

УДК 547–304.6, 547.539.1, 615.012.1

Н. Н. КОВГАНКО<sup>1</sup>, В. Н. КОВГАНКО<sup>2</sup>, И. Н. СЛАБКО<sup>1</sup>

### СИНТЕЗ И АНТИМИКОБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ ФТОРСОДЕРЖАЩИХ БЕНЗАЛЬДОКСИМОВ И ПИРАЗИНКАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

<sup>1</sup>Белорусский государственный медицинский университет,

<sup>2</sup>Белорусский государственный технологический университет

(Поступила в редакцию 07.04.2015)

Получение новых микобактерицидов является важным первичным этапом создания противотуберкулезных препаратов [1–5]. При этом расширение ряда противотуберкулезных средств может быть достигнуто в результате исследования микобактерицидной активности новых классов органических соединений. Эффективность того или иного класса соединений в первую очередь следует проверять на простых веществах, синтез которых не связан с большими материальными затратами. Это позволяет получить значительное число лабораторных образцов для микробиологических тестов. Также исследование микобактерицидной активности простых веществ важно для получения противотуберкулезных препаратов, применяемых на начальных стадиях заболевания, когда использование сильнодействующих антибиотиков может привести к появлению лекарственно устойчивых форм микобактерий в организме человека [1–5].

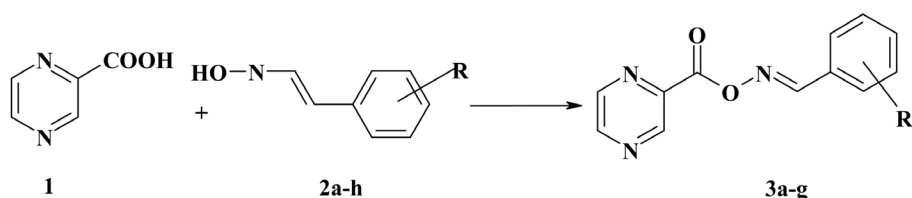
Одна из стратегий направленного синтеза новых веществ с антибактериальным действием заключается в химической модификации широко применяемых микобактерицидов [5–8]. Например, хорошо зарекомендовавшим себя направлением является синтез производных пирозинкарбонической кислоты, которые можно рассматривать в качестве структурных аналогов противотуберкулезного средства пирозинамида [7–9]. Установлено, что хорошими микобактерицидными свойствами обладают сложные эфиры пирозинкарбонической кислоты [10, 11].

Недавно нашей исследовательской группой синтезирован ряд 2-изоксазолин содержащих сложных эфиров пирозинкарбонической кислоты [9]. При этом для получения целевых эфиров использовались фторсодержащие 3-арил-2-изоксазолины, которые в свою очередь синтезированы с использованием целого ряда фторсодержащих промежуточных соединений. На наш взгляд, с использованием доступных в результате предыдущих исследований фторсодержащих полупродуктов может быть синтезирован ряд новых производных пирозинкарбонической кислоты. В результате для микробиологических тестов станут доступными потенциальные микобактерициды новых типов.

Данное сообщение посвящено синтезу и исследованию микобактерицидных свойств сложных эфиров оксимов фторзамещенных бензальдегидов и пирозинкарбонической кислоты. При этом некоторые из использованных оксимов ранее применялись в синтезе 2-изоксазолинсодержащих микобактерицидов [9]. Следует также указать, что для сложных эфиров оксимов обнаружены различные типы биологической активности. В частности, для соединений данного ряда обнаружена антибактериальная [12,13], фунгицидная [14–16] и инсектицидная [15] активности.

Синтез сложных эфиров осуществляли взаимодействием пирозинкарбонической кислоты **1** с соответствующими оксимами **2a–g** в присутствии дициклогексилкарбодиимида в метилхлориде. Выходы целевых соединений **3a–g** составили 60–90%.

Строение эфиров **3a–g** подтверждено данными УФ, ИК и ЯМР спектроскопии. Так, в ИК-спектрах всех синтезированных соединений присутствует интенсивная полоса колебаний C=O



$\text{R} = \text{2-F(a)}, \text{3-F(b)}, \text{4-F(c)}, \text{3,4-FF(d)}, \text{2-CF}_3 \text{(e)}, \text{4-CF}_3 \text{(f)}, \text{3-F-4-OCH}_3 \text{(g)}$ .

связи при  $1740\text{--}1760\text{ см}^{-1}$ , что подтверждает образование соответствующих сложных эфиров. Также в ИК-спектрах фиксируется полоса колебаний  $\text{C}=\text{N}$  связи, которая указывает на то, что данная связь не разрушается в условиях синтеза и выделения соединений **3a–g**.

В спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  соединений **3a–g** идентифицированы сигналы всех атомов водорода и углерода пиразиновой и бензольных циклов, сложноэфирной и оксимной группировок.

Изучение микобактериальной активности синтезированных соединений проводили на штамме *Micobacterium terrae*. Данный штамм является непатогенным и рекомендован для использования в качестве модельного для определения противотуберкулезной активности [9]. Антимикобактериальные свойства полученных соединений **3a–g** оценены на основании минимальных ингибирующих концентраций (МИК, мкг/мл), которые приведены в таблице. В параллельных экспериментах в качестве эталонов использовали циклосерин, изониазид и пиразинамид, которые обладают микобактерицидным действием и используются для лечения туберкулеза [1, 4, 9].

**Антимикобактериальные свойства синтезированных соединений**

Соединение	МИК, мкг/мл	Соединение	МИК, мкг/мл
<b>3a</b>	>200	<b>3f</b>	>200
<b>3b</b>	>200	<b>3g</b>	>200
<b>3c</b>	>200	Эталон	
		Циклосерин	100
<b>3d</b>	>200	Пиразинамид	>200
<b>3e</b>	>200	Изониазид	200

В результате проведенных экспериментов установлено, что сложные эфиры фторсодержащих оксимов и пиразинкарбоновой кислоты обладают антимикобактериальной активностью, которая ниже в сравнении с используемыми в настоящее время противотуберкулезными средствами.

Следует указать, что работа по получению потенциальных микобактерицидов на основе производных пиразинкарбоновой кислоты с использованием доступных фторсодержащих ароматических соединений [9] продолжается. О ее результатах будет сообщено дополнительно.

**Экспериментальная часть.** Температуры плавления определены с помощью блока Кофлера. ИК-спектры регистрировали в таблетках бромида калия на ИК-Фурье спектрофотометре Nexus (Thermo) в области  $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$ , УФ-спектры – в этаноле на спектрофотометрах Specord M500 и Solar PB2201 в области  $220\text{--}900\text{ нм}$ . Спектры ЯМР 2–5%-ных растворов в дейтеродиоксане регистрировали на приборе Bruker Avance-500 (рабочая частота  $500,13\text{ МГц}$  для ядер  $^1\text{H}$  и  $125,75\text{ МГц}$  для ядер  $^{13}\text{C}$ ). Химические сдвиги определены относительно внутреннего стандарта – ТМС. Ход реакций и чистоту полученных соединений контролировали с помощью пластинок Kieselgel 60 F<sub>254</sub> фирмы Merck. Оксимы фторсодержащих бензальдегидов **2a–h** синтезированы по методике, аналогичной приведенной в работе [9].

**2-Фторбензальдегид-О-(пиразиноил)оксим 3a.** К охлажденному до  $0\text{ °C}$  раствору  $0,100\text{ г}$  пиразинкарбоновой кислоты и  $0,111\text{ г}$  оксима 2-фторбензальдегида в  $10\text{ мл}$  метилхлорида добавляли  $0,166\text{ г}$  дициклогексилкарбодиимида и каталитические количества *N, N*-диметиламинопиридина. Реакционную смесь отогревали до комнатной температуры и перемешивали в течение  $24\text{ ч}$ , затем выпавший осадок отфильтровывали и промывали на фильтре метилхлоридом. После отгонки растворителя в вакууме остаток перекристаллизовывали из 2-пропанола. Получили  $0,126\text{ г}$  слож-

ного эфира **3a**. Выход 64%. Т. пл. 135–137 °С (2-пропанол). УФ-спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм: 273. ИК-спектр,  $\text{см}^{-1}$ : 3084, 3060, 3016 ( $\text{C-H}_{\text{аром}}$ ), 1760, 1292, 1094 ( $\text{COON}$ ), 1620 ( $\text{C=N}$ ), 1578, 1485 ( $\text{C=C}_{\text{аром}}$ ). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м. д.): 7.24 (1H, м, аром. протон, фенил), 7.29 (1H, т, J 7.5 Гц, аром. протон, фенил), 7.54 (1H, м, аром. протоны, фенил), 8.13 (1H, дт,  $J_1$  1.5 Гц,  $J_2$  8.0 Гц, аром. протон, фенил), 8.70 (1H, м, аром. протон, пиразин), 8.77 (1H, д, J 2.0 Гц, аром. протон, пиразин), 8.97 (1H, с, аром. протон, пиразин), 9.35 (1H, д, J 1.5 Гц,  $\text{CH=N}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , м. д.): 116.62 (д, J 20.5 Гц), 119.22 (д, J 10.5 Гц), 128.51, 134.27 (д, J 8.5 Гц) (C-3, C-4, C-5, C-6, фенил), 125.53 (C-1, фенил), 143.75 (C-2, пиразин), 144.92 (C-6, пиразин), 147.07 (C-3, пиразин), 148.56 (C-5, пиразин), 152.12 (д, J 4.5 Гц,  $\text{CH=N}$ ), 161.58 ( $\text{C=O}$ ), 162.47 (д, J 252.0 Гц, C-2, фенил).

Эфиры **3b-g** получены по методике, аналогичной для соединения **3a**.

**3-Фторбензальдегид-О-(пиразинойл)оксим 3b**. Выход 87%. Т. пл. 170,5–171,5 °С (2-пропанол). УФ-спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм: 273. ИК-спектр,  $\text{см}^{-1}$ : 3078, 3029 ( $\text{C-H}_{\text{аром}}$ ), 1739, 1290, 1101 ( $\text{COON}$ ), 1612 ( $\text{C=N}$ ), 1582, 1453 ( $\text{C=C}_{\text{аром}}$ ). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м. д.): 7.30 (1H, м, аром. протон, фенил), 7.49 (1H, дт,  $J_1$  6.0 Гц,  $J_2$  8.0 Гц, аром. протон, фенил), 7.62–7.66 (2H, м, аром. протоны, фенил), 8.69 (1H, дд,  $J_1$  1.5 Гц,  $J_2$  2.5 Гц аром. протон, пиразин), 8.70 (1H, с, аром. протон, пиразин), 8.78 (1H, д, J 2.5 Гц, аром. протон, пиразин), 9.35 (1H, д, J 1.5 Гц,  $\text{CH=N}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , м. д.): 115.69 (д, J 23.0 Гц), 119.27 (д, J 21.5 Гц), 125.11, 131.37 (д, J 8.0 Гц) (C-2, C-4, C-5, C-6, фенил), 133.51 (д, J 8.0 Гц, C-1, фенил), 143.75 (C-2, пиразин), 144.89 (C-6, пиразин), 147.08 (C-3, пиразин), 148.61 (C-5, пиразин), 157.53 ( $\text{CH=N}$ ), 161.58 ( $\text{C=O}$ ), 163.65 (д, J 244.5 Гц, C-3, фенил).

**4-Фторбензальдегид-О-(пиразинойл)оксим 3c**. Выход 85%. Т. пл. 182–184 °С (разл.) (2-пропанол). УФ-спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм: 275. ИК-спектр,  $\text{см}^{-1}$ : 3079, 3013 ( $\text{C-H}_{\text{аром}}$ ), 1741, 1284, 1092 ( $\text{COON}$ ), 1585 ( $\text{C=N}$ ), 1600, 1508 ( $\text{C=C}_{\text{аром}}$ ). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м. д.): 7.26 (2H, т, J 8.0 Гц, аром. протоны, фенил), 7.87 (2H, дд,  $J_1$  5.5 Гц,  $J_2$  8.0 Гц, аром. протоны, фенил), 8.69 (2H, с, аром. протоны, пиразин), 8.77 (1H, с, аром. протон, пиразин), 9.34 (1H, с,  $\text{CH=N}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , м. д.): 116.81 (д, J 11.0 Гц, C-3, C-5, фенил), 127.68 (C-1, фенил), 131.40 (д, J 8,8 Гц, C-2, C-6, фенил), 143.83 (C-2, пиразин), 144.89 (C-6, пиразин), 147.04 (C-3, пиразин), 148.56 (C-5, пиразин), 157.37 ( $\text{CH=N}$ ), 161.68 ( $\text{C=O}$ ), 165.56 (д, J 250.0 Гц, C-4, фенил).

**3,4-Дифторбензальдегид-О-(пиразинойл)оксим 3d**. Выход 90%. Т. пл. 185–186 °С (разл.) (2-пропанол). УФ-спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм: 273. ИК-спектр,  $\text{см}^{-1}$ : 3071, 3038 ( $\text{C-H}_{\text{аром}}$ ), 1742, 1276, 1097 ( $\text{COON}$ ), 1621 ( $\text{C=N}$ ), 1517, 1434 ( $\text{C=C}_{\text{аром}}$ ). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м. д.): 7.40 (1H, дт,  $J_1$  8.5 Гц,  $J_2$  10.0 Гц, аром. протон, фенил), 7.61–7.64 (1H, м, аром. протон, фенил), 7.84 (1H, ддд,  $J_1$  2.0 Гц,  $J_2$  8.5 Гц,  $J_3$  10.0 Гц, аром. протон, фенил), 8.66 (1H, с, аром. протон, пиразин), 8.69 (1H, дд,  $J_1$  1.5 Гц,  $J_2$  2.0 Гц, аром. протон, пиразин), 8.78 (1H, д, J 2.0 Гц, аром. протон, пиразин), 9.34 (1H, д, J 1.5 Гц,  $\text{CH=N}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , м. д.): 117.89 (д, J 18.5 Гц), 118.66 (д, J 17.9 Гц), 126.25, {C-2, C-5, C-6, фенил}, 128.52 (C-1, фенил), 143.66 (C-2, пиразин), 144.90 (C-6, пиразин), 147.09 (C-3, пиразин), 148.67 (C-5, пиразин), 150.63 (дд,  $J_1$  13.5 Гц,  $J_2$  239.0 Гц), 152.62 (дд,  $J_1$  13.5 Гц,  $J_2$  235.0 Гц), {C-3, C-4, фенил}, 156.71 ( $\text{CH=N}$ ), 161.56 ( $\text{C=O}$ ).

**2-(Трифторметил)бензальдегид-О-(пиразинойл)оксим 3e**. Выход 88%. Т. пл. 163–164 °С (2-пропанол). УФ-спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм: 272. ИК-спектр,  $\text{см}^{-1}$ : 3081, 3045 ( $\text{C-H}_{\text{аром}}$ ), 1756, 1280, 1100 ( $\text{COON}$ ), 1573 ( $\text{C=N}$ ). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м. д.): 7.68 (1H, т, J 7.5 Гц, аром. протон, фенил), 7.74 (1H, т, J 7.5 Гц, аром. протон, фенил), 7.85 (1H, д, J 7.7 Гц, аром. протон, фенил), 8.35 (1H, д, J 7.7 Гц, аром. протон, фенил), 8.72 (1H, дд,  $J_1$  1.5 Гц,  $J_2$  2.0 Гц, аром. протон, пиразин), 8.78 (1H, д, J 2.0 Гц, аром. протон, пиразин), 9.01 (1H, д, J 2.0 Гц, аром. протон, пиразин), 9.37 (1H, д, J 1.5 Гц,  $\text{CH=N}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , м. д.): 124.95 (д, J 272.5 Гц,  $\text{CF}_3$ ), 127.09 (д, J 5.0 Гц, C-2 фенил), 129.44, 129.59, 132.29, 133.52 (C-3, C-4, C-5, C-6, фенил), 129.87 (д, J 30.5 Гц, C-1 фенил), 143.79 (C-2, пиразин), 145.17 (C-6, пиразин), 147.34 (C-3, пиразин), 148.88 (C-5, пиразин), 154.96 ( $\text{CH=N}$ ), 161.71 ( $\text{C=O}$ ).

**4-(Трифторметил)бензальдегид-О-(пиразинойл)оксим 3f**. Выход 70%. Т. пл. 202–203 °С (разл.) (2-пропанол). УФ-спектр,  $\lambda_{\max}$ , нм: 273. ИК-спектр,  $\text{см}^{-1}$ : 3076, 3041 ( $\text{C-H}_{\text{аром}}$ ), 1742, 1285, 1105 ( $\text{COON}$ ), 1622 ( $\text{C=N}$ ). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м. д.): 7.82 (2H, д, J 8.2 Гц, аром. протоны, фенил), 8.00 (2H, д, J 8.2 Гц, аром. протоны, фенил), 8.70 (1H, дд,  $J_1$  1.3 Гц,  $J_2$  2.5 Гц, аром. протон, пиразин), 8.78 (1H, д, J 2.5 Гц, аром. протон, пиразин), 8.79 (1H, с, аром. протон, пиразин), 9.36 (1H, д, J 1.3 Гц,  $\text{CH=N}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , м. д.): 124.75 (д, J 270.5 Гц,  $\text{CF}_3$ ), 126.66 (д, J 3.0 Гц, C-3, C-5, фенил), 129.55 (C-2, C-6,

фенил), 133.47 (д, J 32.5 Гц, С-4, фенил), 134.92 (С-1, фенил), 143.67 (С-2, пиразин), 144.94 (С-6, пиразин), 147.13 (С-3, пиразин), 148.72 (С-5, пиразин), 157.40 (СН=N), 161.59 (С=O).

**3-Фтор-4-метоксибензальдегид-О-(пиразиноил)оксим 3г.** Выход 61%. Т. пл. 188–190 °С (разл.) (2-пропанол). УФ-спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: 281, 298. ИК-спектр,  $\text{cm}^{-1}$ : 3092, 3021 (С-Н<sub>аром</sub>), 1744, 1281, 1102 (COON), 1575 (С=N), 1618, 1520 (С=C<sub>аром</sub>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (δ, м. д.): 3.92 (3H, с, ОСН<sub>3</sub>), 7.14 (1H, т, J 8.5 Гц, аром. протон, фенил), 7.57 (1H, т, J 8.5 Гц, аром. протон, фенил), 7.65 (1H, дд, J<sub>1</sub> 2.0 Гц, J<sub>2</sub> 12.0 Гц, аром. протон, фенил), 8.60 (1H, с, аром. протон, пиразин), 8.68 (1H, дд, J<sub>1</sub> 1.5 Гц, J<sub>2</sub> 2.0 Гц, аром. протон, пиразин), 8.76 (1H, д, J 2.0 Гц, аром. протон, пиразин), 9.33 (1H, д, J 1.5 Гц, СН=N). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (δ, м. д.): 56.25 (ОСН<sub>3</sub>), 113.98, 116.44 (д, J 19.5 Гц), 126.00 (С-2, С-5, С-6, фенил), 123.96 (С-1, фенил), 143.89 (С-2, пиразин), 144.87 (С-6, пиразин), 147.02 (С-3, пиразин), 148.50 (С-5, пиразин), 151.79 (д, J 50.0 Гц, С-3, фенил), 157.25 (СН=N), 158.14 (С-4, фенил), 161.65 (С=O).

Для изучения антимикобактериальных свойств полученных соединений по отношению к *Mycobacterium terrae* 15755 был использован метод разведений в плотной питательной среде в чашках Петри. Для этого исходный раствор соединения в диметилсульфоксиде (концентрация 2 г/л) добавляли в питательную среду Миддлбрука 7Н9 с глицерином (Middlebrook 7Н9 Broth with Glycerol) для получения требуемых концентраций (200, 100, 50, 25, 12,5 и 6,25 мг/л). Далее во все анализируемые растворы высевали культуру микобактерий. Для холостых контрольных опытов использовали два образца. С целью контроля влияния растворителя в первый образец добавляли диметилсульфоксид в таком же количестве, как и в образцах с максимальной концентрацией анализируемого вещества, 200 мкг/мл. Второй образец не содержал никаких добавок (контроль роста культуры). Все образцы выдерживали в термостате при 37 °С в течение трех недель. Для оценки антимикробных свойств новых соединений определяли МИК (мкг/мл), которая соответствует концентрации анализируемого вещества и при ней роста микобактерий в чашке Петри не наблюдалось. Результаты определения антимикобактериальных свойств соединений **3а–г** приведены в таблице.

## Литература

1. Manika K., Kioumis I. // Pneumon. 2008. Vol. 21, N 4. P. 395–401.
2. Dinakaran M., Senthilkumar P., Yogeewari P., Sriram D. // Biomed. Pharm. 2009. Vol. 63, N 1. P. 11–18.
3. Castagnolo D., De Logu A., Radi M. et al. // Bioorg. Med. Chem. 2008. Vol. 16, N 18. P. 8587–8591.
4. Janin Y. L. Bioorg. Med. Chem. 2007. Vol. 15, N 7. P. 2479–2513.
5. Saraiva M. F., Ma. V. N. de Souza et al. // Carbohydrate Res. 2010. Vol. 345, N 6. P. 761–767.
6. Dolezal M., Cmedlova P., Palek L. et al. // Eur. J. Med. Chem. 2008. Vol. 43, N 5. P. 1105–1113.
7. Doležal M., Zitko J., Kešetovičová D., Kuneš J., Svobodová M. // Molecules. 2009. Vol. 14, N 10. P. 4180–4189.
8. Chung W. J., Kornilov A., Brodsky B. H. et al. // Tuberculosis (Edinb). 2008. Vol. 88, N 5. P. 410–419.
9. Ковганко Н. Н., Ковганко В. Н. и др. // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. 2013. № 1. С. 73–77.
10. Speirs R. J., Welch J. T., Cynamon M. H. // Antimicrob. Agents Chemother. 1995. Vol. 39, N 6. P. 1269–1271.
11. Cynamon M. H., Klemens S. P., Chou T. S., Gimi R. H., Welch J. T. // J. Med. Chem. 1992. Vol. 35, N 7. P. 1212–1215.
12. Gao Y., Song J., Shang S., Wang D. and Li J. // BioRes. 2012. Vol. 7, N 3. P. 4150–4160.
13. Li J., Rao X., Shang S., Gao Y., Song B. // J. Chem. Soc. Pak. 2012. Vol. 34, N 1. P. 217–222.
14. Gołębiewski M. W., Cyrta M., Michalczyk A. // J. Mycol. Med. 2015. Vol. 25, N 1. P. 50–56.
15. Hu Z.-B., Luo H.-A., Wang X.-G. et al. // Bull. Korean Chem. Soc. 2014. Vol. 35, N 4. P. 1073–1076.
16. Gołębiewski M. W., Cyrta M., Krawczyk M. // J. Chem. Pharm. Res. 2014. Vol. 6, N 10. P. 244–251.

M. M. KAUHANKA, U. M. KAUHANKA, I. N. SLABKO

## SYNTHESIS AND ANTIMYCOBACTERIAL PROPERTIES OF FLUORINATED BENZALDOXIME ESTERS AND PYRAZINECARBOXYLIC ACID ESTERS

### Summary

A series of fluorinated benzaldehyde oxime esters and pyrazinecarboxylic acid esters has been synthesized. Target compounds have been prepared by esterification of oximes with pyrazinecarboxylic acid in the presence of N, N'-dicyclohexylcarbodiimide and N, N'-dimethylaminopyridine. Antimycobacterial properties of the synthesized compounds have been studied.