

Курбатов Е. Р., Газизова А. Ф., Курбатова А. А., Бобылева А. А.

ФГБОУ ВО Пермская государственная фармацевтическая академия Минздрава России, г. Пермь

ПОИСК ВЕЩЕСТВ С ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ СРЕДИ ПРОДУКТОВ КОНДЕНСАЦИИ 3-АМИНО-2-ДИХЛОРМЕТИЛ-6-ЙОД-ХИНАЗОЛИН-4(3Н)-ОНА С АРОМАТИЧЕСКИМИ АЛЬДЕГИДАМИ

Цель. Прогноз биологической активности, синтез новых соединений в ряду 6-йодхиназолин-4 (3Н)-онов и последующее исследование противомикробной активности.

Материалы и методы. Прогноз биологической активности ряда производных хиназолин-4 (3Н)-онов осуществлен с помощью программы PASS Online. Реакцией конденсации 3-амино-2-дихлорметил-6-йод хиназолин-4(3Н)-она с ароматическими альдегидами в среде этанола в присутствии хлороводородной кислоты при перемешивании в течение 1 часа при температуре 18-20 °С были получены 3R-бензилиденамино-2-дихлорметил-6-йод-хиназолин-4(3Н)-оны. Чистоту полученных продуктов контролировали методом ТСХ на пластинках Sorbfil ПТСХ-П-В. Строение соединений установили методами ИК, ЯМР ¹H-спектроскопии. Изучили их антибактериальную активность методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде.

Результаты. Проведенные исследования по прогнозированию показали, что изучаемые соединения с высокой степенью вероятности могут проявить противотуберкулёзную активность и в меньшей степени антибактериальную. Результаты возможности проявления биологического действия, полученные при использовании программы PASS Online, подтверждены с помощью экспериментальных исследований. Установлено, что три вещества проявляют антибактериальное действие на уровне или в два раза превышают уровень препаратов сравнения.

Выводы. Таким образом, полученные данные по прогнозированию биологической активности и проведенные испытания свидетельствуют о перспективности поиска соединений, обладающих антибактериальным и противотуберкулёзным действием в ряду 3R-бензилиденамино-2-дихлорметил-6-йодхиназолин-4(3Н)-онов.

Ключевые слова: синтез, производные 5-йодантраниловой кислоты, хиназолин-4(3Н)-оны, прогноз биологической активности, антибактериальная активность.

Актуальность. Поиск, изучение и внедрение в клиническую практику безопасных лекарственных средств является одной из основных задач фармацевтической химии. Неослабевающий интерес к синтезу одного из перспективных классов соединений – производных антраниловой кислоты – хиназолин-4-онов, связан с их использованием в медицинской практике и с проявляемой разноплановой биологической и фармакологической активностью [8, 9].

В частности, метаквалон (2-метил-3-(о-толил)-4-хиназолинон) и его производные – дипроквалон, этаквалон, метилметаквалон – с 60-х годов XX в. по настоящее время используются в качестве седативных, снотворных, противосудорожных, противокашлевых средств [10].

В процессе поиска новых биологически активных соединений часто возникает проблема получения веществ с высокой токсичностью, обладающих канцерогенными свойствами или не проявляющих фармакологической активности. Для рационального поиска новых биологически активных соединений и уменьшения данных рисков, в настоящее время, целесообразно применять методы молекулярного моделирования [3]. Одной из доступных систем, позволяющих прогнозировать вероятность проявления у химического соединения исследуемых фармаколо-

гических эффектов является программа PASS Online, в базе данных которой информация о более 4000 видах биологической активности, включая фармакологические эффекты, механизмы действия, токсические и побочные эффекты, взаимодействие с метаболическими ферментами и транспортерами, влияние на экспрессию генов и т. д. (<http://www.pharmaexpert.ru/PASSOnline/index.php>) [3, 6].

Цель. Прогноз биологической активности, синтез новых соединений в ряду 6-йодхиназолин-4(3Н)-онов и последующее исследование противомикробной активности.

Материалы и методы. Используя методики органического синтеза, а именно циклизации, амидирования и конденсации, нами было получено 9 соединений.

2-Дихлорметил-6-йод-3,1-бензоксазин-4-он (II): к взвеси 0,008 моль NH-дихлорацетил-5-йодантраниловой кислоты (I) добавляют 0,0032 моль пропионового ангидрида и кипятят на водяной бане в течение 1 ч. Полученный осадок отфильтровывают и сушат. Выход 63,2%. T_{пл} = 144-146 °С. ЯМР ¹H (DMCO-d₆), δ, м. д.: 7,2-8,1 м (4H, Ar+CH).

3-Амино-2-дихлорметил-6-йод хиназолин-4 (3Н)-он (III): к взвеси 0,001 моль бензоксазин-3-она (II) добавляют 0,0012 моль гидразингидрата и кипятят на водяной бане с обратным холодильником в среде

Kurbatov E. R., Gazizova A. F., Kurbatova A. A., Bobyleva A. A.

SEARCH FOR SUBSTANCES WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY MIDST THE PRODUCTS OF CONDENSATION 3-AMINO-2-DICHLOROMETHYL-6-iodo-QUINAZOLIN-4(3H)-ONE WITH AROMATIC ALDEHYDES

Aim. The computer prediction of biological activity, the synthesis of new compounds in the series of 6-iodoquinazoline-4(3H)-ones and the subsequent research of antimicrobial activity.

Materials and methods. Computer prediction of biological activity was carried out for a range quinazoline-4(3H)-one derivatives by using the program PASS Online. 3R-benzylideneamino-2-dichloromethyl-6-iodo-quinazoline-4(3H)-ones were obtained by the condensation reaction of 3-amino-2-dichloromethyl-6-iodo-quinazolin-4(3H)-one with aromatic aldehydes in the medium of ethanol in the presence of hydrochloric acid with stirring for 1 hour at the 18-20°. The purity of the obtained products was controlled by TLC on Sorbfil PTSH-P-B plates. The proposed structures are confirmed by IR, ¹H NMR spectroscopy. The antibacterial activity of synthesized compounds was studied by the method of two-fold serial dilutions in a liquid nutrient medium.

Results. Conducted research on computer prediction have shown that the compounds under study with a high degree of probability can exhibit anti-tuberculosis activity and, to a lesser extent, antibacterial activity. The results of the possible demonstration of biological activity obtained by using the program PASS Online are confirmed with experimental studies. Experimentally confirmed in three substances the demonstrated of antibacterial action at or twice the level of the drugs of comparison.

Conclusions. Thus, the obtained data on prediction of biological activity and the tests show the prospect of searching for compounds that have antibacterial and anti-tubercular activity in a series of 3R-benzylideneamino-2-dichloromethyl-6-iodination-4(3H)-ones.

Keywords: synthesis, 5-iodoanthranilic acids derivatives, quinazolin-4(3H)-ones, prediction of biological activity, antimicrobial activity.

ДМФА в течение 1 ч. Полученный осадок отфильтровывают, сушат и перекристаллизовывают из этанола. Выход 61,6%. T_{пл} = 120-122 °С. ЯМР ¹H (ДМСО-d₆), δ, м. д.: 5,70 с (2H, NH₂); 7,43-8,33 м (4H, Ar+CH).

4-Хлорбензильденамино-2-дихлорметил-6-йодхиназолин-4(3H)-он (IV): к взвеси 0,001 моль хиназолона III в 5 мл этанола добавляют 0,0012 моль 4-хлорбензальдегида и 1-2 кап. концентрированной хлороводородной кислоты и перемешивают в течение 1 ч при температуре 18-20 °С. Избыток кислоты нейтрализуют Na₂CO₃. Полученный осадок отфильтровывают, сушат и перекристаллизовывают из ацетонитрила. Выход 55,8%. T_{пл} = 202-204 °С.

Соединения V – IX получены аналогично.

Для подтверждения структуры были использованы:

- ЯМР¹H – спектры, записанные на Фурье-спектрометре фирмы TeslaBS-567A (рабочая частота 300 или 400 МГц) в ДМСО-d₆ (дейтерированном диметилсульфоксиде), внутренний стандарт – ГМДС. Расчёт химических сдвигов протонов вели по шкале δ, м. д.;
- ИК-спектры, записанные на приборе Specord M-80 в таблетках с калия бромидом.

Ход реакций и чистоту полученных продуктов контролировали методом ТСХ на пластинках Sorbfil ПТСХ-П-В в системе растворителей бензол-хлороформ-ацетон (9:1:1) пятна детектировали парами йода, величина R_f находится в интервале 0,3-0,6.

Для синтезированных веществ был осуществлен прогноз вероятности проявления биологической активности с использованием компьютерной программы PASS Online.

Бактериостатическую активность полученных веществ по отношению к фармакопейным штаммам кишечной палочки *Escherichia coli* ATCC 25922 и золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* ATCC6538-P [5] определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде [7]. Диметилформамид использовался в качестве растворителя, производили в мясоептонный бульон (рН 7,0) с различной концентрацией испытуемых соединений. Микробная нагрузка составила 250 000 микробных тел на 1 мл. Учет результатов производили через 18-20 часов выдержки контрольных и опытных пробирок в термостате при температуре 37 °С. Регистрировали наличие или отсутствие роста бактериальных культур под действием исследуемых соединений. За действующую дозу принимали минимальную подавляющую концентрацию веществ (МПК, мкг/мл), которая задерживает рост соответствующего тест-микроба. В качестве эталонов сравнения использовали диоксидин, фурацилин, хлорамин Б.

Результаты и обсуждение. Полученные с помощью программы PASS Online скрининговые данные приведены в таблице 1. Вероятности проявления в эксперименте «активности» (Pa) и «неактивности» (Pi) расположены по убыванию их разности.

Проведенные исследования показали, что полученные соединения (I-IX) с высокой степенью вероятности могут проявить противотуберкулёзную активность и в меньшей степени антибактериальную (табл. 1). В связи с этим актуальным стало получить данные соединения и провести исследования их биологического действия.

Таблица 1
Скрининговые данные, полученные с помощью программы PASS Online

Соединения	Вид биологической активности, Pa/Pi			
	противотуберкулезная		антимикробная	
I	0,486	0,014	0,605	0,013
II	–	–	0,327	0,082
III	0,368	0,042	0,201	0,117
IV	0,696	0,004	0,263	0,076
V	0,692	0,004	0,298	0,104
VI	0,604	0,005	0,287	0,065
VII	0,733	0,005	0,354	0,067
VIII	0,647	0,005	0,490	0,111
IX	0,655	0,005	0,546	0,085

Ацилированием 5-йодантрилиновой кислоты хлорангидридом дихлоруксусной кислоты получили N-дихлорацетил 5-йодантрилиновую кислоту (I), внутримолекулярной циклизацией которой [4] (рис. 1) получен 2-дихлорметил-6-йод-3,1-бензоксазин-4-он

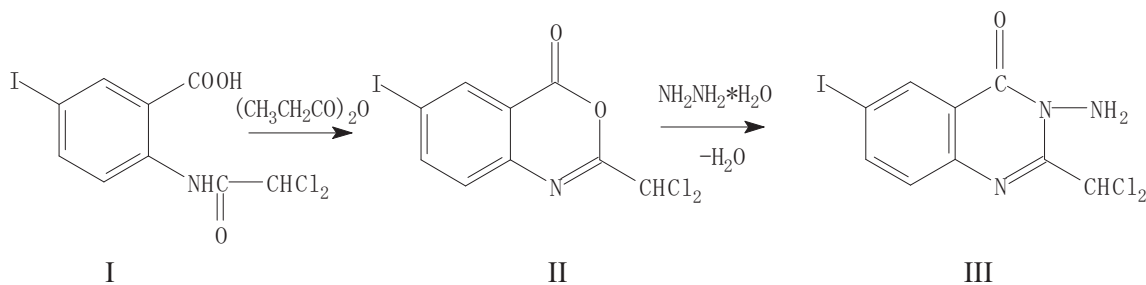


Рис. 1.

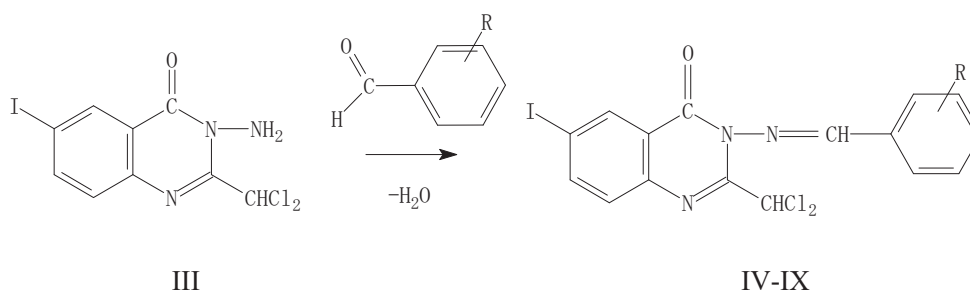


Рис. 2.

(II) [1]. Кипячением соединения II с гидразином на водяной бане синтезирован 3-амино-2-дихлорметил-6-йодхиназолин-4 (3H) -он (III), при его конденсации с ароматическими альдегидами (рис. 2) получены соответствующие хиназолин-4(3H)-оны (IV-IX) [2]:

R = 4-Cl (IV); R = 2,4 – OCH₃ (V); R = 4-N (C₂H₅)₂ (VI); R = 4-N (CH₃)₂ (VII); R = 4-NO₂ (VIII); R = 2-NO₂ (IX).

Синтезированные соединения являются кристаллическими или аморфными веществами белого с серым оттенком, желтого, вишневого, зеленого цвета, нерастворимыми в воде, этаноле, растворимыми в органических растворителях (ДМСО, ДМФА). Физико-химические и спектральные характеристики полученных веществ представлены в таблице 2.

В спектрах ЯМР ¹H соединений IV-IX наблюдаются сигналы ароматических протонов в виде мультиплета в области 6,65-9,46 м. д.

В ИК спектрах соединений IV-IX присутствуют полосы валентных колебаний гидразидного карбонила при 1680 см⁻¹, азометиновой группы при 1590-1592 см⁻¹.

Физико-химические и спектральные характеристики

Таблица 2

№ п/п	R	T _{пл.} , °C	Выход, %	ЯМР ¹ H (ДМСО-d ₆), δ, м. д.:	ИК, см ⁻¹
IV	4-Cl	202-204	64,7	7,57-8,70 м (7H, 2Ar + 2CH)	1680 CON 1590 N=CH
V	2,4-OCH ₃	142-144	55,8	3,88 τ (6H, 2CH ₃); 6,65-8,81 м (6H, 2Ar + 2CH)	–
VI	4-N(C ₂ H ₅) ₂	122-124	51,3	1,12 τ (6H, 2CH ₃); 3,57 м (4H, 2CH ₂); 6,73-8,69 м (7H, 2Ar + 2CH)	1680 CON 1592 N=CH
VII	4-N(CH ₃) ₂	220-222	63,9	3,06 τ (6H, 2CH ₃); 6,82-8, 74 м (7H, Ar + 2CH)	–
VIII	4-NO ₂	198-200	56,3	7,58-9,46 м (9H, 2Ar + 2CH)	1680 CON 1592 N=CH
IX	2-NO ₂	199-200	76,8	7,78-8,91 м (9H, 2Ar + 2CH)	–

Результаты исследования противомикробного действия обобщены и представлены в таблице 3.

Таблица 3

Соединение	МПК, мкг/мл	
	<i>St. aureus</i> ATCC6 6538-P	<i>E. coli</i> ATCC 25922
I	500	н/а
II	1000	>1000
III	н/а	н/а
IV	1000	>1000
V	1000	>1000
VI	1000	>1000
VII	1000	>1000
VIII	250	н/а
IX	250	1000
Диоксидин	500	31
Фурацилин	250	125
Хлорамин Б	500	250

Установлено, что исходное соединение N-дихлорацетил-5-йод антралиловая кислота (I) проявляет противомикробную активность в отношении *St. aureus* на уровне хлорамина Б и диоксидина – в концентрации 500 мкг/кг. По отношению к *E. coli* полученные производные проявляют низкое антибактериальное действие. При циклизации соединения I активность снижается в 2 раза по отношению к *St. aureus* (II). Введение в третье положение аминогруппы (соединение III) приводит к потере активности. Продукты конденсации соединения III с 4-нитробензальдегидом (VIII) и 2-нитробензальдегидом (IX) проявляют антибактериальное действие в отношении *St. aureus* на уровне фурацилина и в два раза активней в сравнении с хлораминном Б. Введение других заместителей в бензилиденовый фрагменте ведет к снижению активности в 4 раза.

Заключение. Таким образом, полученные данные по прогнозированию биологической активности и проведенные испытания свидетельствуют о перспективности поиска соединений, обладающих антибактериальным и противотуберкулезным действием в ряду 3R-бензилиденамино-2-дихлорметил-6-йодхиназолин-4(3H)-онов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Власова Н. А., Курбатов Е.Р, Коркодинова Л. М. Синтез и сравнительная характеристика противомикробной активности 6-бром(йод)-2-фенил-3-аминохиназолин-4(3H)-онов и их NH-ацильных производных // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2010. № 2. С. 17-19.
2. Газизова А. Ф., Ушакова Е. В., Курбатов Е. Р. Синтез и физико-химические свойства 3R-бензилиденамино-2-дихлорметил-6-йодхиназолин-4(3H)-онов // Научно-практический журнал «Вестник ПГФА». 2017. № 19. С. 108-109.
3. Глориозова Т. А., Филимонов Д. А., Лагунин А. А. Тестирование компьютерной системы для предсказания биологической активности PASS на выборке новых химических соединений // Хим. фарм. журн. 1998. № 32, № 12. С. 32-39.
4. Курбатов Е. Р., Коркодинова Л. М., Гольдштейн А. Г. Синтез, противовоспалительная и анальгетическая активность замещённых амидов N-дихлорацетил-5-йодантралиловой кислоты // Вестник Волгоградского Государственного Медицинского Университета. 2014. С. 63-64.
5. Филимонов Д. А., Порейков В. В. Прогноз спектра биологической активности органических соединений // Рос. хим. журн. 2006. Т. 50, № 2. С. 66-75.
6. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Москва, 2005. С. 516-522.
7. A. Omar Al-Deeb, Ahmed M. Alafeefy. Synthesis of some new 3H-quinazolin-4-one derivatives as potential antitubercular agents // World Appl. Sci. J. 2008. Vol. 5 (1). P. 94-99.
8. Adel S. El-Azab, Sami G. Abdel-Hamide, Mohamed M. Sayed-Ahmed, Ghada S. Hassan. Novel 4 (3H)-quinazolinone analogs: synthesis and anticonvulsant activity // Med Chem Res. 2013. № 22. P. 2815-2827.
9. Ecsery Z., Kosa I., Somfai E., Tardos L., Leszkovszky G. Heterocyclic Compounds. 1963. № 4585. P. 38.
10. Kruti N. Myangar¹, Tarun N. Akhaja¹, Deep R. Naik¹, Jignesh P. Raval. Thiazolidinyl-quinazolin-4-one derivatives: design, synthesis and in vitro evaluation of antitubercular activities // Chemistry & Biology Interface. 2012. № 2 (3). P. 157-171.

Контактная информация

Газизова Асия Фаниловна, тел. +7-982-490-64-65,
e-mail: asiya_gazizova@mail.ru.

Сведения об авторах

Курбатов Евгений Раисович, д. фарм. н., доцент кафедры фармацевтической химии ФОО ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь.

Газизова Асия Фаниловна, аспирант кафедры фармацевтической химии ФОО ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь.

Курбатова Алевтина Анатольевна, к. фарм. н., доцент кафедры аналитической химии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь.

Бобылева Александра Александровна, к. фарм. н., доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь.