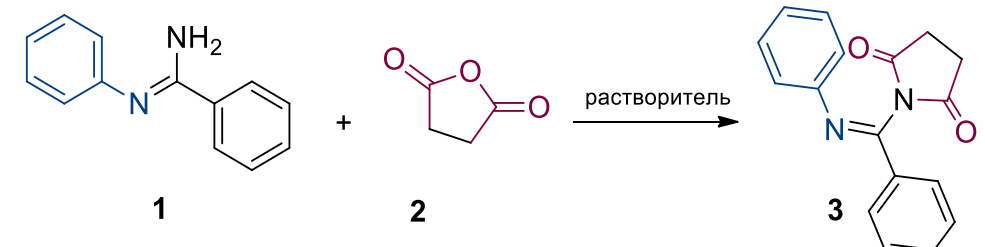
Рисунок 1. Схема получения производных сукцинимиды **3a-c**, **3h**, **3j**

Однако было установлено, что в данных условиях продукты с акцепторными заместителями (**3b**, **3c**) получаются с выходом всего 20%. При увеличении времени процесса до 20 часов, выход целевого продукта повышался незначительно. Поэтому нами было изучено влияние других растворителей и соотношения реагентов на скорость и выходы продуктов (Таблица 1).

Наиболее подходящим растворителем является толуол, выход в данном растворителе составил 76%, время протекания реакции - 2 часа. Нами было

установлено, что избыток янтарного ангидрида 2,0 моль-экв. позволяет получить желаемый продукт с выходом 88%.

Таблица 1<sup>[a]</sup> – Влияние природы растворителя и соотношения реагентов на протекание реакции получения (Z)-1-(фенил[фенилимино]метил)пирролидин-2,5-диона **3a**



Растворитель	Температура, °C	Время реакции, ч	Выход, %
Ацетонитрил	20	4	47
Ацетонитрил	80	24	58
Этилацетат	20	24	29
Этилацетат	77	4	30
Тetraгидрофуран	20	24	50
Тetraгидрофуран	66	4	57
Диоксан	20	4	68
Диоксан	101	2	75
Толуол	20	4	26
Толуол	110	2	76
Толуол <sup>b</sup>	110	2	80
Толуол <sup>c</sup>	110	2	88

<sup>a</sup>0,5 г (2,6ммоль) *N*-фенилбензамидина, 30 мл растворителя, избыток янтарного ангидрида 1,2 моль-экв.; <sup>b</sup>0,5 г (2,6ммоль) *N*-фенилбензамидина, 30 мл растворителя, избыток янтарного ангидрида 1,5 моль-экв.; <sup>c</sup>0,5 г (2,6ммоль) *N*-фенилбензамидина, 30 мл растворителя, избыток янтарного ангидрида 2,0 моль-экв.;

Для уточнения времени протекания реакции был проведен мониторинг синтеза методом ВЭЖХ (Рисунок 2).

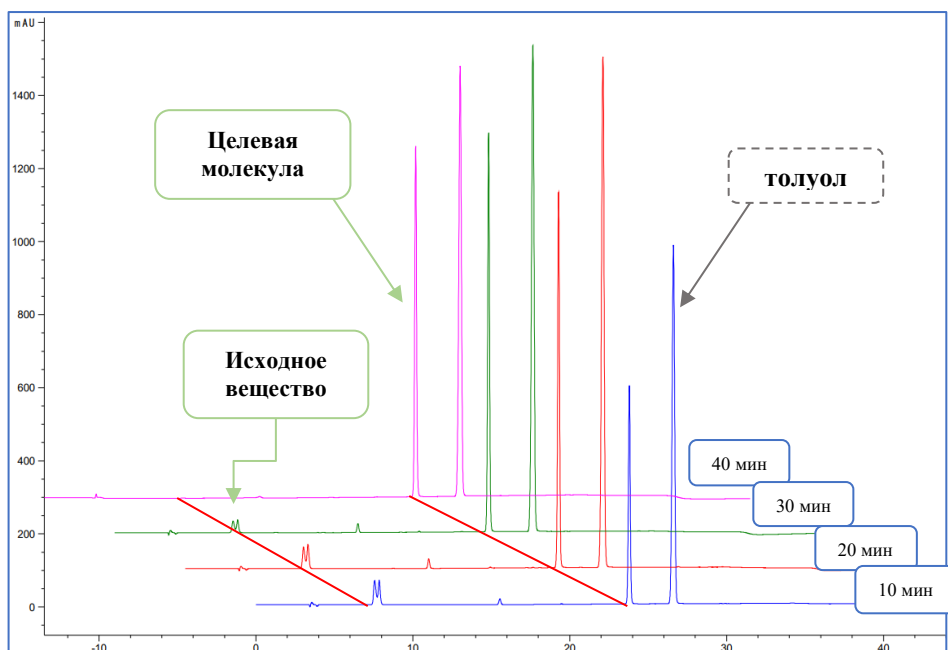


Рисунок 2. Мониторинг реакции *N*-фенилбензамида **1a** с янтарным ангидридом **2** (1:2,0 моль-экв.) в среде толуола

Было отмечено, что после 40 минут кипячения реакционной массы в толуоле, на хроматограмме не наблюдается пика исходного *N*-фенилбензамида.

По оптимизированной методике было синтезировано 25 новых соединений **3a-q** (Рисунок 3). Стоит отметить, что реакция с амидинами, имеющими электроноакцепторные заместители **1f**, **1g** и бис(амидинами) **1p-q** протекала на 2-2.5 часа дольше. Заместители в орто-положении за счет стерического эффекта также увеличивают время протекания реакции.

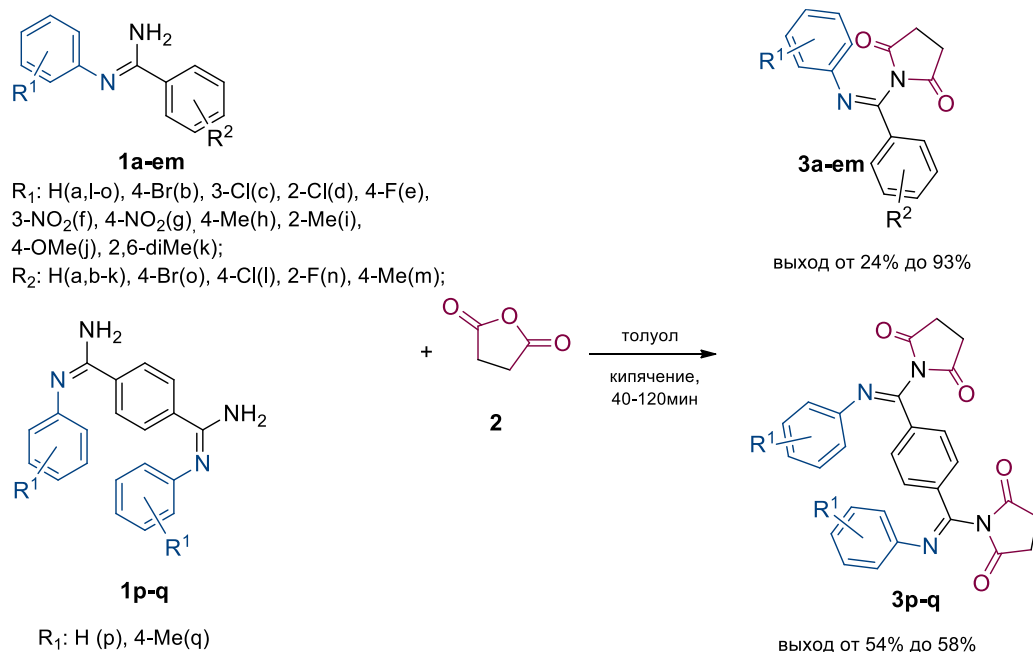


Рисунок 3. Схема получения 1-(арил(арилимино)метил)пирролидин-2,5-дионов **3a-q**

В качестве модельной реакции для разработки оптимальных условий синтеза, было рассмотрено взаимодействие *N*-фенилбензамидина **1a** и фталевого ангидрида **4**. Было показано, что при избытке фталевого ангидрида 1,2 моль-экв по отношению к амидину **1a** через 4 часа содержание целевого вещества на хроматограмме составило 62%, затем скорость образования целевого продукта значительно уменьшалась и дальнейшее ведение процесса было нецелесообразно (Рисунок 4). Оптимальным оказался избыток фталевого ангидрида **4** по отношению к амидину **1a** 2 моль-экв.

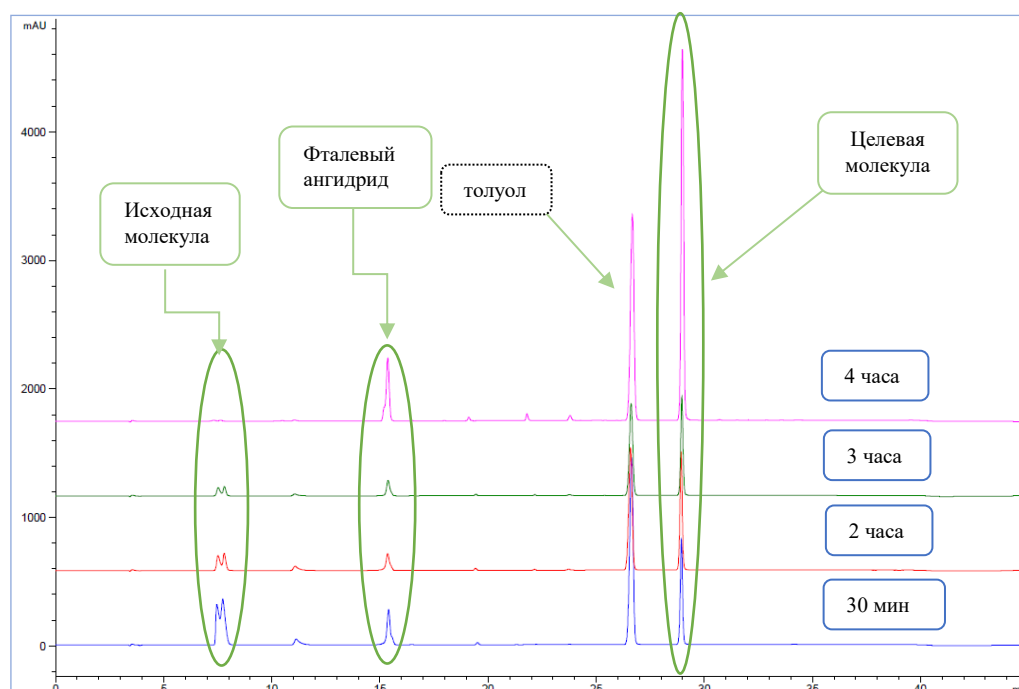


Рисунок 4. Мониторинг реакции *N*-фенилбензамидина **1a** с фталевым ангидридом **4** (1:2,0 моль-экв.) в толуоле в течение 4 часов.

По этой методике было синтезировано 24 новых соединения **5a-q** (Рисунок 5). Стоит отметить, что с амидинами, имеющими электрооакцепторные заместители **1f**, **1g** и бис(амидинами) **1p-q** время реакции увеличивалось на 6-8 часов.

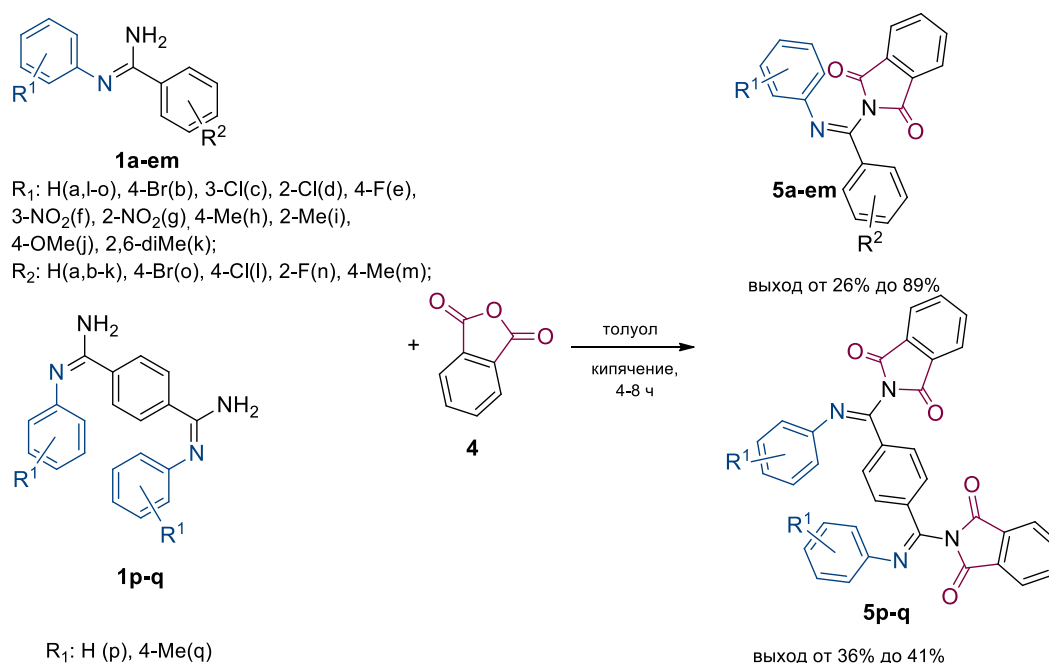


Рисунок 5. Схема получения 1-(арил(арилимино)метил)изоиндолин-1,3-дионов **5a-q**

Основываясь на ранее полученных данных при изучении методов получения производных сукцинимида и фталимида, для синтеза производных глутаримида были апробированы ранее описанные условия (толуол, кипячение) с аналогичным варьированием соотношения реагентов (1.2, 1.5, 2.0 моль-экв.). В качестве модельной реакции для разработки оптимальных условий синтеза, было рассмотрено взаимодействие *N*-фенилбензамидина **1a** и глутарового ангидрида **7**. Установлено, что наиболее оптимальными условиями являются: толуол, глутаровый ангидрид в избытке 2 моль-экв., кипячение в течение 50-120 минут.

Мониторинг конца реакции также осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. На рисунке 6 представлен мониторинг реакции *N*-фенилбензамидина **1a** с глутаровым ангидридом **7**.

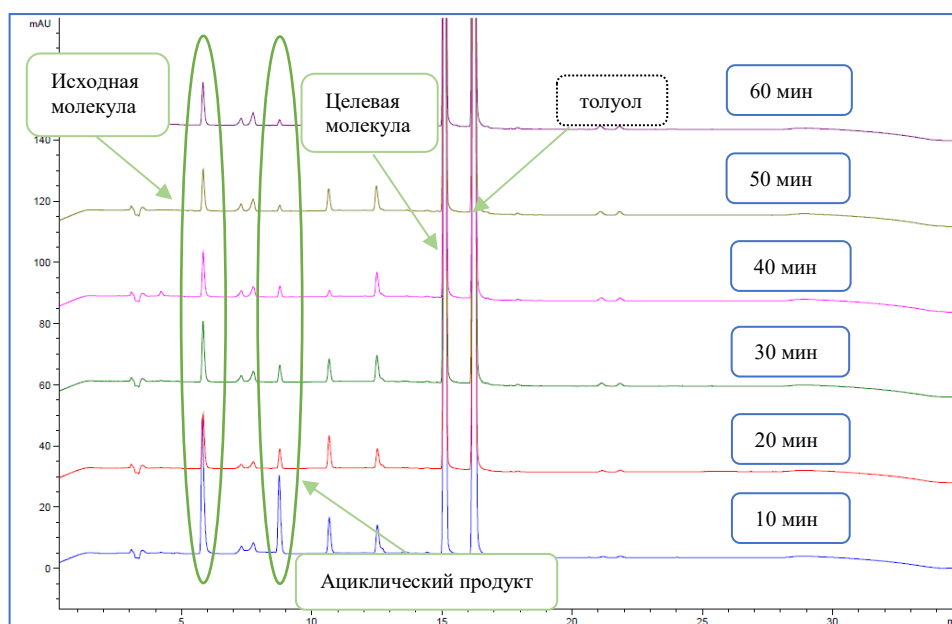


Рисунок 6. Мониторинг реакции *N*-фенилбензамидина **1a** с глутаровым ангидридом **6** (1:2,0 моль-экв.) в толуоле

Выбранные условия были использованы для получения ряда новых 1-(арил(арилимино)метил)пиперидин-2,6-дионов **8a-p** (Рисунок 7). Мы установили, что заместители в орто-положениях бензольного кольца анилинового фрагмента за счет стерического эффекта ингибируют скорость протекания реакции (соединения **8d**, **8i**, **8p**) и приводят к снижению выхода целевых продуктов. Введение акцепторных заместителей, как в *N*-арильный ( $R^1$ ), так и *C*-арильный фрагменты

(R<sup>2</sup>), приводит к увеличению времени протекания реакции и к снижению выхода ожидаемых соединений.

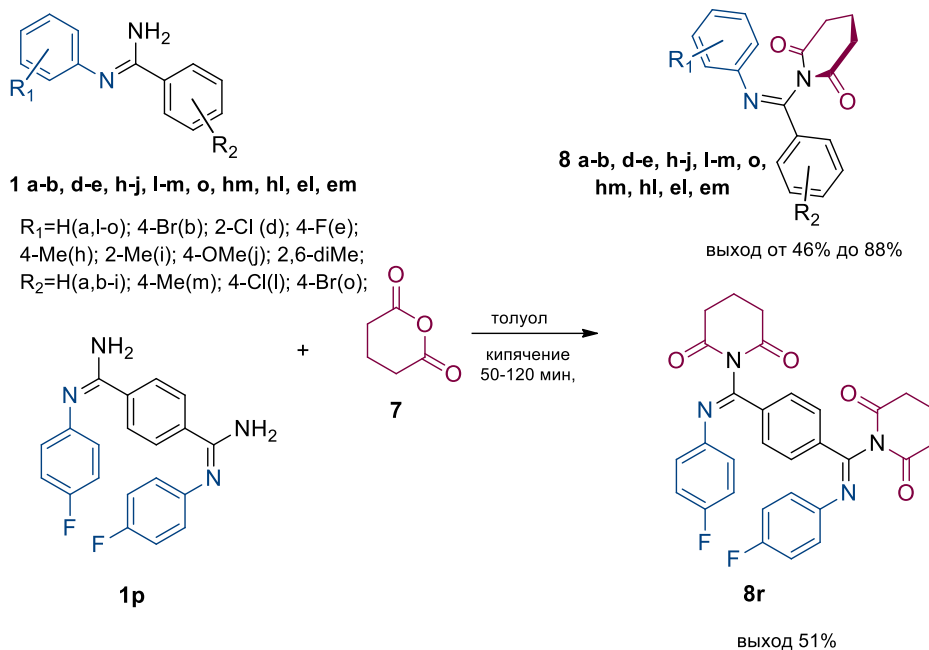
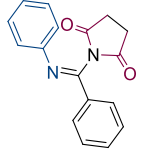
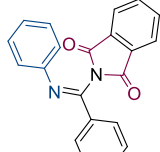
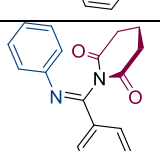
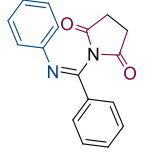
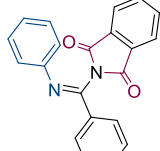
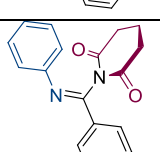


Рисунок 7. Схема получения 1-(арил(арилимино)метил)пиперидин-2,6-дионов **8 a-r**

Строение всех синтезированных производных было доказано с помощью ЯМР-спектроскопии на ядрах <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C растворов в ДМСО-*d*<sub>6</sub> регистрировали на спектрометре Bruker Avance III (Германия) (400.13 МГц для <sup>1</sup>H и 100.62 МГц для <sup>13</sup>C) относительно остаточного сигнала дейтерированного растворителя. Рентгеноструктурные исследования проводились с использованием оборудования ресурсного центра рентгенодифракционных методов исследования Санкт-Петербургского государственного университета. Рентгеноструктурное исследование проводили при 100±2 К на дифрактометре Rigaku XtaLAB Synergy-S (Япония) (детектор типа NuPIX-6000HE) с использованием Cu Kα-излучения (λ = 1,54184 Å). В таблице 2 представлены данные обработки ЯМР-спектров для представителей классов сукцинимида, фталимида и глутаримида.

Таблица 2 – Данные обработки ЯМР спектров для представителей классов сукцинимиды, фталимида и глутаримида.

Соединение		Ar	-CH <sub>2</sub> -	-C=O	-C=N-
		ЯМР <sup>1</sup> H ДМСО-d <sub>6</sub> 400 МГц, δ			
<b>3a</b>		7.98 (d, 2H, J=7.0 Гц), 7.64 (t, 1H, J=7.4 Гц), 7.54 (t, 2H, J=7.4 Гц), 7.36 (t, 2H, J=7.8 Гц), 7.16 (t, 1H, J=7.4 Гц), 6.77 (d, 2H, J=7.0 Гц)	2.88 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Гц) 2.48 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Гц)	-	-
<b>5a</b>		8.03 (d, 2H, J=7.1 Гц), 7.64 (t, 1H, J=7.4 Гц), 7.54 (t, 2H, J=7.6 Гц); 7.26 (t, 2H, J=7.9 Гц), 7.03 (t, 1H, J=7.5 Гц), 6.82 (d, 2H, J=7.1 Гц)	-	-	-
<b>8a</b>		7.91 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.60-7.58 (m, 1H), 7.53-7.49 (m, 2H), 7.35 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 7.15 (m, 1H), 6.69 (d, J = 7.8 Hz, 2H).	2.75 (m, 2H), 2.34 (m, 2H), 1.22 (m, 1H), 1.87 (m, 1H)		
ЯМР <sup>13</sup> C ДМСО-d <sub>6</sub> 100 МГц, δ					
<b>3a</b>		119.3, 125.5, 128.6, 128.7, 129.5, 133.0	29.1	176.3	147.7
<b>5a</b>		135.8, 133.8, 133.0, 131.2, 129.5, 128.9, 128.8, 125.4, 124.6, 119.3, 147.0	-	166.3	148.2
<b>8a</b>		118.8, 125.0, 128.3, 129.2, 132.4, 133.8, 148.2	31.9, 17.1	172.7	150.4

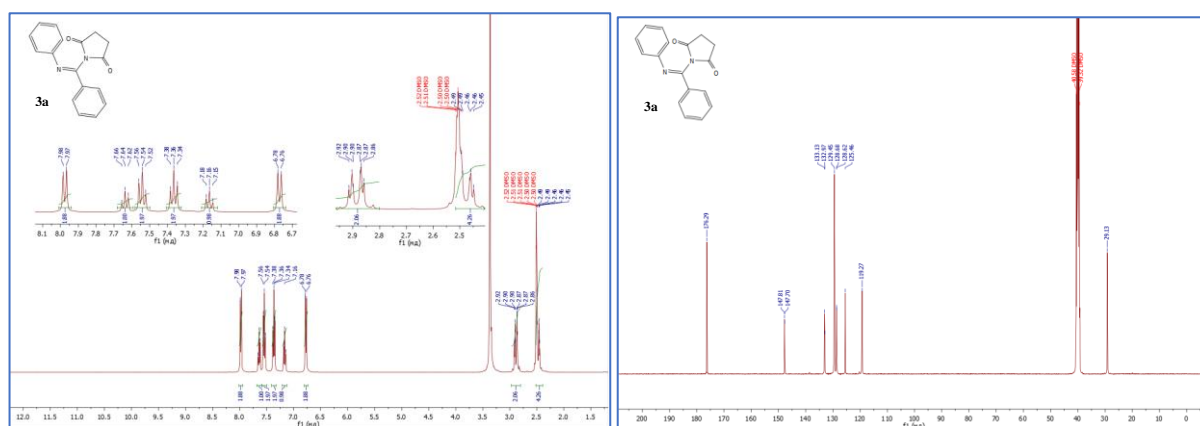


Рисунок 8. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H (400.13 МГц) (слева), ЯМР <sup>13</sup>C в ДМСО-d<sub>6</sub> (100.62 МГц) (справа) соединения **3a**



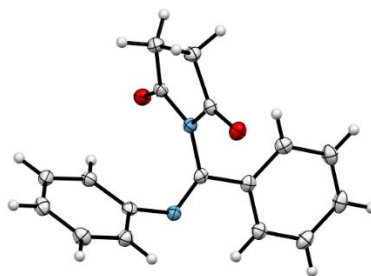


Рисунок 9. Структура соединения **3a** согласно данным РСА (при  $100\pm 2$  К с использованием излучения Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1,54184$  Å)) *CCDC 2089063*

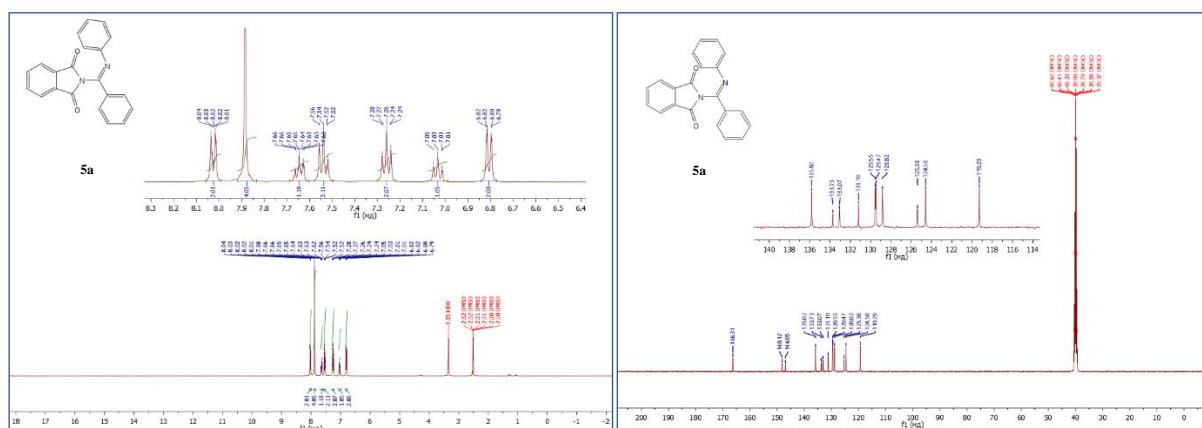


Рисунок 10. Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  (400.13 МГц) (слева), ЯМР  $^{13}\text{C}$  в ДМСО- $d_6$  (100.62 МГц) (справа) соединения **5a**

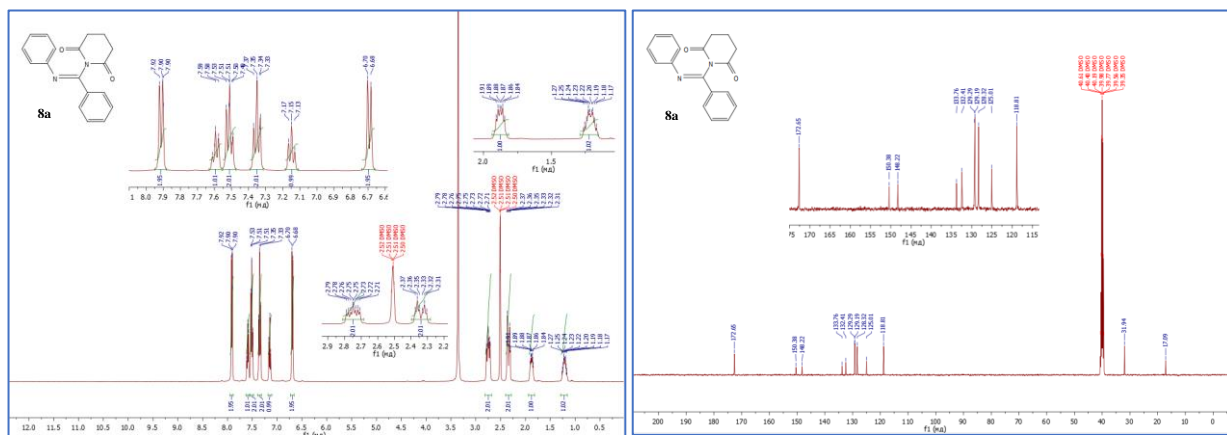


Рисунок 11. Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  (400.13 МГц) (слева), ЯМР  $^{13}\text{C}$  в ДМСО- $d_6$  (100.62 МГц) (справа) соединения **8a**

На рисунке 12 приведен рентгеноструктурный анализ глутаримидов (**8a** и **8d**).

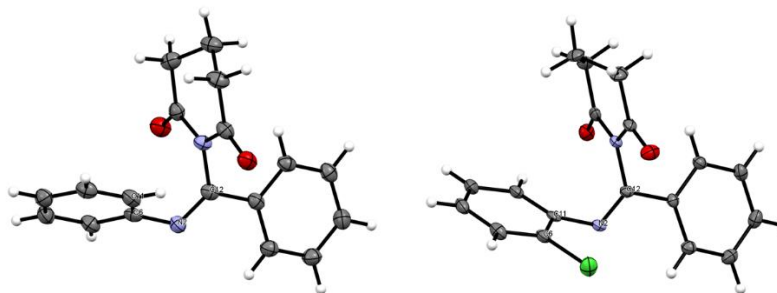


Рисунок 12. Рентгеноструктурный анализ соединений **8a** (слева), **8d** (справа)

### ГЛАВА 3. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СИНТЕЗИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Для последующего анализа острой токсичности *in vivo* для определения начальных дозировок целесообразно было провести её оценку *in silico* с использованием программы GUSAR (General Unrestricted Structure-Activity Relationships).

Прогнозируемая токсичность исследуемых соединений составила от 506 до 2036 мг/кг. При этом наименьшее значение острой токсичности прогнозируется у фталимидов и полученных бис-производных. Согласно скринингу биологической активности, основанному на программном обеспечении Pass-online, все синтезированные сукцинимиды, фталимиды и глутаримиды с высокой степенью вероятности (более 70%) обладают анальгезирующей и противовоспалительной активностью.

Острая токсичность исследуемых соединений, определенная методом *in vivo*, составила от 750 до 2500 мг/кг. В результате сопоставления данных прогноза острой токсичности *in silico* с экспериментально полученными *in vivo* установлено, что значения LD<sub>50</sub> коррелируют между собой, исследуемые соединения по классификации Сидорова К.К. относятся к классу 4 (мало токсичны) и 5 (практически нетоксичны). Однако данная корреляция не соблюдается у 2-({[4-нитрофенил]имино}(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона, острая токсичность которого, определенная *in vivo*, значительно ниже, чем спрогнозированная.

Анальгезирующую активность изучали на моделях «уксуснокислые корчи» и «отдергивание хвоста от теплового излучения (tail-flick)». В качестве препарата сравнения использовали метамизол натрия – 20 и 100 мг/кг.

Установлено, что все анализируемые соединения обладают выраженной анальгезирующей активностью, при этом наибольшая выраженность действия наблюдается при введении электроноакцепторных заместителей у производных фталимида, в частности, у 2-([4-нитрофенил]имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона **5g** и у производных глутаримида, в частности, у 1-(((2-хлорфенил)имино)(фенил)метил)пиперидин-2,6-диона **8d**. Для данных соединений была исследована противовоспалительная активность.

Для экспериментальной оценки противовоспалительной активности были включены в работу две модели: «формалиновый отек лап мышей» и «ватная гранулема у крыс» (таблицы 3-4).

Таблица 3 – Результаты оценки противовоспалительной активности на модели «формалиновый отек» лап мышей, n=10

Группа	% угнетения воспаления через 1 час, %	% угнетения воспаления через 2 часа, %	% угнетения воспаления через 24 часа, %	% угнетения воспаления через 48 часов, %
Диклофенак	9,1±2,86	28,93±5,16	48,88±3,38	67,84±4,05
Исследуемое соединение <b>5g</b>	8,08±9,88	28,59±9,02*	47,28±4,83*	67,64±5,63*
Исследуемое соединение <b>8d</b>	5,01±3,12	18,11±4,02*	24,28±9,59*	31,27±3,13*

Примечание: \* Статистически значимых различий с группой «диклофенак» нет

Таблица 4 – Результаты оценки противовоспалительной активности на модели «ватная гранулема» у крыс, n=5

Группа животных	Масса гранулемы, г		Масса грануляционной ткани, г	
	сырая (M <sub>1</sub> )	сухая (M <sub>2</sub> )	экссудативная фаза (M <sub>1</sub> -M <sub>2</sub> )	пролиферативная фаза (M <sub>2</sub> -M <sub>ш</sub> )
Контроль	0,2961±0,0116	0,0730±0,0039	0,2231±0,0093	0,0578±0,0036
Диклофенак	0,2476±0,0127*	0,0552±0,0065*	0,1924±0,0069*	0,0400±0,0061*
Исследуемое соединение <b>5g</b>	0,2479±0,0083*#	0,0575±0,0050*#	0,1905±0,0043*#	0,0422±0,0049*#
Исследуемое соединение <b>8d</b>	0,2539±0,0099*#	0,0605±0,0061*#	0,1933±0,0043*#	0,0455±0,0021*#

Примечание: M<sub>ш</sub> – масса шарика (0,015 г); \* Различия с группой «контроль» статистически значимы при p ≤ 0,05; # Статистически значимых различий с группой «диклофенак» нет

По результатам оценки противовоспалительной активности, установлено, что наибольшей выраженностью противовоспалительного действия на моделях «формалиновый отек» и «ватная гранулема» обладает 2-([4-нитрофенил]имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион **5g**.

#### **ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ПЕРВИЧНОГО СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА**

Методология аттестации первичного стандартного образца приведена на примере представителя ряда пирролидин-2,5-диона с целью алгоритмизации аналитического сопровождения и подхода к аттестации данного класса соединений для дальнейшего трансфера разработанной методологии на схожие объекты. Аттестацию стандартного образца проводили по методу «баланса масс» Строение соединения было подтверждено методами рентгеноструктурного анализа (РСА), масс-спектрометрии, спектрометрии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и инфракрасной спектроскопии (ИК). Содержание родственных органических примесей определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Содержание остаточных органических растворителей определяли методом газовой хроматографии (ГХ). Полученное значение по методу «баланса масс» сравнивали со значением, полученным абсолютным методом (титрование по методу Кьельдаля) путем расчета критерия Стьюдента. По статистической незначимости расхождения двух значений было доказано, что рассчитанное значение эквивалентно значению количественного определения, полученному титрованием по Кьельдалю. На основе аттестованного первичного стандартного образца представлен подход к разработке и валидации количественного определения основного вещества методом ВЭЖХ.

В ходе аттестации подлинность для 2-([4-нитрофенил]имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона была доказана методами РСА, ЯМР-спектроскопии и ИК-спектроскопии. По методу «баланса масс» было рассчитано содержание основного вещества в субстанции и найдена неопределенность полученного значения. Содержание основного вещества в субстанции составило  $99,64 \pm 0,24 \%$ , с учетом округления –  $99,6 \pm 0,3 \%$ . Для апробации полученного результата был проведен анализ количественного определения: титрование по методу Кьельдаля, количественный ЯМР-анализ. По

результатам анализа трех выборок была доказана их сходимость. В силу большей прецизионности за аттестованное значение было принято значение, полученное методом «баланса масс», а именно  $99,6 \pm 0,3$  %.

## ГЛАВА 5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В экспериментальной части приведены применяемые методы и методики, а также представлена характеристика и спектральные данные полученных соединений.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

➤ Разработаны лабораторные способы получения новых *N*-замещенных производных сукцинимида, фталимида и глутаримида реакцией ацилирования *C,N*-диарилформамидинов янтарным, фталевым и глутаровым ангидридами. Установлено, что взаимодействие *C,N*-диарилформамидинов с ангидридами янтарной, глутаровой и фталевой кислот позволяет получить *N*-замещенные пирролидин-2,5-дионы с выходами от 24 до 93%, *N*-замещенные пиперидин-2,6-дионы с выходами от 46 до 88%, *N*-замещенные изоиндолин-1,3-дионы с выходами от 26 до 89%, соответственно.

➤ Доказано строение и индивидуальность всех синтезированных соединений с помощью физико-химических методов анализа: РСА, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, ТСХ.

➤ Проведено прогнозирование острой токсичности и биологической активности полученных соединений путем компьютерного анализа с помощью программ *GUSAR* и *PASS* (Prediction of Activity Spectra for Substances), в ходе которого спрогнозированы предполагаемые дозы острой токсичности для последующих исследований *in vivo* и предсказана высокая вероятность проявления анальгезирующей и противовоспалительной активностей.

➤ Проведено исследование острой токсичности и биологической активности полученных соединений методом *in vivo*. Показано, что они относятся к классам «практически нетоксично» и «нетоксично» согласно классификации Сидорова К.К. Установлено, что все анализируемые соединения обладают выраженной анальгезирующей активностью. Наибольшей анальгезирующей активностью

обладают 2-([4-нитрофенил]имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион и 1-(((2-хлорфенил)имино)(фенил)метил)пиперидин-2,6-дион. По результатам анализа противовоспалительной активности наибольшим действием обладает 2-([4-нитрофенил]имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион. Его активность значительно превышает действие препарата сравнения – метамизола натрия.

➤ Для 2-([4-нитрофенил]имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-диона разработаны аналитические методики контроля качества и проведена аттестация первичного стандартного образца.

### СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Труханова Ю.А.** Оценка анальгезирующей и противовоспалительной активностей нового производного изоиндолин-1,3-диона / **Ю.А. Труханова**, Д.А. Колесник, Е.В. Куваева, Е.Н. Кириллова, Д.Ю. Ивкин // Фармация. – 2022. – Т. 71. № 4. – С. 40-45.

2. **Труханова Ю.А.** Разработка методики количественного определения для аттестации первичного стандартного образца нового анальгезирующего средства – 1-(фенил[фенилимино]метил)пирролидин-2,5-диона / **Ю.А. Труханова**, Г.М. Алексеева, И.П. Яковлев, Е.В. Куваева // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2022. – № 3. – С.18-24.

**Статьи в журналах, входящих в международные базы и системы цитирования:**

3. **Trukhanova Y. A.** Attestation of the primary standard sample of a new analgesic agent 1-phenyl(phenylimino)methylpyrrolidine-2,5-dione, development and validation of a method for quantitative determination of the substance by HPLC / **Y. A. Trukhanova**, G. M. Alekseeva, I. P. Yakovlev, D.V. Spiridonova //Microchemical Journal. – 2022. – Vol. 173. – P. 106991 (Scopus, Web of Science).

4. **Trukhanova Y. A.** The Practice of Attestation Primary Reference Samples on the Example of a New Potential Analgesic Agent–2-([4-Nitrophenyl]imino)(phenyl)methyl isoindoline-1, 3-dione / **Y. A. Trukhanova**, I. I. Terninko, D. V. Spiridonova, Y. E. Generalova, R. Ermachenkov, G. M. Alekseeva, E.V. Kuvaeva, I. P. Yakovlev //ChemistrySelect. – 2023. – Vol. 8. – №. 1. – P. e202204295 (Scopus, Web of Science).

5. **Trukhanova Y. A.** Preparation of *N*- and *C*-Functionally-Substituted Glutarimides: A Review / **Y. A. Trukhanova**, N. M. Chernov, E. V. Kuvaeva, I. P. Yakovlev //Synthesis. – 2023. – Vol. 55. – №. 16. – P. 2415 (Scopus, Web of Science).

6. **Trukhanova, Y.** Facile directed synthesis of (*Z*)-1-(aryl(arylimino)methyl)piperidine-2,6-diones from *C,N*-diarylformamidines. / **Y. A. Trukhanova**, D. V. Spiridonova, E.V. Kuvaeva, N. M. Chernov, G. M. Alekseeva, M. V. Sopova, I. P. Yakovlev // Asian Journal of Organic Chemistry. – 2023. – Vol. 12. – №. 8. – P. e202300324 (Scopus, Web of Science).

**Прочие статьи:**

7. **Труханова Ю.А.** Синтез новых производных пирролидин-2,5-диона, обладающих анальгезирующей активностью / **Ю.А. Труханова**, Д.А. Колесник,

И.П. Яковлев, Е.В. Куваева, А.Э. Потапова, А.Е. Щеголев, Е.В. Федорова // Бутлеровские сообщения. – 2022. – Т.70. – № 4. – С.14-20.

8. **Trukhanova Y. A.** Synthesis and biological activity of new derivatives of isoindoline-1,3-diones as non-steroidal analgesics / **Y. A. Trukhanova**, E. V. Kuvaeva, D.A. Kolesnik, E. V. Kuvaeva,, G. V. Ksenofontova, M. V. Sopova, I. P. Yakovlev // Chemistry Proceedings, – 2022. – Vol. 8. – P. 9

9. **Труханова Ю.А.** Проверка пригодности методики ВЭЖХ для анализа 2-(4-нитрофенилимино)(фенил)(метил)изоиндолин-1,3-диона / Алексеева Г.М., Куваева Е.В., Фатхуллаева М.Ф. // Материалы III международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию ташкентского фармацевтического института «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы», Ташкент, 25-26 ноября 2022 г. – Ташкент, 2022, – С. 140-141.

10. **Труханова Ю.А.** Разработка методики количественного определения нового анальгезирующего средства / **Ю.А. Труханова**, Г.М. Алексеева, Е.В. Куваева // Сборник научных трудов 3-й Международной конференции, посвященной 110-летию доктора биологических наук, профессора А.П. Бресткина, Санкт-Петербург, 1–2 декабря 2022 г. – С. 179-182.

11. **Труханова Ю.А.** Исследование токсичности и анальгезирующей активности новых производных пирролидин-2,5-диона / **Ю.А. Труханова**, Е.В. Куваева, И.П. Яковлев / Сборник научных трудов 3-й Международной конференции, посвященной 110-летию доктора биологических наук, профессора А.П. Бресткина, Санкт-Петербург, 1-2 декабря 2022 г. – С. 112-118.

12. Дубовицкая, О.В. Синтез и биологическая активность новых бис(пирролидин-2,5-дионов). / О.В. Дубовицкая, **Ю.А. Труханова**, Е.В. Куваева // Сборник материалов Научно-методической конференции с международным участием «Сандеровские чтения», посвященной памяти выдающегося отечественного ученого в области технологии лекарств Юрия Карловича Сандера, Санкт-Петербург, 27 января 2023 г. С. 180-182.

13. **Труханова Ю.А.** Расширение ряда новых потенциальных анальгезирующих средств / **Ю.А. Труханова**, Е.В. Куваева, И.П. Яковлев // Сборник материалов Научно-методической конференции с международным участием «Сандеровские чтения», посвященной памяти выдающегося отечественного ученого в области технологии лекарств Юрия Карловича Сандера, Санкт-Петербург, 27 января 2023 г. – С. 216-218.

14. **Труханова Ю.А.** Оценка линейности и правильности при аттестации первичного стандартного образца / **Ю.А. Труханова**, Е.В. Куваева, Г.М. Алексеева // Сборник материалов Научно-методической конференции с международным участием «Сандеровские чтения», посвященной памяти выдающегося отечественного ученого в области технологии лекарств Юрия Карловича Сандера, Санкт-Петербург, 27 января 2023 г. – С. 245-247.

15. **Труханова Ю.А.** Количественное определение методом ЯМР-спектроскопии / **Ю.А. Труханова**, Ю.В. Маркелова, Г.М. Алексеева, Е.В. Куваева // Сборник материалов Научно-методической конференции с международным участием «Сандеровские чтения», посвященной памяти выдающегося отечественного ученого в области технологии лекарств Юрия Карловича Сандера, Санкт-Петербург, 27 января 2023 г. С. 247-249.

16. **Труханова Ю.А.** Синтез нового N-замещенного производного глутаримида, как потенциального анальгезирующего средства / **Ю.А. Труханова**,

Е.В. Куваева, И.П. Яковлев // Материалы 1-ой республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли», Ташкент, 2023. – С. 16-17.

17. Дубовицкая, О.В. Синтез и биологическая активность новых бис(пирролидин-2,5-дионов). / О.В. Дубовицкая, **Ю.А. Труханова**, // Сборник материалов конференции «Молодая фармация – потенциал будущего», XIII всероссийская научная конференция школьников, студентов и аспирантов с международным участием, 1 марта – 11 апреля 2023 г. Изд-во СПХФУ, 2023. – С. 12-14.

**Патент:**

18. Патент РФ № 2 807 909 С07D 211/88 (2006.01) А61К 31/45 (2006.01) А61Р 29/00 (2006.01) Опубликовано: 21.11.2023 Бюл. № 33, 1-(фенил{фенилимино}метил)пиперидин-2,6-дион и способ его получения. **Ю.А. Труханова**, Е.В. Куваева, Д.Ю. Ивкин, Т.Л. Семакова, Г.В. Ксенофонтова, И.П. Яковлев. Заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. - Заявка: 2023105548, 09.03.2023.