



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.12.14

(21) Номер заявки
202192876

(22) Дата подачи заявки
2014.04.10

(51) Int. Cl. C07D 403/12 (2006.01)
A61K 31/4164 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ БИСАМИДА ДИКАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

(31) 2013116822

(32) 2013.04.12

(33) RU

(43) 2022.06.03

(62) 201992275; 2014.04.10

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"ВАЛЕНТА-ИНТЕЛЛЕКТ";
ИП НЕБОЛЬСИН ВЛАДИМИР
ЕВГЕНЬЕВИЧ (RU)**

(72) Изобретатель:

**Небольсин Владимир Евгеньевич,
Кромова Татьяна Александровна,
Желтухина Галина Александровна
(RU)**

(74) Представитель:

**Назина Е.Е., Абубакиров С.Р.,
Медведев В.Н., Миц А.В. (RU)**

(56) BURAKOWSKI, Tadeusz Juliusz et al. Preparation of certain bis-compounds derived from β -(2-thienyl)ethylamine and β -(2-thienyl)isopropylamine, Acta Poloniae Pharmaceutica, 1978, vol. 35, no. 2, pp. 175-179, реферат, с. 176, 177, Табл. I, соединения III, V

BEVAN, Marc et al. Preparation of an Imlazole-Conjugated Oligonucleotide. Bioconjugate

Chemistry, 2000, vol. 11, no. 4, pp. 599-603, реферат, с. 601-602, схема 2, соединение 9

PODYMINOGIN, Mikhail A. et al. Synthetic RNA-cleaving molecules mimicking ribonuclease A active center. Design and cleavage of tRNA transcripts. Nucleic Acids Research, 1993, vol. 21, no. 25, pp. 5950-5956 реферат, с. 5950, последний абзац, с. 5951, соединения I, II

SCHUHMAN, Elfriede et al. Bis[platinum(II)] and Bis[palladium(II)] Complexes of α,ω -Dicarboxylic Acid Bis(1,2,4-triaminobutane-N4) Amides, Inorg. Chem, 1995, vol.34, no.9, p.2316-2322, реферат, с.2317, последний абзац, с.2318, схема 1, соединения 9a, 9b

FERRY, Gilles et al. A zinc chelator inhibiting gelatinases exerts potent in vitro anti-invasive effects. European Journal of Pharmacology, 1998, vol.351, no.2, p.225-233, реферат, с. 227, колонка 2, абзац 2, параграф 2.8, с. 228, фиг. 1, табл. 1, параграф 3.2, с. 230-232, раздел 4

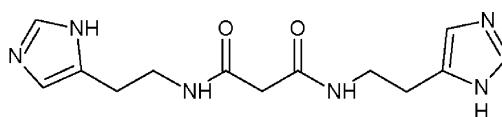
GUPTA, Anil et al. Lipophilic complexones. Part 6. Synthesis of di- and tri-armed ligands containing pyridine and imidazole moieties. J. Chem. Research, Synopses, 1994, no. 6, p. 206-207, реферат, с. 206, схема 1, соединения 15c, 14a, стадия i

JP-A-61069759

РОЖКОВА Е.А. и др. Взаимосвязь между конформацией и антиоксидантными свойствами в ряду топохимических аналогов карнозина и карцияина с различными N-ацильными заместителями. Биоорганическая химия, 1996, том 22, №10-11, с. 838-845

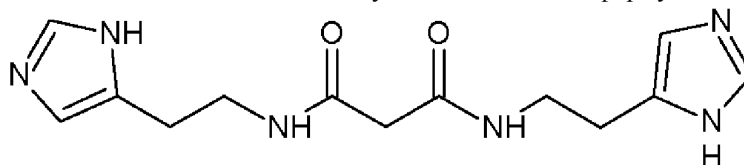
RU-C2-2335495

(57) Изобретение относится к новым способам получения производного бисамида дикарбонической кислоты - соединения формулы 2:



Предложенные способы просты в осуществлении, протекают в достаточно мягких условиях, без образования побочных продуктов, технологичны, характеризуются хорошим выходом и высокой степенью чистоты целевого продукта.

Изобретение относится к новым способам получения соединения формулы 2



или его фармацевтически приемлемых солей, обладающих способностью к комплексообразованию или хелатированию ионов металлов.

Уровень техники

Ионы металлов играют важную роль как в нормальном функционировании клеток и всего организма, так и в развитии патологий.

Известны лекарственные препараты, которые осуществляют свое действие благодаря способности хелатировать ионы металлов. В связи с этим в настоящее время ведется поиск нетоксичных соединений, способных высокоэффективно и селективно хелатировать ионы металлов и пригодных для биомедицинского применения.

Соединения с хелатирующей способностью обнаружены среди различных классов соединений моно- и дитолов, дисульфидов, азосоединений, нитрозоароматических соединений, производных полиаминокарбоновых кислот, тиосемикарбазона, пиридоксаль изоникотиноилгидразона, хинолина, адамантана, пирогаллола, фенантролина, тиопирофосфатов и других. Кроме того, они отмечены и среди прочих природных соединений, таких как, например, карнозин, фитин, пектин. Наибольший интерес представляют соединения, имеющие несколько функциональных групп, способные выступать в роли доноров электронов при комплексообразовании. В связи с этим такие соединения могут представлять собой лиганды, специфически взаимодействующие с ионами металла или группы металлов.

Широко известными в настоящее время комплексообразователями являются производные полиаминокарбоновых кислот (например, ЭДТА), D-пеницилламин, полициклические криптанты, которые успешно применяются при отравлении тяжелыми металлами. В качестве хелатора железа при некоторых железоизбыточных состояниях и гематохроматозе используется деферроксамин. Помимо этого, возможно применение хелаторов при патологиях, связанных с Ca-избыточными состояниями, например, при артрозах, атеросклерозе, почечно-каменной болезни. Известно также, что хелатотерапия препятствует отложению холестерина и восстанавливает его уровень в крови, понижает кровяное давление, позволяет избежать ангиопластики, подавляет нежелательные побочные эффекты некоторых сердечных препаратов, удаляет кальций из холестериновых бляшек, растворяет тромбы и восстанавливает эластичность кровеносных сосудов, нормализует ритмию, препятствует старению, восстанавливает силу сердечной мышцы и улучшает функции сердца, увеличивает внутриклеточное содержание калия, регулирует минеральный обмен, полезна при лечении болезни Альцгеймера, препятствует возникновению рака, улучшает память и проявляет множество других положительных эффектов. Однако сильные хелаторы, применяемые в настоящее время в хелатотерапии, как правило, обладают токсическим действием, которое проявляется, в основном, в повреждении слизистой оболочки тонкой кишки и нарушении функции почек. В некоторых случаях при быстром введении больших количеств известных хелаторов возможно нарушение возбудимости мышц и свертываемости крови. Кроме того, сильные хелаторы могут взаимодействовать с полезными биоэлементами (Na, K, Mg, Ca), а также могут изменять активность жизненно важных металлоферментов [Зеленин К.Н. "Комплексоны в медицине", Соросовский Образовательный Журнал, 2001, т. 7, № 1, стр. 45-50].

В связи с этим проводится активный поиск новых высокоэффективных хелаторов с хелатирующей способностью, достаточной для осуществления биологического эффекта *in vivo*, лишенных побочных эффектов.

Особенно актуальна идея применения хелатотерапии в случае вирусных заболеваний, таких как ВИЧ, папиллома человека, герпес, гепатит С и другие.

Перспективной мишенью для этого представляются цинк-связывающие участки в структуре вирусных белков - так называемые "цинковые пальцы".

В настоящее время выявлено несколько соединений, воздействующих на "цинковые пальцы" важных белков этих вирусов.

В статье Andreas J.K., *Boorganic & Medicinal chemistry*, 2003, v.11, p.4599-4613, описано производное адамантана, имеющее тривиальное название бананин, которое является хелатором ионов цинка. Предполагается, что оно химически подходит для удаления цинка из белка NCp7 ВИЧ. Имеющее указанный выше механизм действия азапроизводное - азадикарбонамид находится в I/II стадии клинических испытаний против прогрессирующего СПИДа.

В статье Rice W.G., Schaeffer C.A., Harten B., *Nature*, 1993, v.4, p.473-475, раскрыт 3-нитрозобензамид, который удаляет цинк из NCp7 белка ВИЧ, ингибируя репликацию ВИЧ и его патогенность *in vitro* и *in vivo*.

В качестве мишени лекарственных средств был выбран также участок типа "цинковый палец" белка

Е6 вируса папилломы человека. Этот вирус является возможным посредником в этиологии цервикальной карциномы.

В статье Beerheide W., Bernard H.-U., Tan Y.-J., Ganesan A.J., National Cancer Institute, 1999, v.91, № 14, 1211-1220, описаны испытания *in vitro* азасоединений, дисульфидных и нитрозоароматических производных. Показано, что соединения типа 4,4'-дитиодиморфалина провоцируют высвобождение ионов цинка. В результате наблюдали изменение структуры вирусного белка и нарушение его функций, связанных с биологией и патологией вируса папилломы человека. Однако клинические испытания данных соединений в этом отношении еще не закончены, и об их эффективности можно судить только на основании исследований *in vitro*.

Указанные выше соединения рассматриваются как перспективные для развития лекарственных средств против цервикального рака, остроконечных кондилом и латентных папилломавирусных инфекций половых органов. Вирус гепатита С принадлежит к числу наиболее широко распространенных человеческих патогенов. Современная терапия гепатита С основана практически исключительно на использовании интерферона, а также его комбинации с нуклеозидным аналогом - рибавирином [Козлов М.В., Поляков К.М., Иванов А.В., Биохимия, 2006, т. 71, № 9, стр. 1253-12594]. Следует отметить невысокую эффективность такой терапии.

Что касается развития терапевтических агентов против вируса гепатита С, то одной из мишеней является NS3-сериновая протеиназа, в поддержании стабильности структуры которой важную роль играет цинковый участок [Andrea Urbani, Renzo Bazzo, Maria Chiara Nardi, Daniel Oscar Cicero, Raffaele De Francesco, J. Biol. Chem, 1998, v.273, № 30, p. 18760-18769]. Ингибирование или изменение ее активности путем применения соединений, способных к извлечению цинка, в некоторых литературных источниках оценено в качестве многообещающей стратегии управления болезнью, вызванной вирусом гепатита С.

В статье Timothy L. Tellinghuisen, Matthew S. Paulson, Charles M. Rice, J. Virology, 2006, v. 80, № 15, p. 7450-7458, описано, что металлохелаторы (ЭДТА и 1,10-фенантролин) были эффективными ингибиторами протеазы, оцененными относительно NS2/3 авторасщепления. Имеются также сведения о том, что 1,10-фенантролин действовал в этом случае именно через хелатирование цинка.

В статье Sperandio D., Gangloff A.R., Litvak J. Goldsmith R., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2002, v.12, № 21, 3129-3133, описан скрининг группы бисбензимидазолов с целью поиска ингибиторов сериновой протеазы NS3/NS4A вируса гепатита С, который также привел к идентификации соответствующего мощного Zn^{2+} -зависимого ингибитора.

При разработке новых подходов к терапии гепатита С другой привлекательной мишенью можно назвать РНК-зависимую РНК-полимеразу вируса гепатита С (вирусный белок NS5B), имеющий в своей структуре цинк-связывающий участок [Timothy L. Tellinghuisen, Matthew S. Paulson, Charles M. Rice, J. Virology, 2006, v. 80, № 15, p. 7450-7458].

Известные в настоящее время ингибиторы РНК-зависимой РНК полимеразы вируса гепатита С можно условно разделить на два основных класса: производные нуклеозидов и нуклеозидные ингибиторы различной природы [Maria Bretner, Acta biochemica polonica, 2005, v.52, № 1, p. 57-70]. Кроме того, обнаружено ингибирование активности данного фермента производными пирогаллола. Примечательно, что механизм ингибирования производными пирогаллола, как полагают, заключается в хелатировании катионов магния, принимающих участие в каталитическом акте на стадии переноса фосфорильного остатка [Козлов М.В., Поляков К.М., Иванов А.В., Биохимия, 2006, т.71, № 9, стр. 1253-12594].

Заболевания, вызываемые герпесвирусами, широко распространены. Так, известно несколько человеческих герпесвирусов - вирус простого герпеса 1 и 2 (HSV-1 и HSV-2), цитомегаловирус (CMV), вирус ветряной оспы, вирус Эпштейна-Барра. Деструктивные действия, которые при этом оказываются на центральную нервную систему, вызывают такие заболевания, как энцефалит и менингит. Можно отметить интерес к исследованиям влияния хелатирующих цинк соединений, например, диэтилентриаминпентауксусной кислоты, на ингибирование репликации человеческого цитомегаловируса *in vitro* [Kanekiyo M., Itoh N., Mano M., Antiviral Res., 2000, v. 47, p. 207-214].

Однако следует отметить и тот факт, что герпесвирусы, так же как и вышеуказанные вирусы, имеют белки, содержащие мотив типа "цинковый палец". Химические изменения в "цинковом пальце" могут приводить к высвобождению цинка и изменениям в структуре функционирования вирусных белков [Yan Chen, Christine M. Livingston, Stacy D. Carrington-Lawrence, J. of Virology, 2007, v.81, № 16, p. 8742-8751].

"Цинковые пальцы" могут служить мишенью для препаратов нового поколения антивирусного действия. Уже выявлено несколько таких соединений. Однако в настоящее время об их эффективности можно судить, только основываясь на исследованиях, проведенных *in vitro*.

Вышеприведенная информация позволяет утверждать о важной роли ионов металлов как в нормальном функционировании клеток и всего организма, так и в развитии патологий. Способность некоторых соединений к хелатированию ионов металлов может служить основой для создания препаратов, способных к лечению разнообразных заболеваний, в частности, вирусных.

В статье Megan Whitnall, Jonathan Howard, Prem Ponka, "A class of iron chelators with a wide spectrum of potent antitumor activity that overcomes resistance to chemotherapeutics", PNAS, 2006, v. 103, № 40, p. 14901-14906, раскрыты эффективные хелаторы железа, которые демонстрируют высокую антипролифе-

ративную и противоопухолевую активность, сравнимую с активностью известных цитостатиков, и перспективны для клинических исследований.

В статье Kik K., Szmigiero L., "Dexrazoxane (ICRF-187)- a cardioprotectant and modulator of some anti-cancer drugs", *Postepy Hig Med Dosw Online*, 2006, v. 60, p. 584-590, указано, что некоторые хелаторы железа могут быть использованы в качестве "помощников" при противораковой терапии, так как обладают кардиопротекторным действием.

Хелатирование ионов меди ингибирует ангиогенез и уменьшает рост опухоли [Yu Yu, Jacky Wong, David B. Lovejoy, "Chelators at the cancer coalface: Desferrioxamine to Triapine and Beyond", *Clin. Cancer Res.*, 2006, v. 12, p. 6876-6883].

Хелатор цинка - клиохинол, связывая ионы Zn^{2+} , вызывает апоптоз раковых клеток человека [Haijun Yu, Yunfeng Zhou, Stuart E. Lind, "Clioquinol targets zinc to lysosomes in human cancer cells", *Biochem. J.*, 2009, v. 417, p. 133-139].

В качестве ингибиторов альдегиддегидрогеназы хелаторы используются для лечения алкоголизма [Shian S.G., Kao Y.R., Wu F.Y., Wu C.W., "Inhibition of invasion and angiogenesis by zinc-chelating agent disulfiram", *Mol. Pharmacol.*, 2003, v. 64(5), p. 1076-84], а также при алкогольном циррозе печени, железо-избыточной анемии, поздней порфирии кожи [Schroterova L., Kaiserova H., Baliharova V., "The effect of new lipophilic chelators on the activities of cytosolic reductases and P450 cytochromes involved in the metabolism of antracyclin as antibiotics: studies in vitro", *Physiol Res.*, 2004, v. 53(6), p. 683-691].

Активность некоторых антиоксидантов обусловлена хелатированием ионов переходных металлов (Fe, Cu), что сопровождается снижением металлозависимого перекисного окисления липидов [Babizhayev M.A., Seguin Marie-C, Gueyne J., Evstigneev R.P., Ageyeva E.A., Zheltuchina G.A., "L-Carnosine (-alanyl-L-histidine) and carcine f-alanylhistamine) act as natural antioxidants with hydroxyl-radical-scavenging and lipid-peroxidase activities", *Biochem. J.*, 1994, v. 304, p. 509-516].

Применение антиоксидантов может способствовать рассасыванию катаракты, устраняет заболевания сетчатки и понижает потребность в инсулине у диабетиков, устраняет пигментацию кожи, а также способствует устранению последствий инсульта. Хелатирование полезно также при лечении воспалительных заболеваний, таких как остеоартриты, ревматоидные артриты. [Зеленин К.Н., "Комплексоны в медицине", *Соросовский Образовательный журнал*, 2001, т. 7, №1, стр. 45-50].

Хелаторы могут быть использованы в медицине в качестве комплексонов для транспортировки и легкого выведения из организма мышьяка, ртути, сурьмы, кобальта, цинка, хрома, никеля [Жолнин А.В., "Комплексные соединения", Челябинск: ЧГМА, 2000, стр. 28].

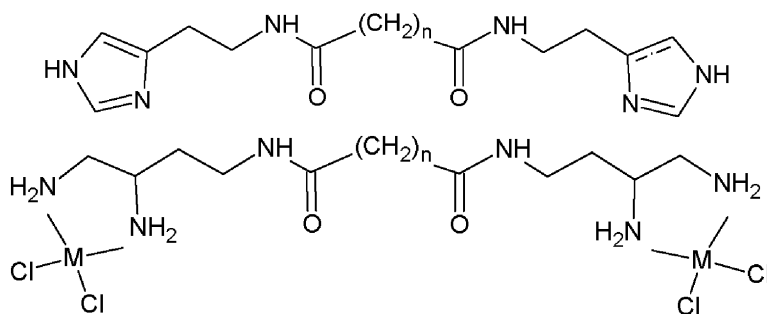
Известно ингибирование ботулинического токсина посредством хелатирования ионов цинка [Anne C, Blommaert A., "Thio-derived disulfides as potent inhibitors of botulinum neurotoxin B: implications of zinc interaction", *Bioorg. Med. Chem.*, 2003, v. 11(21), p. 4655-60], кроме того, хелатирование защищает при газовой гангрене [Зеленин К.Н., "Комплексоны в медицине", *Соросовский Образовательный журнал*, 2001, т. 7, №1, стр. 45-50].

Хелатотерапия полезна при лечении нейродегенеративных заболеваний, в частности, болезни Альцгеймера, способствуя улучшению памяти [Bossy-Wetzel E., Schwarzenbacher R., Lipton S.A., "Molecular pathways to neurodegeneration", *Nat. Med.*, 2004, v. 10, p. 2-9]; болезни Паркинсона [Kevin J. Barnham, Colin L. Masters, Ashley I. Bush, "Neurodegenerative diseases and oxidative stress, *Nature Reviews Drug Discovery*, 2004, v. 3, p. 205-214]; болезни Вильсона [Yu Yu, Jacky Wong, David B. Lovejoy, "Chelators at the Cancer Coalface: Desferrioxamine to Triapine and Beyond", *Clin. Cancer Res.* 2006, v. 12, p. 6876-6883]; болезни Гентингтона [Whitnall M., Richardson D.R., "Iron: a new target for pharmacological intervention in neurodegenerative diseases", *Semin Pediatr Neurol*, 2006, v. 13, p. 186-197]; бокового амиотрофического склероза [Kevin J. Barnham, Colin L. Masters, Ashley I. Bush, "Neurodegenerative diseases and oxidative stress", *Nature Reviews Drug Discovery*, 2004, v. 4] и прионных заболеваний [Daniel L. Cox, Jianping Pan, Rajiv R.P. Singh, "A Mechanism for Copper Inhibition of Infection Prion Conversion", *Biophysical Journal*, 2006, v. 91, L11-L13]. Хелаторы препятствуют возникновению рака [Megan Whitnall, with a wide spectrum of potent antitumor activity that overcomes resistance to chemotherapeutics", *PNAS*, 2006, v. 103, № 40, p. 14901-14906].

Значительное место в ряду известных хелаторов занимают производные гетероциклических соединений, например, имидазола, содержащие в своем составе имидо- и амидогруппы.

В статье M.A. Podyminogin, V.V. Vlassov, "Synthesis RNA-cleaving molecules mimicking ribonuclease A active center. Design and cleavage of tRNA transcripts", *Nucleic Acids Research*, 1993, v. 21, №25, стр. 5950-5956, описано бисгистаминовое производное глутаровой кислоты, которое может служить моделью активного центра нуклеаз и проявляет слабую активность при расщеплении молекул РНК.

В статье Elfriede Schuhmann et al., "Bis[platinum(II)] and Bis[Palladium (II)] complexes of α, ω -Dicarboxylic Acid Bis(1,2,4-triaminobutane- N^4)-Amides", *Inorg. Chem.*, 1995, v. 34, p. 2316-2322, описаны бисгистаминовые производные глутаровой и адипиновой кислот, которые являются промежуточными соединениями для синтеза комплексов с платиной и палладием:



$n=3-6, 8;$
 $M=Pt, Pd.$

Способ синтеза N^1, N^1 -глутарилбис(гистамина), включающий взаимодействие гистамина дигидрохлорида и дихлорангидрида глутаровой кислоты в диметилформамиде в присутствии 4-кратного избытка триэтиламина описан в статье Elfriede Schuhmann et al., "Bis[platinum (II)] and Bis[Palladium (II)] complexes of α, ω -Dicarboxylic Acid Bis(1,2,4-triaminobutane- N^4)-Amides", Inorg. Chem., 1995, v. 34, p. 2316-2322.

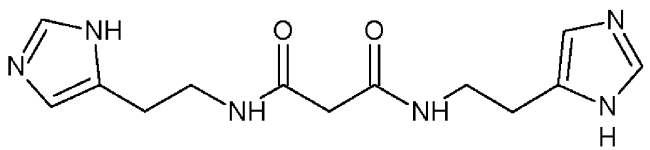
Авторами настоящего изобретения впервые было обнаружено, что бисгистаминовое производное глутаровой кислоты, а именно - N^1, N^1 -глутарил бис(гистамин), способно к образованию комплексов с ионами металлов.

Таким образом, целью настоящего изобретения является получение биосовместимых гетероциклических хелаторов ионов металлов и их применение в качестве лекарственного средства для лечения и/или профилактики различных заболеваний, используя способность заявляемых соединений хелатировать ионы металлов.

Задачей изобретения также является разработка простых, использующих доступные реагенты, способов получения таких соединений.

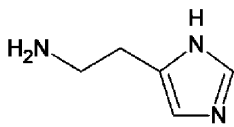
Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение относится к способам получения соединения 2



включающим:

конденсацию эфира дикарбоновой кислоты формулы $R_4O-C(O)-CH_2-C(O)-OR_4$, где R_4 представляет собой C_1-C_6 алкил,



и амина при нагревании, в присутствии органического растворителя;

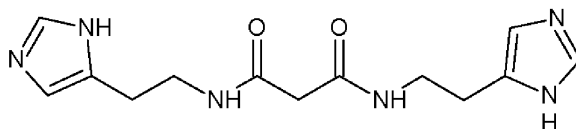
или включающим взаимодействие дикарбоновой кислоты с N -гидроксисукцинимидом в присутствии N, N' -дициклогексилкарбодиимида с получением соответствующего бис- N -оксисукцинимидного эфира, который конденсируют с амином; или

взаимодействие диэфира дикарбоновой кислоты с гидразингидратом, обработку полученного дигидразида нитритом натрия с получением соответствующего азиды, который конденсируют с амином; или

нагревание раствора имида, образованного из дикарбоновой кислоты, и соответствующего амина в органическом растворителе; или

взаимодействие соответствующего амина и дикарбоновой кислоты в молярных соотношениях 2:1 в присутствии конденсирующего агента.

Предлагаемые способы получения соединения формулы 2



просты в осуществлении, протекают в достаточно мягких условиях, без образования побочных продуктов, технологичны, позволяют получать целевые продукты с хорошим выходом (до 82%) и высокой степенью чистоты.

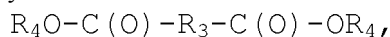
Детальное описание изобретения

Таблица 1

| Номер соединения | Структура |
|------------------|-----------|
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |

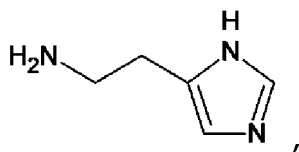
В качестве фармацевтически приемлемых солей соединения 2 по настоящему изобретению могут быть использованы аддитивные соли органических кислот (например, формиат, ацетат, малеат, тартрат, метансульфонат, бензолсульфонат, толуолсульфонат и др.), аддитивные соли неорганических кислот (например, гидрохлорид, гидробромид, сульфат, фосфат и др.), соли с аминокислотами (например, соль аспарагиновой кислоты, соль глутаминовой кислоты и т.д.), предпочтительно, хлоргидраты и ацетаты.

Соединение 2 настоящего изобретения может быть получено способом, включающим конденсацию дикарбоновой кислоты общей формулы I1:



где R_3 представляет собой группу $-(CR_2)_n-$, необязательно замещенную одним или двумя C_1-C_6 алкилами, или фенил, n представляет собой 1,

R_4 представляет собой C_1-C_6 алкил,

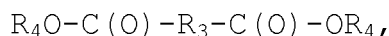


и амина формулы

при нагревании, необязательно в присутствии растворителя. Предпочтительным является использование диметилового эфира, и нагревание до температуры 150-170°C, еще более предпочтительно проводить конденсацию при кипении.

В качестве растворителей могут быть использованы диглим или спирты, наиболее предпочтительно, изоамиловый спирт.

Еще одним способом получения соединения 2 является способ, включающий взаимодействие дикарбоновой кислоты общей формулы II:

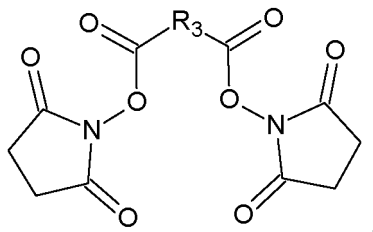


где R_3 представляет собой группу $-(CH_2)_n-$,

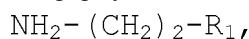
n представляет собой 1,

R_4 представляет собой водород,

с N-гидроксисукцинимидом в присутствии N,N'-дициклогексилкарбодиимида в N,N-диметилформамиде с получением соответствующего бис-N-оксисукцинимидного эфира, общей формулы IV:



который конденсируют с амином общей формулы III:

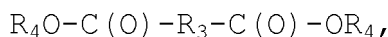


где R_1 представляет собой имидазолил.

Предпочтительным является охлаждение до температуры 0-5°C.

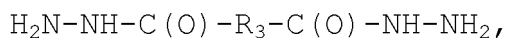
Еще одним способом получения соединения 2 является способ, включающий взаимодействие эфира

дикарбоновой кислоты общей формулы II:

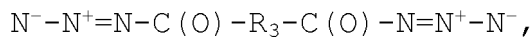


где R_3 представляет собой группу $-(CH_2)_n-$, n представляет собой 1,

R_4 представляет собой C_1-C_6 алкил, с гидразингидратом в органическом растворителе с получением бисгидразида общей формулы V:



обработку бисгидразида нитритом натрия в кислой среде при температуре около $0^\circ C$ с получением бисазида общей формулы VI:



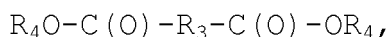
конденсацию бисазида с амином общей формулы III:



где R_1 представляет собой имидазол, в органическом растворителе.

Предпочтительно в качестве органического растворителя используют спирты, наиболее предпочтительно, изопропанол. Способ прост, но применим в случае, если количество метиленовых звеньев в исходной дикарбоновой кислоте больше или равно трем, так как получаемые в процессе синтеза бисазиды для кислот с меньшим числом метиленовых групп нестабильны.

Еще одним способом настоящего изобретения является способ получения производных бисамидов дикарбоновых кислот общей формулы I, включающий взаимодействие дикарбоновой кислоты общей формулы II:



где R_3 представляет собой группу $-(CH_2)_n-$,

n представляет собой 1,

R_4 представляет собой водород,

и амина общей формулы III:



где R_1 представляет собой имидазол-2-ил;

при молярном соотношении 1:2-2,5 в растворе тетрагидрофурана в присутствии конденсирующего агента, предпочтительно, карбонилдиимидазола.

Соединение 2, синтезированное одним из способов настоящего изобретения, вводится в эффективном количестве, которое обеспечивает желаемый терапевтический результат.

Соединение 2 может быть введено перорально, местно, парентерально, интраназально, ингаляционно и ректально в виде стандартных лекарственных форм, содержащих нетоксичные фармацевтически приемлемые носители. Используемый в настоящем описании термин "парентеральное введение" означает подкожные, внутривенные, внутримышечные или внутригрудные инъекции или вливания.

Соединение 2 может быть введено пациенту в дозах, составляющих от 0,1 до 100 мг/кг веса тела в день, предпочтительно, в дозах от 0,25 до 25 мг/кг один или более раз в день.

При этом следует отметить, что конкретная доза для каждого конкретного пациента будет зависеть от многих факторов, включая активность данного используемого соединения, возраст, вес тела, пол, общее состояние здоровья и режим питания пациента, время и способ введения лекарственного средства, скорость его выведения из организма, конкретно используемую комбинацию лекарственных средств, а также тяжесть заболевания у данного индивида, подвергаемого лечению.

Детальное описание получения соединения 2 по настоящему изобретению и исследования активности представлено в нижеследующих примерах, предназначенных для иллюстрации предпочтительных вариантов изобретения, и не ограничивающими его объем.

Примеры синтеза соединения 2.

Средства и методы.

Индивидуальность полученных соединений проверяют методом ТСХ на пластинках "Kieselgel 60 F254" (фирмы "Merck", Германия) в системе растворителей: пиридин-уксусная кислота-вода (20:6:11) система А, А:этилацетат 3:1 (1), хлороформ-метанол 9:1 (2).

Электрофорез на бумаге (бумага для электрофореза Кондопожского ЦБК, 120×320 мм) проводят в буфере с pH 5,1 состава пиридин-уксусная кислота-вода 12:10:1000 в камере (150×320×150 мм) с градиентом 15 В/см в течение 1,5 ч.

Хроматограммы и электрофореграммы проявляют хлор-тетраметилбензидиновым реактивом и реактивом Паули.

Температуру плавления определяют на приборе ПТП (завод лаб. приборов, Россия, г. Клин).

Спектры ИК-Фурье снимают в таблетках KBr на приборе "Magna 750" ("Nicolet" (США)).

Спектры 1H -ЯМР регистрируют на приборе AMX-400 (Германия), Bruker DPX-400 (Германия).

Масс-спектры высокого разрешения получают на времяпролетном масс-спектрометре методом

матриксной лазерно-десорбционной ионизации с использованием в качестве матрицы 2,5-дигидроксibenзойной кислоты, на приборе Ultraflex ("Bruker", Германия).

ЖХ/МС-система анализа многокомпонентных смесей Shimadzu Analytical HPLC SCL10Avp, масс-спектрометр PE SCIEX API 165 (150), (Канада).

Аналитическую обращенно-фазовую ВЭЖХ проводили на приборе: хроматограф HPLC Shimadzu в условиях: колонка Luna C18 (2) 100 А, 250×4,6 мм (сер.599779-23), градиент элюирования в системе фосфатный буферный раствор рН 3,0:метанол (условия А). На приборе хроматограф Beckman (USA) "System Gold" с УФ-детектором ($\lambda=220$ нм), колонка "Gemini" C-18, 150×2,0 мм Phenomenex, подвижная фаза градиент в 0,05 М фосфатном буфере (рН 3,0) 90% MeCN в воде, скорость элюции 0,25 мл/мин, инъекция по 10 мкл (условия Б).

Пример 1

Бис-1,3-(N^β-гистаминил)малоновая кислота; (N,N'-бис-[2-(1H-имидазол-4-ил)этил]пропандиаמיד) (соединение 2)

К 6,4 г (0,039 моль) диэтилового эфира малоновой кислоты прибавляют 9,0 г (0,081 моль) гистамина и нагревают при 170°C в течение 2,5-3 ч до прекращения выделения паров этилового спирта. Полноту протекания реакции контролируют методом ТСХ или электрофореза. Затем реакционную массу суспендируют в 20 мл воды и оставляют на 72 ч при +4°C. Продукт отделяют, промывают изопропиловым спиртом, сушат. Выход 5,0 г (44%). R_f 0,41 (1). E⁵⁷ мм. Т.пл. 187-188°C. Спектр ¹H-ЯМР (D₂O): δ, м.д.: 2,74-2,78 (т, 4H, β-CH₂-HA), 3,15 (с, 2H, CH₂-Mal), 3,41-3,44 (т, 4H, α-CH₂-HA), 6,78 (с, 2H, 5-CH-Im), 7,66 (с, 2H, 2-CH-Im). Спектр ИК-Фурье (в таблице KBr, ν, см⁻¹): 1643 (ν C=O амид I), 1574 (δ NH амид II), 1426 (ν-CH₂-CO-). Найдено, %: С 53,24, Н 6,51, N 28,56. C₁₃H₁₈N₆O₂. Вычислено, %: С 53,78, Н 6,25, N 28,95.

Исследование хелатирующей способности описываемых соединений.

Предлагаемые соединения общей формулы I, как показали дальнейшие исследования, обладают способностью к комплексообразованию или хелатированию ионов металлов. Они имеют несколько функциональных групп, способных выступать в роли доноров электронов при комплексообразовании, например, карбоксильная группа, имидо-, амидогруппы, и представляют собой лиганды, специфически взаимодействующие с ионами металлов, например, с ионами цинка, меди, железа, кальция, магния.

Важной характеристикой способности лиганда к комплексообразованию являются константы диссоциации (рk_n) исследуемых соединений в водном растворе. Величины рk_n определяют, используя метод потенциометрического титрования. Расчет констант диссоциации проводят согласно методу Шварценбаха [Гринберг А.А., "Введение в химию комплексных соединений", изд. 4-е, испр., Л., Химия, 1971].

Методы рН-потенциометрического титрования.

Титрование проводилось на установке с использованием иономера лабораторного типа И 120.1. Созданная гальваническая ячейка состояла из двух электродов: индикаторного стеклянного и хлорсеребряного электрода сравнения. Значения рН определялись с точностью ±0,2.

Исходные 0,05 М растворы солей ионов металлов M²⁺ готовили из нитратов цинка (Zn(NO₃)₂·6H₂O), кальция (Ca(NO₃)₂·4H₂O), сульфата меди (CuSO₄·5H₂O), хлорида магния (MgCl₂·6H₂O) и соли Мора ((NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O). Стандартизацию исходных растворов солей M²⁺ производили методами комплексонометрического титрования с трилоном Б (M²⁺=Zn²⁺, Cu²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺), спектрофотометрически при 490 нм с помощью о-фенантролина (M²⁺=Fe²⁺).

Типичная методика определения ступенчатых констант кислотной диссоциации (k₁, . . . , k_n) рН-метрическим титрованием по методу Шварценбаха.

Навеску исследуемого соединения (3×10⁻⁴ моль) растворяли в 15,0 мл 0,5 М водного раствора KNO₃. Полученный 0,02 М раствор при интенсивном перемешивании титровали 0,05 М водным раствором NaOH или HCl. Фиксировали в каждой точке титрования количество (V, мл) израсходованного титранта и рН раствора. Шаг титрования составлял 0,5 мл, вблизи точки эквивалентности - 0,2 мл. Титрование проводили до значений рН раствора 11,0-11,5. По кривой титрования рН=f(a) определяли соответствующее значению а=0,5 и/или а=1,5 значение рН раствора, а – количество прибавленных г-эквивалентов титранта в пересчете на 1 моль титруемого вещества.

Результаты определения констант кислотной диссоциации [рk_n] по методу Шварценбаха исследуемых соединений представлены в табл. 2.

Таблица 2

Значения рk соединения 2 в водном растворе, рассчитанные по методу Шварценбаха (С 0,02 М, ионная сила раствора 0,5 (KNO₃), 22°C)

| Номер соединения | рk ₁ | рk ₂ |
|------------------|----------------------|-----------------------|
| 2 | 7, 11 ⁽¹⁾ | 11, 27 ⁽²⁾ |

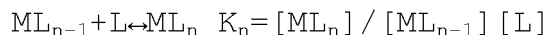
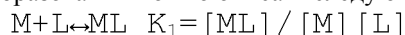
(1) - титрование водным 0,05 М раствором HCl.

(2) - титрование водным 0,05 М раствором NaOH.

С учетом таких параметров, как количество исследуемого вещества, необходимого для потенцио-

метрического титрования, методика его проведения и расчета констант, наиболее подходящим, информативным и простым является метод Бьеррума [Галактионов, М.А. Чистяков, В.Г. Севастьянов и др., "Ступенчатые константы устойчивости комплексов элементов III Б группы и лантаноидов с ацетилацетоном в водном растворе и произведения растворимости их триацетилацетонатов", Ж. Физ. Хим., 2004, т. 78, №9, с. 1596-1604].

Метод основывается на представлении о ступенчатости процесса комплексообразования. Главным допущением метода Бьеррума является предположение об образовании только мономерных комплексов. Схематически процесс комплексообразования можно описать следующим образом:



Согласно методу Бьеррума исследуемое соединение титруется дважды раствором NaOH: в отсутствие и в присутствии иона металла. Титрование проводят при высокой постоянной концентрации индифферентного электролита, обеспечивающей постоянную ионную силу раствора.

Для этих целей применяют хорошо растворимые соли, например, нитрат калия. Экспериментально находят концентрационные ступенчатые константы устойчивости (K_n). Кроме того, возможно получение информации о составе образующихся комплексов, а именно - максимально возможном числе присоединяемых лигандов (n).

Типичная методика определения ступенчатых констант устойчивости комплексов рН-метрическим титрованием по методу Бьеррума.

Навеску исследуемого соединения (3×10^{-4} моль) растворяли в 14,0 мл 0,5 М водного раствора KNO_3 . При интенсивном перемешивании добавляли 1,0 мл (5×10^{-4} моль) 0,05 М водного раствора соли M^{z+} . Исследовали системы с соотношением M^{z+} к L 1:6. Фиксировали значения рН раствора при совместном присутствии лиганда и ионов металла в растворе. Титрование смеси осуществляли 0,05 М водным раствором NaOH в широком интервале рН (до значений рН 11,0-11,5). Фиксировали в каждой точке титрования количество израсходованного титранта (V_{NaOH} , мл) и рН раствора. В момент образования осадка, помутнения раствора или изменения его окраски фиксировали значение рН, характер изменения и объем раствора NaOH, пошедшего на титрование. Шаг титрования равен 0,25 мл. По кривой Бьеррума $\bar{n}=f(pA)$ при каждом полу-целочисленном значении функции образования $\bar{n}=n-0,5$ определяли lgK_n .

В настоящее время метод Бьеррума часто применяется для изучения комплексообразования. Этот метод предусматривает определение двух параметров - концентрации свободного лиганда в равновесных условиях - $[L^-]$ и функции образования \bar{n} , представляющей собой среднее число лигандов, входящих в комплекс. Так, в любой момент титрования, используя экспериментальные данные, можно рассчитать $[L^-]$ (а именно, $-lg[L^-]=pA$) и по уравнению (1) - \bar{n} . Когда лиганд имеет несколько диссоциирующих групп, то в уравнении (1) K_L соответствует значению константы диссоциации, имеющей наибольшее значение рк.

Из построенной кривой Бьеррума (кривой образования) $\bar{n}=f(pA)$ по уравнению (2) при каждом полу-целочисленном значении функции образования $\bar{n}=n-0,5$ находят K_n . Таким образом, ступенчатая константа устойчивости будет равна обратной концентрации свободного лиганда в точке $\bar{n}=n-0,5$. Соответственно, чем больше значение K_n , тем более устойчивым является комплексное соединение (хелат).

$$\bar{n} = \frac{c_{L^-} - [L^-]}{c_{M^{z+}}} = \frac{(10^{-pH} + K_L) \cdot c_{NaOH}^0 \cdot V_{NaOH}^{добавл} - K_L \cdot n_L}{10^{-pH} \cdot n_{M^{z+}}} \quad (1)$$

$$K_{уст^n} = \frac{1}{[L^-]} \quad (2)$$

где c_{L^-} и $c_{M^{z+}}$ - общие концентрации присутствующих в растворе лиганда и металла, моль/л;
 $[L^-]$ - концентрация свободных ионов лиганда, моль/л;
 K_L - константа кислотной диссоциации лиганда;
 $V_{NaOH}^{добавл}$ - объем раствора NaOH (c_{NaOH}^0 , моль/л) в любой момент титрования, добавленный к титруемой смеси M^{z+} и L, л;
 n_L , $n_{M^{z+}}$ - количество вещества лиганда и соли M^{z+} в титруемом растворе, моль.

Найденные по методу Бьеррума значения lgK_1 для комплексов исследуемых соединений с ионами двухвалентных металлов, представлены в табл. 3, 4. Выбор соотношения M^{z+} к L, равного 1:6, обусловлен наличием данных о максимально возможном координационном числе для Zn(II) и Fe(II), равном шести, и для Cu(II) - равном четырем [Claudia A. Blindauer, M. Tahir Razi, Simon Parsons, Peter J. Sadler, Polyhedron, 2006, v. 25, p. 513-520].

Таблица 3

Первая константа устойчивости комплексов состава 1:1 соединения 2 с ионами двухвалентных металлов - $\lg K_1$, найденные по методу Бьеррума (водный раствор, $C_L=0,02$ М, соотношение M^{z+} к L 1:6, ионная сила 0,5 (KNO_3), 22°C)

| Номер соединения | Первая константа устойчивости комплексов состава 1:1 исследуемых соединений с ионами двухвалентных металлов - $\lg K_1$ | | | | | |
|------------------|---|---------|---------|----------|---------|---------|
| | Zn (II) | Cu (II) | Fe (II) | Fe (III) | Mg (II) | Ca (II) |
| 2 | 4,84 | 4,17 | 5,08 | 5,29 | 2,59 | 2,06 |

Таблица 4

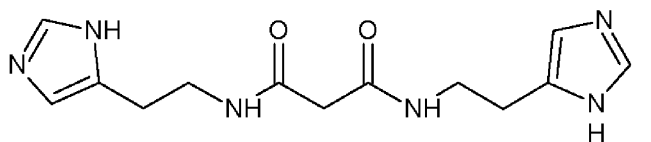
Ступенчатые константы устойчивости комплексов состава 1:1 соединения 2 с ионами цинка, найденные по методу Бьеррума (водный раствор, $C_L=0,02$ М, соотношение M^{z+} к L 1:6, ионная сила раствора 0,5 (KNO_3), 22°C)

| Номер соединения | Ступенчатые константы устойчивости комплексов состава 1:1 исследуемых соединений с ионами цинка | | |
|------------------|---|--|--|
| | Первая константа устойчивости, $\lg K_1$ | Вторая константа устойчивости, $\lg K_2$ | Третья константа устойчивости, $\lg K_3$ |
| 2 | 4,84 | 4,50 | 2,60 |

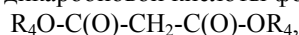
Таким образом, проведенные исследования показали, что испытанные соединения - производные бисамидов дикарбоновых кислот, являются эффективными комплексообразователями, для большинства из которых найдены высокие значения $\lg K_1 \geq 5$ по отношению к ионам переходных металлов. При этом наблюдается несколько повышенная комплексообразующая способность предлагаемых соединений общей формулы I по отношению к ионам железа.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

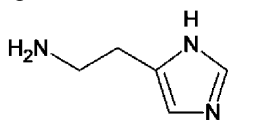
1. Способ получения соединения формулы 2:



включающий конденсацию эфира дикарбоновой кислоты формулы:



где R_4 представляет собой C_1-C_6 алкил, и



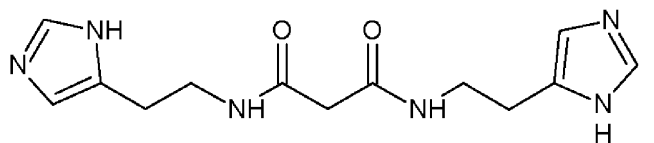
амина

при нагревании, в присутствии органического растворителя.

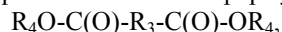
2. Способ по п.1, в котором в качестве растворителя используют диглим или спирты и нагревание осуществляют до 150-170°C.

3. Способ по п.1, в котором конденсацию проводят в растворе изоамилового спирта при кипячении.

4. Способ получения соединения формулы 2:



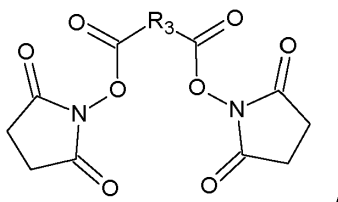
включающий взаимодействие дикарбоновой кислоты формулы:



где R_3 представляет собой группу $-(CH_2)_n-$;

n представляет собой 1;

R_4 представляет собой водород,
с N-гидроксисукцинимидом в присутствии N,N'-дихлорогексилкарбодиимида в N,N-диметилформамиде с получением соответствующего бис-N-оксисукцинимидного эфира формулы:



где R_3 представляет собой группу $-(CH_2)_n-$;

n представляет собой 1,

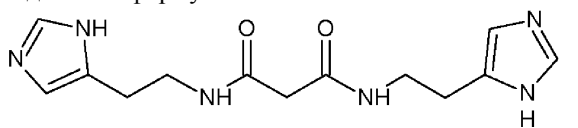
который конденсируют с амином формулы:



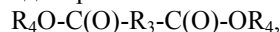
где R_1 представляет собой имидазолил.

5. Способ по п.4, где конденсацию проводят при охлаждении до температуры 0-5°C.

6. Способ получения соединения формулы 2:



включающий взаимодействие эфира дикарбоновой кислоты формулы:

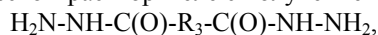


где R_3 представляет собой группу $-(CH_2)_n-$;

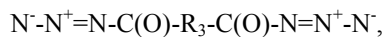
n представляет собой 1;

R_4 представляет собой C_1-C_6 алкил,

с гидразингидратом в органическом растворителе с получением бисгидразида формулы:



обработку бисгидразида нитритом натрия в кислой среде при температуре около 0°C с получением бисазида формулы:



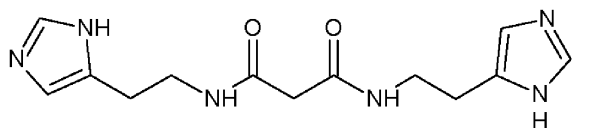
конденсацию азида с амином формулы:



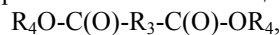
где R_1 представляет собой имидазолил, в органическом растворителе.

7. Способ по п.6, в котором в качестве органического растворителя используют спирты, предпочтительно изопропанол.

8. Способ получения соединения формулы 2:



включающий взаимодействие дикарбоновой кислоты общей формулы:



где R_3 представляет собой группу $-(CH_2)_n-$;

n представляет собой 1;

R_4 представляет собой водород, и

амин формулы:



где R_1 представляет собой имидазол-2-ил,

при молярном соотношении 1:2-2,5 в присутствии конденсирующего агента - карбонилдиимидазола.

