

© Коллектив авторов, 2014

Ю. Н. Олудина¹, А. Д. Волошина², М. В. Кулик², В. В. Зобов²,
С. В. Бухаров¹, Р. Г. Тагашева¹, Г. Н. Нугуманова¹, А. Р. Бурилов²,
М. А. Кравченко³, С. Н. Скорняков³, Г. Л. Русинов⁴

СИНТЕЗ, ТОКСИЧНОСТЬ И ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ИЗОНИАЗИДА, СОДЕРЖАЩИХ ПРОСТРАНСТВЕННО ЗАТРУДНЕННЫЕ ФЕНОЛЬНЫЕ ФРАГМЕНТЫ

¹ ФГБОУ ВПО «Казанский национальный исследовательский технологический университет»;

² ФГБОУН Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия;

³ ФГБУ Уральский НИИ Фтизиопульмонологии Минздрава России, Екатеринбург, Россия;

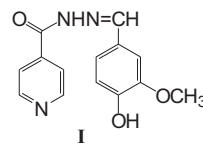
⁴ Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия

Исследована токсичность и туберкулостатическая активность новых производных изониазида, содержащих пространственно затрудненные фенольные фрагменты. Исследованные производные изониазида проявили при меньшей активности меньшую токсичность по сравнению с изониазидом.

Ключевые слова: гибридные структуры; пространственно затрудненные фенолы; изониазид; острая токсичность; туберкулостатическая активность.

Широко используемый в химиотерапии туберкулеза лекарственный препарат изониазид оказывает существенное побочное токсическое действие на организм человека [1]. Поэтому важное значение имеет поиск новых соединений, обладающих высокой туберкулостатической активностью в сочетании с низкой токсичностью. Одним из современных подходов к разработке новых лекарственных средств, интенсивно развиваемых в последнее время, является конструирование многофункциональных лекарственных препаратов широкого спектра действия [2]. Этот подход составляет альтернативу поиску высокоселективных лекарственных средств, которые бы действовали на строго определенную мишень. Последние на практике часто обладают повышенной токсичностью [3].

Известно, что антиоксидантная терапия показана при лечении большого числа заболеваний. При этом антиоксиданты могут снижать токсичность, а в некоторых случаях и повышать активность применяемых лекарственных препаратов. Среди противотуберкулезных препаратов на основе изониазида известен фтивазид, в структуру которого входит обладающий антиоксидантными свойствами фенольный фрагмент [4]. Фтивазид обладает высокой избирательной активностью в отношении *Mycobacterium tuberculosis*, вызывает повреждение мембраны микобактерий, ингибирует метаболические и окислительные процессы, угнетает синтез нуклеиновых кислот, действует на микобактерии как внутри, так и вне клетки [5]. Кроме того, фтивазид (I) при несколько меньшей туберкулостатической активности менее токсичен, чем изониазид (X) [6].

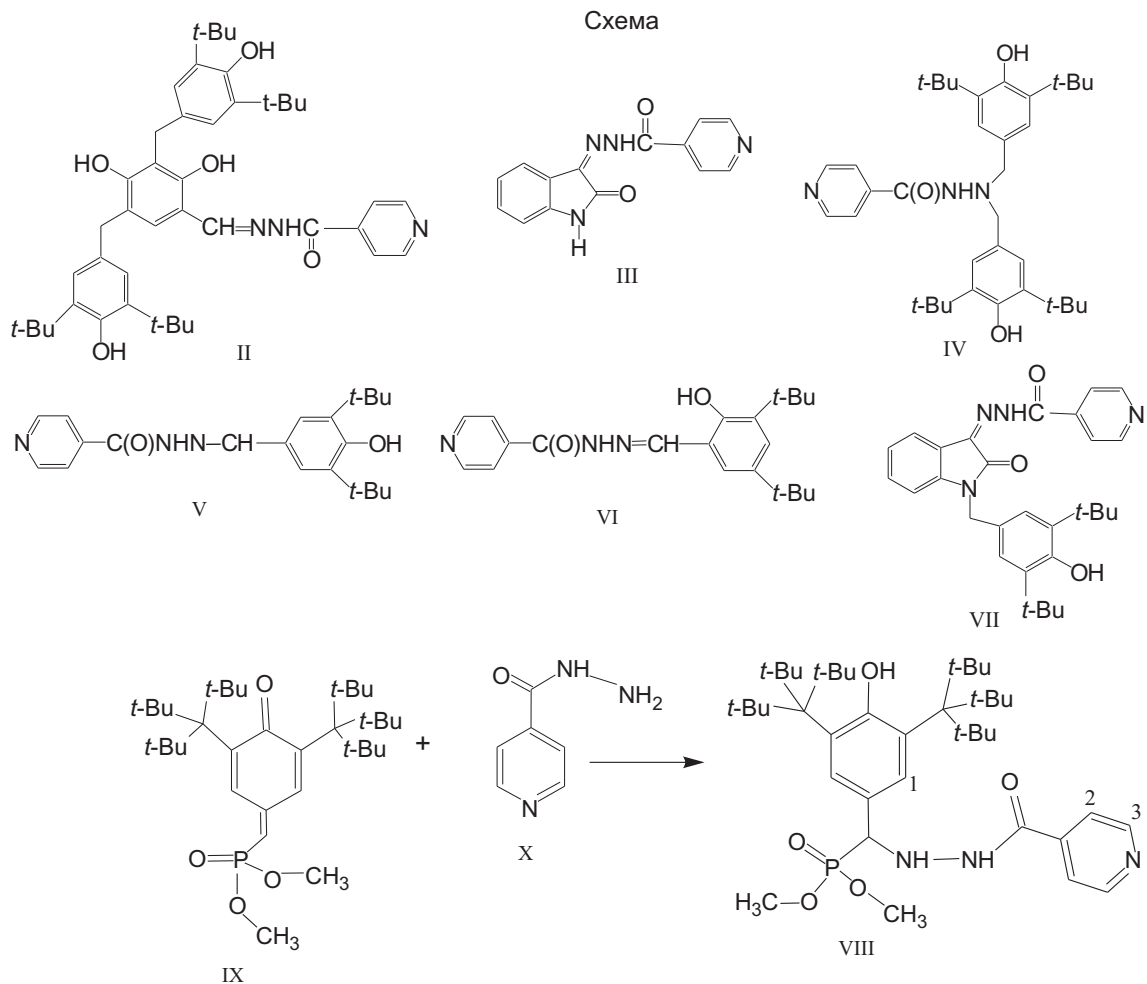


В данной работе проведено исследование токсичности и туберкулостатической активности новых производных изониазида, содержащих пространственно затрудненные фенольные фрагменты. Синтез соединений II – VII описан в работе [7]. Соединение VIII получено нами в реакции 3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксо-2,5-циклогексанилиденметилфосфоната (IX) с X по схеме.

Экспериментальная химическая часть

Спектры ЯМР ¹H записаны на спектрометре Bruker Avance 600 с рабочей частотой 600 и 150 МГц соответственно. Спектры ЯМР ³¹P регистрировали на приборе BrukerMSL-400 (с рабочей частотой 161,94 МГц) относительно внешнего стандарта — 85 %-ной H₃PO₄. Масс-спектры матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ) получены на времяпролетном масс-спектрометре Ultra Flex III TOF/TOF (BrukerDaltonikGmbH, Bremen, Germany) в линейном режиме.

Диметил[(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)-(2-изоникотиноилгидразинил)метил]фосфонат (VIII). К раствору 0,5 г (1,53 ммоль) 3,5-ди-*трет*-бутил-4-оксо-2,5-циклогексанилиденметилфосфоната (IX) в 5 мл диоксана прибавляют 0,2 г (1,53 ммоль) изониазида. Реакционную смесь нагревают при температуре 50 °С в течение 8 ч. Затем отгоняют растворитель,



продукт промывают последовательно теплой водой, гексаном, сушат в вакууме масляного насоса (2 ч, 20 °С, 1 мм рт. ст.). Выход 0,65 г (95 %). Т. пл. 200 – 202 °С (из гексана). ИК-спектр, ν , см^{-1} : 3215 (NH); 1584, 1603 (аром.); 1675 (C=O); 1232 (P=O); 1030, 1068 (POC). Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6 , δ , м.д., J, Гц): 1,42 (с, 18 H, C(CH $_3$) $_3$); 3,68, 3,71 (два д, по 3 H, OCH $_3$, $^3J_{\text{PH}}$ 10,5); 4,47 (д, 1 H, PCH, $^2J_{\text{PH}}$ 10,5); 5,32 (с, 1 H, OH); 7,26, 7,27 (два с, 2 H, H-1); 7,68 (д, 2 H, H-2, $^3J_{\text{HH}}$ 6,2); 8,72 (д, 2 H, H-3, $^3J_{\text{HH}}$ 6,2); 9,06 (с, 1 H, C(O)NH). ЯМР ^{31}P (DMSO- d_6 , δ , м.д.): 26,7 C $_{23}$ H $_{34}$ N $_3$ O $_5$ P. Масс-спектр (MALDI), m/z : 570,4 [M + Ag] $^+$.

Экспериментальная биологическая часть

Первичную токсикологическую оценку растворов (эмульсий) соединений II – VII в оливковом масле с Tween-80 при зондовом введении в желудок через рот (*per os*) проводили в острых опытах на беспородных белых мышах обоего пола массой $19,0 \pm 2,0$ г, содержащихся на стандартном рационе питания в условиях природного режима освещения помещения при комнатной температуре. В экспериментальные группы животных отбирали по методу случайных выборок. В контрольном опыте мышам вводили оливковое масло в эквивалентных опыту количествах. Время наблюдений за экспериментальными животными — 5 сут [8].

Изучение туберкулостатической активности субстанции соединений проводилось методом вертикальной диффузии с использованием лабораторных штаммов H37Rv и Bovis на плотной питательной среде “Новая”. Оценку роста микобактерий туберкулеза (МБТ) проводили по стандартной методике [9], где появление зон задержки роста МБТ (более 10 мм) свидетельствовало о наличии туберкулостатических свойств у соединений в исследуемой концентрации. Величина зоны задержки роста МБТ (в мм) пропорциональна степени туберкулостатической активности соединений. Задержка роста 100 мм и более расценивается как полная задержка роста МБТ.

Острая токсичность и туберкулостатическая активность соединений II – VIII, X

| Соединение | Токсичность острая (ЛД $_{50}$, мыши, <i>per os</i> ; мг/кг) | Туберкулостатическая активность, МИК, мг/л | Терапевтический индекс (ЛД/МИК) |
|------------|---|--|---------------------------------|
| II | > 2000,0 | 12,5 | > 160 |
| III | > 2000,0 | 12,5 | > 160 |
| IV | \geq 2000,0 | 12,5 | \geq 160 |
| V | \geq 2000,0 | 6,1 | \geq 328 |
| VI | \approx 800,0 | 12,5 | \approx 64 |
| VII | \geq 2000,0 | 12,5 | \geq 160 |
| VIII | \approx 1000,0 | 0,1 | \approx 10000 |
| X | \approx 200,0 | 0,1 | \approx 2000 |

Острая смертельная доза (ЛД₅₀; *per os*) соединений II – VII, установленная в экспериментах на лабораторных мышках, находится в диапазоне от 200,0 до более чем 2000,0 мг/кг, что служит основанием для отнесения их к “веществам умеренно-опасным” (III класс опасности) по способности вызывать острое отравление [10]. Изониазид X (ЛД₅₀ около 178 мг/кг) в той же системе классификации относится к “веществам высокоопасным” (II класс опасности) [10].

Как видно из приведенных данных (таблица), соединение VIII характеризуется наилучшим терапевтическим индексом, превосходящим в 5 раз аналогичный показатель X. Туберкулостатическая активность соединения V сопоставима с аналогичным показателем известного противотуберкулезного препарата — тиаацетазона (тибона). Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) тибона составляет 5 мкг/мл [11]. Следует отметить, что широкому практическому применению тибона препятствует его относительно высокая токсичность [12].

Таким образом, “гибридные структуры” на основе X и пространственно затрудненных фенолов, и прежде всего соединения V и VIII, представляют интерес для дальнейших углубленных исследований возможности их применения для противотуберкулезной терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 12-03-97041).

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. П. Скакун, В. В. Шманько, *Врачебное дело*, **1**, 49 – 52 (1984).
2. А. Т. Солдатенков, Н. М. Колядина, И. В. Шендрик, *Основы органической химии лекарственных веществ*, Мир, Москва (2003), с. 192.
3. И. В. Серков, В. В. Безуглов, *Успехи химии*, **78**(5), 442 – 465 (2009).
4. The Chemistry of Phenols, Z. Rappoport (ed.), *John Wiley & Sons*, Jerusalem (2003), p. 842.
5. А. Т. Бурбелло, А. В. Шабров, П. П. Денисенко, *Современные лекарственные средства: Клинико-фармакологический справочник практического врача*, ЗАО “ОЛМА Медиа Групп”, Москва (2006), с. 401.
6. В. В. Маньковский., Е. Г. Щекина, Т. М. Чернова, *Провизор*, № 10, 44 – 46 (2002).
7. С. В. Бухаров, Р. Г. Тагашева, Г. Н. Нугуманова, Л. В. Мавромати, *Вестник КГТУ*, № 8, 23 – 27 (2010).
8. Р. У. Хабриев, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, ЗАО ИИА Ремедиум, Москва (2005), сс. 45 – 46.
9. S. Kudon, T. Kudon, *Study on the Isolation Culture Technigue of Tubercle Bacilli Applicatible in Remote Areas*, Part 1; *Kekkaku (Tuberculosis)*, **48**(10), 453 – 462 (1973).
10. С. П. Булавин, *Бюл. Всесоюз. ин-та эксперим. ветеринарии*, Москва, Вып. 48, 61 – 62 (1982).
11. Г. И. Жунгиету, В. Г. Граник, *Основные принципы конструирования лекарств*, Изд-во Гос. Ун-та Молдовы, Кишинев (2000), с. 272.
12. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Медицина, Москва (1978), с. 275.

Поступила 25.03.13

SYNTHESIS, TOXICITY AND ANTITUBERCULAR ACTIVITY OF ISONIAZID DERIVATIVES CONTAINING SPATIALLY CONSTRAINED PHENOL FRAGMENTS

Yu. N. Oludina¹, A. D. Voloshina², M. V. Kulik², V. V. Zobov², S. V. Bukharov¹, R. G. Tagasheva¹, G. N. Nugumanova¹, A. R. Burilov², M. A. Kravchenko³, S. N. Skornyakov³, and G. L. Rusinov⁴

¹ Kazan National Research Technological University, Kazan, Tatarstan, 420015 Russia;

² Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Kazan, Tatarstan, 420088 Russia;

³ Phthisiopulmonology Research Institute, Ministry of Public Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, 620039 Russia;

⁴ Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620219 Russia

Исследована токсичность и туберкулостатическая активность новых производных изониазида, содержащих пространственно затрудненные фенольные фрагменты. Исследованные производные изониазида проявили при меньшей активности меньшую токсичность по сравнению с изониазидом. A series of new isoniazid derivatives containing sterically hindered phenols units were synthesized and their toxicity and tuberculostatic activity were investigated. The investigated isoniazid derivatives showed lower activity than isoniazid, but their toxicity was also lower in comparison with the reference drug.

Keywords: hybrid structures, spatially constrained phenols, isoniazid, acute toxicity, tuberculostatic activity