На правах рукописи

ШАТАЛОВА НИНА ИГОРЕВНА

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ КАЛИКС[4]РЕЗОРЦИНОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ АЗОТСОДЕРЖАЩИМИ ФРАГМЕНТАМИ

02.00.03 - Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук

Работа выполнена на кафедре органической химии ГОУ ВПО "Казанского государственного технологического университета".

Научный руководитель кандидат химических наук, доцент

Гаврилова Елена Леонидовна

Официальные оппоненты:

доктор химических наук, доцент Верещагина Яна Александровна

кандидат химических наук, с.н.с. Зиганшина Альбина Юлдусовна

Ведущая организация: Казанский государственный университет

имени В.И. Ульянова - Ленина

Защита состоится <u>14 ноября</u> 2008 г в 15 часов на заседании диссертационного совета Д 212.080.07 при Казанском государственном технологическом университете по адресу: 420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68, зал заседаний Ученого совета A-330.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Казанского государственного технологического университета.

Электронный вариант автореферата размещен на сайте Казанского государственного технологического университета http://www.kstu.ru.

Автореферат разослан «Н» октябрь 2008 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат химических наук, доцент

Захаров В.М.



ОБШАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Одной из бурно развивающихся областей химии макроциклических соединений является химия каликс[4]резорцинов — макроциклических тетрамеров, которые отличаются простотой получения и возможностью дальнейшей функционализации.

каликс[4]резорцинов Химическая модификация получать позволяет соединения, обладающие рядом важных свойств: комплексообразование по типу "гость - хозяин" с заряженными и нейтральными молекулами, а также склонность к самоассоциации, приводящая к формированию супрамолекулярных ансамблей. Сочетание этих необычных свойств каликсаренов открывает пути создания новых супрамолекулярных структур, играющих важную роль В биологических. каталитических и других прикладных аспектах.

Особый интерес представляют собой азотсодержащие каликс[4]резорцины, в частности аминосодержащие. Эти соединения могут быть базовыми (за счет участия аминогрупп) в синтезе новых типов кавитандов, контейнерных соединений и нанотрубок. Кроме того, функционализация каликс[4]резорцинов потенциальными биологически активными фрагментами (например, остатками аминокислот и их производных) может привести к созданию новых типов экстрагентов биологических молекул и лекарственных препаратов.

Таким образом, разработка методов синтеза каликс[4]резорцинов, несущих азотсодержащие группы, как на нижнем, так и верхнем "ободе" молекулы, представляется важной и актуальной задачей.

Цель работы. Синтез и изучение структуры новых каликс[4]резорцинов модифицированных различными азотсодержащими фрагментами по верхнему и нижнему "ободу" молекулы.

Научная новизна:

- синтезирован и охарактеризован новый тип каликс[4]резорцинов, полученный: 1) реакцией кислотно катализируемой конденсации резорцина и его производных с *n*-аминобензальдегидом и *n*-N,N диметиламинобензальдегидом. *П*-аминобензальдегиды являются принципиально новыми объектами в конденсации подобного типа. 2) введением аминогрупп различного строения в готовую каликсареновую матрицу с использованием реакции Манниха.
- впервые осуществлено аминоалкилирование каликс[4]резорцина, несущего ароматический фрагмент на нижнем "ободе" молекулы, аминокислотами (глицином, DL-аланином, DL-валином), этиловыми эфирами аминокислот и хлоргидратами этиловых эфиров этих аминокислот. Найдено, что природа аминокислотного реагента влияет на направление реакции аминоалкилирования. Осуществлен компьютерный прогноз биологической активности новых каликс[4]резорцинов, функционализированных аминокислотами и их производными.
- впервые проведено первичное тестирование каликс[4]резорцина, функционализированного глицином, на белых мышах, которое выявило увеличение психотропной и ноотропной активности препарата глицин, связанного с каликс[4]резорцином.
- впервые исследовано взаимодействие гидразидов фосфорилуксусных кислот (фосеназида [(2-дифенилфосфорил)ацетогидразид] и КАПАХа {2-[4-(дифениламино)фенил]-[(2-хлорэтокси)фосфорил]ацетогидразид}) с каликс[4]резорцином, несущим *п*-толильный радикал по нижнему "ободу" молекулы. Показано, что взаимодействие осуществляется по типу «гость хозяин».

Фармакологические исследования синтезированных комплексов по типу «гость - хозяин» показали, что они обладают более выраженной психотропной и нооторопной активностью по сравнению с исходной субстанцией.

Практическая значимость работы: Разработаны эффективные методы синтеза аминосодержащих каликс[4]резорцинов. По внеэкспериментального скрининга у каликс[4]резорцинов, функционализированных аминокислотами, эфирами и хлоргидратами эфиров аминокислот, прогнозируются следующие виды биологической активности: антигерпесная, антиссборрейная, ингибирования трансаминазы, фосфатазы, и др. Первичное фармакологическое тестирование каликс[4]резорцина, функционализированного глицином показало увеличение психотропной и ноотропной активности, по сравнению с препаратом глицин. Получены новые комплексные соединения («гость - хозяин») на базе каликс[4]резорцина и гидразидов фосфорилуксусных кислот (фосеназида и КАПАХа), известных в качестве лекарственных препаратов. Фармакологические исследования данных комплексов показали, что они обладают более выраженной психотропной и ноотропной активностью по сравнению с исходной субстанцией.

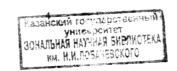
Апробация работы и публикации. Материалы диссертации докладывались и обсуждались на Международном симпозиуме «Molecular Design and Synthesis of Supramolecular Architectures» (Казань, 2004г.); VIII Молодежной научной школе конференции по органической химии (Казань, 2005г.); V, VI, VII Республиканской школе студентов и аспирантов «Жить в XXI веке» (Казань 2005, 2006, 2007); Научной сессии КГТУ (Казань, 2004, 2005, 2006, 2007); Advanced Science in Organic Chemistry (Судак, Крым, 2006г.), International Conference «Chemistry, Chemical Engineering, and Biotechnology» (Томск, 2006г.); XIV Всероссийской конференции «Структура и молекулярных систем» (Казань, 2007); Всероссийской студенческой конференции по естественнонаучным и техническим дисциплинам «Научному прогрессу - творчество молодых» (Йошкар-Ола, 2007, 2008); XVIII Российской молодёжной научной конференции, посвящённой 90-летию со дня рождения профессора В.А. Кузнецова (Екатеринбург, 2008); XVIII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Москва, 2007), XV International Conference on Chemistry of Phosphorus compounds (Санкт-Петербург, 2008).

По материалам работы опубликовано 10 работ (3 статьи и 7 тезисов докладов)

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 124 страницах, содержит 27 таблиц, 15 рисунков; состоит из введения, трех глав (в первой главе представлен литературный обзор, во второй главе приведены результаты собственных исследований и их обсуждение, в третьей главе содержится описание проведенных экспериментов), выводов, приложения и списка литературы, включающего 111 ссылок на отечественные и зарубежные работы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 04-03-32512, 07-03-00863).

Фосфорорганические соединения — фосеназид и КАПАХ синтезированы на кафедре органической химии КГТУ под руководством к.х.н., в.н.с. Р.И.Тарасовой. Эксперименты по выявлению фармакологических эффектов были проведены аспирантом кафедры фармакологии фармацевтического факультета с курсами фармакогнозии и ботаники КГМУ Пашиной И.П. под руководством д.м.н., профессора Семиной И.И.



ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Развитие новых методов функционализации каликс[4]резорцинов с использованием элементорганических соединений представляет важную и актуальную задачу, так как каликс[4]резорцины являются ключевыми соединениями для конструирования новых типов пространственно - организованных структур, в частности, создания молекулярных трубок, селективных комплексообразователей, лекарственных препаратов.

С целью синтеза каликс[4]резорцинов, функционализированных по нижнему и верхнему "ободу" молекулы азотсодержащими фрагментами различного строения, в настоящей работе были использованы два подхода к функционализации, а именно:

- получение амино функционализированных каликс[4]резорцинов реакцией кислотно – каталитической конденсации резорцина и его производных с n-аминозамещенными бензальдегидами.
- использование готовой каликс[4]резорциновой матрицы для введения аминогрупп различного строения.

План обсуждения результатов следующий:

- Синтез каликс[4]резорцинов, амино функционализированных по нижнему и верхнему "ободу" молекулы.
- 2) Синтез каликс[4]резорцинов, функционализированных аминокислотами и их производными.
- Исследование взаимодействия каликс[4]резорцинов с гидразидами фосфорилуксусных кислот.

1.1 Синтез каликс[4]резорцинов, амино - функционализированных по верхнему и нижнему "ободу" молскулы.

1.1.1 Получение амино - функционализированных по нижнему "ободу" каликс[4] резорцинов реакцией кислотно - каталитической конденсации резорцина и его производных с *n*-аминозамещенными бензальдегидами.

С целью синтеза каликс[4]резорцинов, несущих на нижнем ободе молекулы аминогруппы, мы использовали первый подход к функционализации, который представляет собой конденсацию резорцина и сго производных с п-замещенными аминобензальдегидами, п-аминобензальдегид такими как N.Nдиметиламинобензальдегид. Данные ароматические альдегиды являются принципиально новыми объектами кислотно-каталитической конденсации резорцина и его произволных с альдегидами.

5

С целью исследования влияния природы растворителя и кислотного катализатора на направление реакции резорцина с *n*-аминобензальдегидом нами была изучена реакция конденсации в этаноле и в водно — спиртовом растворе в присутствии различных кислот. Было показано, что наибольшего выхода продукта конденсации удается добиться при проведении реакции в спиртовом растворе в присутствии концентрированной соляной кислоты.

Вещества, выделенные из реакционной смеси, были охарактеризованы методами ЯМР¹Н, ИК-спектроскопии, состав подтвержден данными элементного анализа. В соответствии с полученными данными мы полагаем, что:

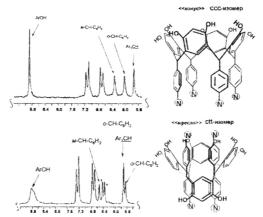
- 1) выделенные продукты представляют собой аммонийную соль;
- 2) продукт представляет собой смесь циклических тетрамерных изомеров в конформациях "конус" (ссс) и "кресло" (ctt).

В пользу первого довода говорят следующие факты: в ЯМР Н спектре сигналы метильных групп, соединенных с азотом, соединений 2а-в проявляются в области 3.5 м.д. в виде уширенного синглета; в ИК-спектре выделенных продуктов 2ав в области 2900-2300 см-1 наблюдаются полосы поглощения, которые можно соотнести с валентными колебаниями группы -NH*(CH₁)₂; в области 1429 см⁻¹ деформационные колебания группы $-NH^{+}(CH_3)_2$. Нами были предприняты попытки разрушения солевой структуры. При обработке водного раствора аммонийных солей щелочью выделить структуру со свободной Сложность аминогруппой нам не удалось. выделения каликс[4]резорцинов, содержащих свободную аминогруппу по нижнему ободу, вероятно, связана с ионизацией фенольного гидроксила в щелочной среде с образованием растворимых фенолятов.

1a, 2a 3a, 4a

Однако использование более слабых оснований: гидрокарбоната натрия в спиртовой среде, - привело к получению макроциклов со свободной аминогруппой **3a**, **4a** с удовлегворительным выходом. Известно, что солеобразование вызывает сильное изменение полос поглощения аминогруппы в ИК-спектре. Действительно в ИК-спектрах продуктов **3a**, **4a** исчезают полосы поглощения в области 2900-2300 см⁻¹, соответствующие колебаниям группы -NH⁺(CH₃)₂. В области 1039-1112 см⁻¹ наблюдаются скелетные колебания C-N аминогруппы, которые не наблюдались в ИК-спектре продуктов **1a**, **2a**.

В пользу второго довода говорит тот факт, что в ЯМР¹Н спектрах выделенных продуктов реакции конденсации наблюдаются резонансные сигналы конформационно зависимых протонов (о- и м- протоны резорцинольного кольца, метиновый протон), относящиеся как к конформации "конус", так и к конформации "кресло". Нами были предприняты попытки разделения смеси изомеров с помощью метода перекристаллизации. Было замечено, что растворимость ссс-изомера в органических растворителях во многих случаях ниже, чем растворимость ctt-изомера. Выход изомера "конус" составляет 72%, а изомера "кресло" 28%, соответственно.



В ЯМР¹Н спектре соединения **3**а в конформации "конус" и конфигурации ссс наблюдается только один набор сигналов конформационно зависимых *о-* и *м*-протонов резорцинольного кольца в области 6.05 м.д. и 6.24 м.д., соответственно. Для конформации "кресло" с конфигурацией сtt того же соединения наблюдается удвоение сигналов *о-* и *м-* протонов резорцинольного кольца, которые проявляются в виде двух синглетов в области 5.76 м.д., 6.37 м.д. и 6.42 м.д., 6.57 м.д., соответственно (схема 1).

Механизм образования каликс[4] резорцинов включает в себя стадию электрофильного замещения в ароматическом ядре. Следовательно, заместитель в резорцинольном кольце и строение аминогруппы в бензальдегиде должны оказывать влияние конденсации. Действительно, процесс выхол циклотетрамеризации увеличивается в ряду: пирогаллол, 2-метилрезорцин, резорцин, что согласуется с ориентирующим влиянием заместителей в ароматическом ядре. Влияние строения аминогруппы в бензальдегиде на процесс конденсации сказывается следующим образом: п-аминобензальдегид более реакционноспособен, чем N,Nдиметиламинобензальдегил. большей TO связано основностью N.Nдимеметиламиногруппы, которая обладает большим донорным эффектом по отношению к ароматическому ядру, и, тем самым, в большей степени уменьшает положительный заряд на углеродном электрофильном центре, находящемся в пположении.

Соединение 3a в конформации "кресло" было исследовано в реакции комплексообразования с K_2PdCl_4 . Структура комплексного соединения 5 была исследована с помощью методов ИK-, $ЯMP^1H$ — спектроскопии По данным элементного анализа соотношение металл - лиганд в координационном узле супрамолекулярного комплекса составляет 1:1.

1.2 Введение аминосодержащего фрагмента в *о*-положение к гидроксильным группам резорцинольного кольца по реакции Манниха

С целью синтеза каликс[4]резорцинов, содержащих аминогруппы в о-положении к гидроксильным группам резорцинольного кольца, мы использовали

второй подход к функционализации, который базируется на введении аминосодержащего фрагмента в готовую каликсареновую матрицу.

Одним из наиболее простых и удобных методов введения аминосодержещего фрагмента в каликсареновую матрицу является реакция Манниха. Этот синтетический прием успешно реализован на примере аминометилирования каликс[4]резорцинов, несущих различные алкильные радикалы по нижнему ободу молекулы.

Особенностью нашего подхода к модификации каликс[4]резорцинов реакцией аминоалкилирования является введение в реакцию Манниха каликсрезорцинов, содержащих ароматический фрагмент (фенильный и *п*-толильный) на нижнем ободе молекулы. В качестве аминоалкилирующих реагентов были использованы: диметиламин, диэтиламин, дипропиламин, метилбензиламин и дифениламин.

Стросние соединений 6-13 доказано данными ИК-, ЯМР ¹Н - спектроскопии, состав элементным анализом. В ИК-спектрах соединений 6-13 присутствует интенсивная характеристическая полоса поглощения валентных колебаний С=С ароматического ядра в области 1610 см⁻¹, полоса поглощения при 3250 см⁻¹, характерная для колебаний гидроксильных групп каликсарена. Продуктов аминоалкилирования каликсаренов 14, 15 дифениламином нам получить не удалось.

Соединение 8 в конформации "конус" было исследовано в реакции комплексообразования с RhCl₃·3H₂O и Rh₂(CH₃COO)₄·2H₂O. Структуры комплексных соединений 16, 17 были исследованы с помощью методов ИК-, 9 МР 1 Н — спектроскопии. По данным элементного анализа соотношение металл — лиганд в координационном узле супрамолекулярных комплексов 16, 17 составляет 4:1.

1.3 Синтез структур, несущих аминосодержащие фрагменты по верхнему и нижнему "ободу" молекулы

Соединения, несущие аминосодержащие фрагменты по верхнему и нижнему "ободу", были получены на основе двух базовых структур:

 каликс[4]резорцина 18, имеющего активные атомы водорода, как по верхнему, так и по нижнему "ободу", который был получен по реакции кислотно — катализируемой конденсации резорцина с 3,5-дигидрокси бензальдегидом. Спектральные данные указывают на то, что соединение 18 находится в конформации "конус".

2) каликс[4]резорцина **3а**, имеющего активный атом водорода по верхнему "ободу" и аминогруппу по нижнему "ободу".

Выделенные соединения 19-24 были охарактеризованы методами ЯМР¹Н- и ИК-спектроскопии, состав подтвержден данными элементного анализа.

2. Синтез каликс[4]резорцинов, функционализированных аминокислотами и их производными; компьютерный прогноз их потенциальной биологической активности

Аминометилирование каликсаренов аминокислотами, как частный случай реакции Манниха, недостаточно освещен в литературе, в то время как состав предполагаемых продуктов указывает на их потенциальную биологическую активность. Следовательно, синтез и изучение свойств каликс[4]резорцинов, функционализированных аминокислотными остатками, представляет практический интерес. Кроме того, наличие свободной карбоксильной группы аминокислоты дает возможность для дальнейшей функционализации каликсрезорцинольной матрицы и, соответственно, получения новых типов супрамолскул.

2.1 Синтез каликс[4]резорцинов функционализированных аминокислотами и их производными

В качестве объекта исследования был выбран каликс[4]резорцин 25, несущий толильный радикал по нижнему ободу, который был получен реакцией кислотно-катализируемой конденсации резорцина с *п*-толуиловым альдегидом. В качестве аминоалкилирующих реагентов были использованы аминокислоты (глицин, D,L-аланин и D,L-валин), этиловые эфиры и хлоргидраты этиловых эфиров данных аминокислот. Глицин, D,L-аланин, D,L-валин и их производные имеют в своем составе первичную аминогруппу. Использование первичных аминов в реакции аминоалкилирования каликс[4]резорцинов по Манниху обычно приводит к образованию оксазинильной структуры за счет участия второго атома водорода первичной аминогруппы, однако введение в реакцию стерически загруженных первичных аминов в некоторых случаях приводит к образованию оснований Манниха.

Взаимодействие каликс[4] резорцина 25 с аминокислотами

Взаимодействие каликсрезорцина 25, водных растворов аминокислот и формальдегида в этанольно-бензольной смеси в соотношении 1:1 приводит к образованию аминоалкилированных по Манниху каликс[4]резорцинов 26-28 с выходом около 65%.

26-28

Продукты реакции 26-28, по-видимому, сохраняют цвиттер-ионную структуру, характерную для аминокислот, что приводит к неактивности второго атома водорода аминогрупп и, следовательно, образование оксазинильной структуры не наблюдается. В ИК-спектрах аминометилированных каликс[4] резорцинов 26-28 наблюдается интенсивная полоса поглощения в области $3000-2400 \, \text{cm}^{-1}$, характерной для валентных колебаний группы NH_2^+ . Сигнал метиленовых протонов фрагмента C_{ap} -CH₂-N соединений 26-28 проявляется в виде синглета в области 3.75 м.д., 3.88 м.д., 3.62 м.д., соответственно, что согласуется с литературными данными.

Взаимодействие каликс[4] резорцина 25 с эфирами аминокислот

Взаимодействие каликсрезорцина 25, этиловых эфиров аминокислот и формальдегида приводит к формированию на верхнем ободе молекулы четырех оксазинильных фрагментов за счет участия в конденсации двух протонов первичной аминогруппы. Средний выход продуктов 29-31 составляет 65%. В спектре ЯМР 1 Н выделенных соединений 29-31 помимо сигнала метиленовых протонов фрагмента $C_{\rm ap}$ - CH_{2} - N в области 3.9-4.0 м.д. (мультиплет) обнаруживается резонансный сигнал в

области - 4.8 м.д. (мультиплет), относящийся к метиленовым протонам оксазинильного фрагмента $O\text{-}CH_2N$.

Взаимодействие каликс[4]резорцина 25 с хлоргидратами эфиров аминокислот

Взаимодействие резорцина 25, гидрохлоридов этиловых эфиров аминокислот и формальдегида в диоксане приводит к образованию аминоалкилированных каликс[4]резорцинов 32-34, включающих кватернизированный атом азота, с выходом около 70%.

32-34

Сигнал метиленовых протонов фрагмента $C_{\rm ap}$ -CH₂-N соединений **32-34** проявляется в виде синглета в области 3.80 м.д., 3.86 м.д., 3.67 м.д., соответственно, что соответствует литературным данным. Гидроксильные и вторичные аммонийные группы представлены в ИК-спектре в виде широких полос, проявляющихся в области $3500-3100~{\rm cm}^{-1}$.

2.2 Компьютерный прогноз потенциальной биологической активности с помощью программы PASS каликс[4]резорцинов функционализированных аминокислотами и их производными

Для соединений 26-34 был произведен компьютерный прогноз потенциальной биологической активности с использованием программы PASS. PASS — современная версия компьютерной системы предсказания биологической активности.

Биологическая активность описывается в PASS C&T качественным образом. Прогноз спектра биологической активности осуществляется на основе структурной формулы химического соединения, он может быть выполнен уже на этапе планирования синтеза. Средняя точность прогноза с помощью PASS составляет около 84%. Расчеты показали, что каликс[4]резорцины, функционализированные аминокислотными фрагментами, проявляют биологическую активность в следующих областях: антигерпесная, антисеборрейная, ингибирование трансаминазы и фосфатазы, успокоительное средство и др.

Одним из наиболее интересных соединений в плане биологической активности нам представляется каликс[4]резорцин, функционализированный глицином, так как глицин применяется в практической медицине для лечения различных поражений нервной системы.

В таблице **1** приведены в качестве примера, расчетные данные потенциальной биологической активности каликс[4]резорцина, функционализированного глицином **26**.

Таблица 1. Расчетные данные потенциальной биологической активности каликс[4]резорцина, функционализированного глицином 26.

Pa	Pi	Активность
0,728	0,031	CYP2D16 substrate
0,660	0,013	Hypothermic
0,750	0,109	Antiseborrheic
0,656	0,030	Opine dehydrogenase inhibitor
0,618	0,019	Vasodilator
0,510	0,023	Interferon agonist
0,596	0,135	Phosphatase inhibitor
0,405	0,006	Dimethylhistidine N-methyltransferase inhibitor
0,497	0,112	Inflammatory Bowel disease treatment
0,418	0,051	Antihypertensive

Соединение 26 прошло фармакологические исследования в Казанском государственном медицинском университете. С целью изучения влияния соединения 26 на центральную нервную систему (ЦНС) было проведено исследование на:

- 1) способность улучшать процессы обучения (ноотропная активность)
- 2) двигательную и исследовательскую реакцию (ориентировочная активность)
- 3) анксиолитическую активность (психотропное действие)

Эксперименты проведены на 80 белых мышах массой 18-20 г. Препараты вводили в следующих дозах: каликсарен 300 мг/кг, глицин 100 мг/кг, соединение 26 400 мг/кг. В качестве контрольной группы использовали глицин и 2% крахмальный раствор слизи.

Скрининг ноотропной активности соединения 26 проводили с помощью метода условной реакции пассивного избегания (УРПИ) у белых мышей. Выработку УРПИ осуществляли в камере, состоящей из 2-х отсеков — светлого и темного, снабженного электрическим полом. В первый день опыта животное, заходя в темный отсек, получало электроболевое раздражение. Во второй день эксперимента в течение 3-х минут оценивали латентный период захода мышей в темный отсек (это время с момента помещения мыши в камеру до ее захода в темный отсек). Вещества вводили

внутрибрюшинно за 30 минут до обучения. Чем выше длительность латентного периода захода мышей в темный отсек, тем выше ноотропная активность препарата. Длительность выражается в секундах или процентах к контролю.

Исследования показали, что использование соединения **26** приводит к увеличению латентного периода захода животного в темный отсек (в 2,6 раз по сравнению с контрольной группой), что указывает на его способность в большей степени улучшать процесс памяти (рис.1).



Рис.1. Диаграмма УРПИ

Ориентировочная реакция соединения 26 исследовалась с помощью теста "открытое поле". Животное помещалось в камеру — «открытое поле» размером 120*120, пол которой разделен на 16 квадратов (длина стороны 15 см) и три концентрические зоны, на пересечении сторон квадратов имелись отверстия диаметром 2,5 см. По числу пересечения сторон квадрата определяли двигательную активность мышей, что отражает неспецифический уровень возбуждения. По числу обследованных отверстий регистрировали показатель исследовательской активности животного.

Тест направлен на исследование угнетения ориентировочной реакции мышей. Оценка осуществлялась по числу пересеченных линий и числу заглядываний за 3 мин или в процентах к контролю. Чем процент ниже, тем седативное (успокаивающая) активность препарата выше. Установлено, что соединение 26 в исследуемой дозе вызывает более выраженное угнетение исследовательской и двигательной реакции у мышей (рис. 2).



Рис.2. Диаграмма ориентировочной реакции.

Для скрининговой оценки анксиолитической активности соединения 26 использовали метод конфликтной ситуации с водной депривацией. Тест основан на том, что животное подвергалось трехдневной пищевой и питьевой депривации. Конфликтная ситуация моделировалась на четвертый день в камере, снабженной

поилкой и полом, через который имеется возможность наносить электроболевое раздражение лап. Животное находилось в камере 5 минут для адаптации к обстановке, не получая в это время воды, затем ему вводили препараты и через 40 минут вновь помещали мышь в камеру с наполненной поилкой. При подходе и взятии воды из нее животное получало элетроболевое раздражение лап(1 мА, 50 Гц). Оценивалось число подходов и взятий воды из поилки, а также двигательная активность животного за 5 минут. Об эффективности исследуемых соединений судили по изменению числа подходов к поилке животных опытной группы по сравнению с контрольной (рис.3). Результаты исследований показали, что глицин, находящийся в составе молекулы каликсарена, обладает максимальной анксиолитической (психотропной) активностью.



Рис.3. Диаграмма анксиолитической активности.

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КАЛИКС[4]РЕЗОРЦИНОВ С ГИДРАЗИДАМИ ФОСФОРИЛУКСУСНЫХ КИСЛОТ

Известно несколько примеров использования гидразидов в реакции Манниха для аминоалкилирования различных вторичных аминов. Примеров введения гидразидов в реакцию с каликсрезорцинами не было найдено. Гидразиды фосфорилуксусных кислот [2-(дифенилфосфорил)ацетогидразид] 35 - фосеназид и 2-[4-(дифениламино)фенил]-[(2-хлорэтокси)фосфорил] ацетогидразид 36 - КАПАХ, являются биологически активными соединениями, а именно, они проявляют комплекс эффектов на центральную нервную систему.

Гидразид 35 рекомендован для широкого клинического применения в качестве транквилизатора и антиалкогольного средства и, как дополнительно показано в клинике, обладает ноотропным и антидепрессивным действием. Гидразид 36 на стадии экспериментального изучения проявил свойства нейропротектора, антидепрессанта и способность улучшать память, что свидетельствует о перспективности его использования в качестве ноотропа с антидепрессивным компонентом.

Нами было выдвинуто предположение, что гидразиды 35, 36 могут вступать во взаимодействие с каликс[4]резорцинами либо в качестве аминоалкилирующего

реагента по реакции Манниха в *о-* положение по отношению к гидроксильным группам, либо в качестве «гостя» в комплексообразовании по типу «гость - хозяин».

Взаимодействие каликс[4]резорцина 25 с гидразидами фосфорилуксусных кислот.

Первым этапом нашей работы стало исследование взаимодействия каликс[4] резорцина 25 с гидразидами 35, 36 в условиях реакции Манниха. С целью изучения структуры выделенные продукты 37, 38 были исследованы методами ЯМР¹Н, ³¹Р, ИК-спектроскопии, состав определялся методом элементного анализа. Соединения 37 и 38 прошли многократную перекристаллизацию с целью подтверждения, что продукт реакции является индивидуальным соединением, а не механической смесью.

Было установлено, что:

- 1) в спектрах ЯМР ¹Н присутствуют сигналы, относящиеся как к структуре каликс[4]резорцина 25, так и к структуре гидразидов 35 и 36.
- 2) в ЯМР ³¹Р спектрах соединений **37**, **38** наблюдаются резонансные сигналы фосфора в области **26** м.д. и **37**.45 м.д., соответственно;
- 3) в ИК спектрах выделенных соединений в области 840 см-1 наблюдается полоса поглощения, характеризующая тетрамерную структуру исходного каликс[4]резорцина. Так, в ИК-спектре соединения 37 полоса поглощения $\nu_{c=0}$ проявляется в области 1684 см⁻¹, а соединения 38 в области 1685 см⁻¹. Наличие фосфора в органической молекуле вызывает появление в ИК спектре весьма характерных полос. Группа P-Ar характеризуется полосами поглощения в интервалах 1450-1435 см⁻¹ и 1005-995см⁻¹. Колебания, связанные с группой P=O, проявляются в области 1350-1175 см⁻¹. Поэтому полосу поглощения в области 1181 см⁻¹ можно соотнести с P=O группой. В области 3400 см⁻¹ наблюдается уширенный сигнал, который относится к валентным колебаниям как группы NH, так и группы OH.
- 4) по данным элементного анализа можно сделать вывод, что на одну структуру каликс[4] резорцина приходится две молекулы фосеназида (соединение 35) и одна молекула КАПАХа (соединение 36).

Совокупность полученных данных не позволяет однозначно установить наличие или отсутствие ковалентного связывания между каликс[4]резорцином и гидразидами 35, 36. С целью прояснения ситуации нами был проведен следующий эксперимент: выделенные соединения 37, 38 вводили в реакцию ацилирования уксусным ангидридом. Мы полагали, что при замене атомов водорода гидроксильных групп на объемный заместитель конформация "конус" должна перейти в конформацию "раскрытый конус". Если реализуется ковалентное связывание, то в спектрах ЯМР ¹Н и ³¹Р выделенных ацилированных соединений мы будем наблюдать сигналы, характерные как для гидразидов 35, 36, так и для каликсрезорцина. Если не реализуется ковалентное связывание, то мы имеем дело с комплексами по типу «гость - хозяин», при раскрытии конуса молекула «гостя» выйдет из молекулярной полости «хозяина» и мы выделим ацелированный каликс[4]резорцин.

Действительно, в результате ацилирования мы выделили в индивидуальном виде ацилированный по верхнему ободу каликс[4]резорцин 39 и фосфорсодержащее соединение 40, химический сдвиг ядра фосфора которого совпадает с химическим сдвигом ядра фосфора фосеназида.

Таким образом, мы полагаем, что взаимодействие каликс[4]резорцина **25** и гидразидов **35**, **36** протекает с образованием комплексов по типу «гость - хозяин». По данным элементного анализа состав комплекса **37** (каликсрезорцин — фосеназид) - 1:2, состав комплекса **38** (каликсрезорцин — КАПАХ) - 1:1.

Комплексы 37, 38 обладают ограниченной растворимостью в воде, в то время как для испытания фармакологических свойств растворимость в воде является важным фактором. Поэтому нами был получен комплекс 42 на базе фенолята натрия 41 и фоссназида 35. По данным элементного анализа состав комплекса 42 - 1:2.

Следующим этапом было исследование взаимодействия каликс[4] резорцина **25** с гидразидами **35**, **36** без участия формальдегида.

Выделенные соединения **43**, **44** были исследованы методами ЯМР¹Н, ³¹Р и ИК-спектроскопии, состав подтвержден данными элементного анализа. Данные элементного анализа показывают, что на одну молекулу каликсрезорцина **25** приходится четыре молекулы фосеназида (соединение **43**) и одна молекула КАПАХа (соединение **44**).

Соединения 37, 38, 42, 43,44 прошли фармакологические исследования в Казанском государственном медицинском университете.

Одной из задач эксперимента было исследование острой токсичности соединений. Результаты исследований показали, что нерастворимые в воде соединения 37, 38, 42, 43, 44 являются малотоксичными; L_{D50} составляет $5000 \, \text{мг/кг}$, в то время как натриевая соль $42 \, \text{уже}$ в дозе $500 \, \text{мг/кг}$ оказывает сильное раздражающее действие на организм животного, вызывает выраженное угнетение и судороги.

С целью изучения влияния исследуемых соединений на центральную нервную систему (ЦНС) был проведен скрининг ноотропной активности (тест УРПИ), исследована седативная активность (тест угнетение ориентировочной реакции мышей), а также анксиолитической активности (тест конфликтная ситуация) (описание методов приведено в разд. 2.2).

Эксперименты проведены на 80 белых мышах массой 18-20 г. Препараты вводили в следующих дозах: каликсрезорцин - 500 мг/кг, комплексы 37, 43 500 мг/кг. В качестве контрольной группы использовали раствор фосеназида и 2% раствор крахмальной слизи. Препараты 38, 44 вводили в следующих дозах 38 – 250 мг/кг, 44 - 250 мг/кг, КАПАХ – 300 мг/кг (доза, которая вызывает максимальное угнетение ЦНС), каликсрезорцин -200 мг/кг внутрибрюшинно за 40 минут до начала опыта. Так как препараты практически нерастворимы в воде, использовали их взвеси на 2% крахмальной слизи. Контрольным животным инъецировались соответствующие объемы 2% крахмальной слизи.

Скрининг ноотропной активности соединений **37, 38, 44** проводили с помощью метода условной реакции пассивного избегания (УРПИ) у белых мышей.

Соединение 38 максимально приводит к увеличению латентного периода захода животного в темный отсек по сравнению с контрольной группой, и почти сравним по активности с фосеназидом (рис. 4).



Рис.4. Диаграмма УРПИ.

Ориентировочная реакция соединений **37, 38, 43, 44** исследовалась с помощью теста "открытое поле".

Установлено, что соединения **37**, **43** вызывают в исследуемой дозе более выраженное угнетение исследовательской и двигательной реакции у мышей по сравнению с исходной субстанцией (фосеназидом). Соединения **38**, **44** вызывают менее выраженное угнетение исследовательской и двигательной реакции у мышей по сравнению с исходной субстанцией (КАПАХом) (рис.5).



Рис.5. Диаграмма ориентировочной реакции.

Для скрининговой оценки анксиолитической активности соединения 37 использовали метод конфликтной ситуации с водной депривацией.

Результаты тестирования показали, что соединение **37** обладает большей психотропной (анксиолитической) активностью, по сравнению с фосеназидом (рис.6).



Рис.6. Диаграмма анксиолитической активности.

Основные результаты и выводы

- 1. Новый тип каликс[4]резорцинов был получен реакцией кислотно катализируемой конденсации резорцина и его производных с *п*-аминобензальдегидом и *п*-N,N-диметиламинобензальдегидом. Аминосодержащие бензальдегиды являются принципиально новыми объектами в конденсации подобного типа. Проведено систематическое исследование влияния природы исходных реагентов на процесс конденсации. Выделенные соединения были изучены в реакциях комплексообразования с K₂PdCl₄.
- 2. Впервые осуществлено диалкиламинометилирование по Манниху, каликс[4]резорцинов, несущих ароматический фрагмент на нижнем "ободе" молекулы. Показано, что природа алкильного заместителя в исходном амине влияет на выход продукта реакции. Выделенные соединения были изучены в реакциях комплексообразования с солями Rh(II, III).
- 3. Предложен оригинальный подход к синтезу новых каликс[4]резорцинов аминофункционализированных одновременно по верхнему и нижнему "ободу" молекулы. В качестве базовых структур были использованы: 1) каликс[4]резорцин, имеющий активные атомы водорода по верхнему и по нижнему "ободу"; 2) каликс[4]резорцин, имеющий активный атом водорода по верхнему "ободу" и аминогруппу по нижнему "ободу" молекулы.

4. Впервые осуществлено систематическое исследование реакции аминоалкилирования каликс[4]резорцинов аминокислотами и их производными (этиловыми эфирами аминокислот и хлоргидратами этиловых эфиров аминокислот). Найдено, что природа аминокислотного реагента влияет на направление реакции аминоалкилирования. Осуществлен компьютерный прогноз биологической активности новых каликс[4]резорцинов, функционализированных аминокислотами и их производными.

 Проведено первичное тестирование каликс[4] резорцина, функционализированного глицином, на белых мышах, которое выявило увеличение психотропной и ноотропной

активности препарата глицин, связанного с каликс[4] резорцином.

6. Впервые исследовано взаимодействие гидразидов фосфорилуксусных кислот [2-(дифенилфосфорил)ацетогидразид] - фосеназид и 2-[4-(дифениламино)фенил]-[(2-хлорэтокси)фосфорил] ацетогидразид - КАПАХ, известных в качестве лекарственных средств, с каликс[4]резорцином, несущим *п*-толильный радикал по нижнему "ободу" молекулы. Показано, что взаимодействие осуществляется по типу «гость - хозяин». Фармакологические исследования синтезированных комплексов по типу «гость - хозяин» показали, что они обладают более выраженной ноотропной и психотропной активностью по сравнению с исходной субстанцией.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах

- 1. Шаталова Н.И. Каликс[4]резорцины с *пара*-аммониофенильными заместителями на нижнем ободе молекулы / Н.И. Шаталова, Е.Л. Гаврилова, А.А. Наумова, А.Р. Бурилов, Е.А. Красильникова, Л.Е. Фосс, М.А. Пудовик, А.И. Коновалов // Журн. общ. химии.- 2005.- Т.75.- Вып.8.- С. 1398-1399.
- 2. Шаталова Н.И. Синтез аминометилированных каликс[4]резорцинов / Н.И. Шаталова, Н.А. Сидоров, Е.Л. Гаврилова, Е.А. Красильникова // Вестник КГТУ.-2007.- № 3-4.- С. 41-43.
- 3. Наумова А.А. Изучение комплексообразования трихлорида родия с каликс[4] резорцинами, функционализированными по верхнему и нижнему ободу Р, N содержащими фрагментами / А.А. Наумова, Е.В. Гусева, Е.Л. Гаврилова, Н.И. Шаталова, Е.А. Красильникова, Д.Т. Каримова // Вестник КГТУ.- 2007.- № 3-4.- С. 34-36.
- 4. Gavrilova E.L. Synthesis of the low rim N-phunctionalizated calyx[4]resorcinearenes / E.L.Gavrilova, N.I.Shatalova, E.A. Krasilnikova, A.R. Burilov, M.A. Pudovik, A.I. Konovalov. // Abstracts of Third International symposium Molecular Design and Synthesis of Supramolecular Architectures.- Russia.- Kazan.- 2004.- P. 86.
- 5. Шаталова Н.И. Синтез каликс[4]резорцинаренов, фосфоразотфункционализированных по нижнему ободу / Н.И. Шаталова, А.А. Наумова, М.В. Колестникова, Е.Л. Гаврилова, Е.А. Красильникова, А.Р. Бурилов, М.А. Пудовик, А.И. Коновалов // Тезисы докладов VIII Молодежной научной школы-конференции по органической химии.-Россия,- Казань.- 2005.- С. 109.
- б. Гаврилова Е.Л. Синтез новых каликс[4]резорцинаренов, функционализированных азотсодержащими фрагментами по верхнему ободу / Гаврилова Е.Л., Шаталова Н.И., Наумова А.А., Красильникова Е.А., Писцов М.Ф., Бурилов А.Р., Пудовик М.А., Коновалов А.И. // Abstracts of International Symposium on Advanced Science in Organic Chemistry.- Crimea. Sudak.- 2006.- P. C-033;

- 7. Шаталова Н.И. Синтез аминометилированных калика[4] резорцинаренов./ Н.И. Шаталова, М.Ф. Писцов, Е.Л. Гаврилова, Е.А. Красильникова, А.Р. Бурилов., М.А. Пудовик, А.И. Коновалов. // Материалы IV Международной научной конференции «Химия, химическая технология и биотехнология на рубеже тысячелетий».- Россия.-Томск.- 2006.-Т.1.-С.342.
- 8. Гаврилова Е.Л. Синтез металлокомплексов на основе соединений Rh(II) и Rh(III) и новых типов моно- и бидентантных лигандов (P,N-функционализированных каликс[4]резорцинов) / Е.Л. Гаврилова, Е.В. Гусева, А.А. Наумова, Н.И. Шаталова, Е.А. Красильникова, А.Р. Бурилов, М.А. Пудовик, А.И. Коновалов // Тезисы докладов XVIII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии.- Россия.- Москва.-2007.- Т.1.- С.157.
- 9. Сидоров Н.А. Синтез каликс[4]резорцинов, несущих аминогруппы различного строения по верхнему и нижнему ободу молекулы / Н.А. Сидоров, Р.Р. Залялетдинова, Е.Л. Гаврилова, Н.И. Шаталова // Материалы Всероссийской научной студенческой конференции по естественнонаучным и техническим дисциплинам. Россия.- Йошкар-Ола.- 2007.-С.72.
- 10. Сидоров Н.А. Синтез и исследование биологической активности каликс[4]резорцинов, функционализированных аминокислотами и их производными / Н.А. Сидоров, Н.И. Шаталова, Е.Л. Гаврилова, Е.А. Красильникова // Тезисы докладов XVIII Российской молодежной научной конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора В.А. Кузнецова.- Россия.- Екатеринбург.- 2008.- С.324.
- 11. Gavrilova E.L. / New neurotropic agents the base of calix[4]resorcines and phosphorylacetic acid's hydrozides / E.L. Gavrilova, N.I. Shatalova, R.I. Tarasova, I.I. Semina, I.P. Pashina, M.N. Shipova, A.Z. Baychorina // Abstracts of XV-th International Conference on Chemistry of Phosphorus compounds.- Russia.- Saint Petersburg.- 20008.-P.133.

Mount-

Соискатель

Шаталова Н.И.

Отпечатано в ООО «Печатный двор».
2. Казань, ул. Журналистов, 1/16, оф.207
Тел: 272-74-59, 541-76-41, 541-76-51.
Лицензия ПД №7-0215 от 01.11.2001 г.
Выдана Поволжским межерегиональным территориальным управлением МПТР РФ.
Подписано в печать 10.10.2008г. Усл. пл. 1,25
Заказ № К-6578. Тираж 80 экз. Формат 60х84 1/16.
Бумага офсетная. Печать - ризография.