

**СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ 2-АМИНО-3-ЦИАНО-4Н-ХРОМЕНА
МУЛЬТИКОМПОНЕНТНЫМИ РЕАКЦИЯМИ И ХАРАКТЕРИСТИКА
ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO***

Мисюля Д.И., Минеева И.В.

Мисюля Д.И.

Магистр химических наук,
аспирант 1-го года обучения специальности 02.00.03 органическая химия Бело-
русского государственного университета,
стажер м.н.с.

сектора тонкого органического синтеза учреждения Белорусского государ-
ственного университета «Научно-исследовательский институт физико-хими-
ческих проблем»,
г. Минск, Беларусь
d.misiulia@yandex.by

Минеева И.В.

Доктор химических наук, профессор, профессор кафедры органической химии
химического факультета Белорусского государственного университета,
заведующий сектором тонкого органического синтеза учреждения Белорус-
ского государственного университета «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
i.mineyeva@yandex.ru

В данной статье рассмотрен синтез различных производных 4Н-хроменов с использованием мультикомпонентной реакции (МКР) Ганча. Показано, что функционализация производных 2-амино-3-циано-4Н-хроменов может осуществляться посредством варьирования участников МКР в достаточно мягких (DMAР (20 мольн. %), EtOH, 25°C) условиях. Исследована антибактериальная активность полученных соединений на различных бактериальных культурах: *Azotobacter chroococcum*; *Escherichia coli* M-17; *Bacillus subtilis*; *Bacillus mesentericus* относительно известных антибактериальных агентов различной природы в условиях *in vitro*.

Ключевые слова: 4Н-хромен; *Azotobacter chroococcum*; *Escherichia coli* M-17; *Bacillus subtilis*; *Bacillus mesentericus*; мультикомпонентная реакция; ампициллин; доксициклин; хлоргексидин; *in vitro*

SYNTHESIS OF 2-AMINO-3-CYANO-4H-CHROME DERIVATIVES BY MULTICOMPONENT REACTIONS AND CHARACTERIZATION OF THEIR ANTIBACTERIAL ACTION *IN VITRO*

Misiulia D.I.

*Master of Chemical Sciences,
First-year postgraduate student majoring in organic chemistry (02.00.03) at the Belarusian State University, Junior Researcher Intern
Sector of Fine Organic Synthesis at the Research Institute for Physical-Chemical Problems of the Belarusian State University,
Minsk, Belarus
d.misiulia@yandex.by*

Mineyeva I.V.

*Doctor of Chemical Sciences, Professor, Professor of the Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Belarusian State University
Head of the Fine Organic Synthesis Sector, Research Institute for Physical-Chemical Problems, Belarusian State University,
Minsk, Belarus
i.mineyeva@yandex.ru*

*This article discusses the synthesis of various 4H-chromene derivatives using the Hantzsch multicomponent reaction (MCR). It is shown that the functionalization of 2-amino-3-cyano-4H-chromene derivatives can be accomplished by varying the MCR participants under fairly mild conditions (DMAP (20 mol %), EtOH, 25°C). The antibacterial activity of the obtained compounds was studied against known antibacterial agents of various origins *in vitro* against various bacterial cultures: *Azotobacter chroococcum*; *Escherichia coli* M-17; *Bacillus subtilis*; *Bacillus mesentericus*.*

Key words: *4H-chromene; Azotobacter chroococcum; Escherichia coli M-17; Bacillus subtilis; Bacillus mesentericus; multicomponent reaction; ampicillin; doxycycline; chlorhexidine; in vitro*

Среди производных хромана можно встретить достаточно большое количество веществ с самыми разными видами биологической активности. Производные хромана природного происхождения выделены из различного природного (в основном – растительного) сырья. Среди них – ингибиторы тирозиназы (глабридин), трипаноциды, антогонисты ювенильного гормона насекомых и, конечно же, самое распространенное хромановое производное в живой природе – витамин Е (α -токоферол). Рассматривая синтетические производные 4H-хромена, можно встретить в основном такие работы, в которых рассматривается их роль в качестве антимикробных агентов (бактерио-, трипано-, вирио- и фунгицидов) и онкокиллерных (онкостатических) агентов. В частности, обе роли могут совмещать производные 2-амино-3-циано-4H-хроменов (2-АЦХ) [1].

Различные хроменовые производные могут быть получены методом мультикомпонентных реакций (МКР). К мультикомпонентной реакции может быть отнесена такая многокомпонентная (2 и более участников) трансформация, при

которой из сравнительно простых субстратов в одну стадию образуется продукт с высокой молекулярной сложностью. Варьированием природы исходных участников такого многокомпонентного процесса можно добиться и функционализации образующегося продукта. Ожидаемым результатом такой функционализации может стать управляемое качественное и количественное варьирование биологической активности получаемого продукта [2].

В действительности, к настоящему времени опубликовано некоторое число работ, в которых получаемые производные 4*H*-хромена подвергаются испытаниям на антибактериальную активность. Тем не менее, в некоторых работах (например в [3]), можно встретить подходы, обходящиеся без статистической обработки количественных параметров, а также фиксирование антибактериальной активности по визуальным признакам в жидкой культуре, несмотря на гидрофобность синтезированных веществ. Кроме того, последние часто изучаются не в чистом виде, а в виде смеси изомеров. На наш взгляд, такой подход лишает возможности полноценной оценки привлекательности метода МКР в контексте изменения (качественного и количественного) биологической активности продуктов, через разнообразные структурные модификации последних.

В связи с вышесказанным, цель настоящей работы – методом МКР синтезировать ряд производных 2-амино-3-циано-4*H*-хромена и осуществить *in vitro* оценку их антибактериальной активности в зависимости от присутствия тех или иных функциональных групп, а также их комбинаций.

Общая схема проведенных нами мультикомпонентных реакций, состав и выходы продуктов, приведены на рисунке 1.

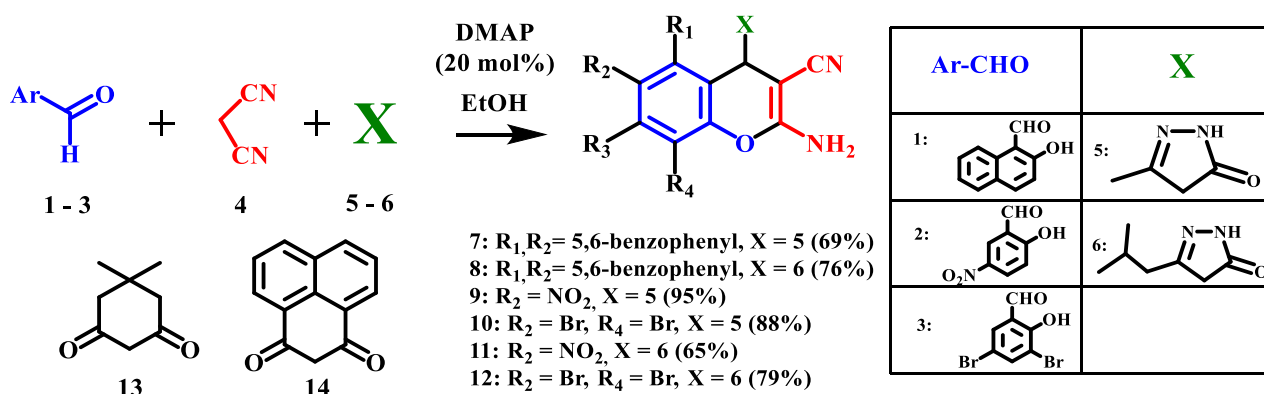


Рис. 1. Схема МКР замещенных салициловых альдегидов (1–3), малононитрила (4) и некоторых пиразолонов (5–6)

Так, в достаточно мягких и методически несложных условиях, получен ряд производных 2-АЦХ (рис. 2). Синтезированные вещества были охарактеризованы методами ИК- и ЯМР-спектроскопии. В присутствии *N,N*-диметиламинопиридина (DMAP) в среде этанола, таким образом, можно получать пиразолоновые производные 2-АЦХ с хорошими выходами в условиях комнатной температуры. При этом повышение температуры проведения данной МКР приводит к существенному снижению выхода соответствующего продукта

реакции (например, в случае продукта **7**, выход снижается до 29 % при кипячении реакционной смеси).

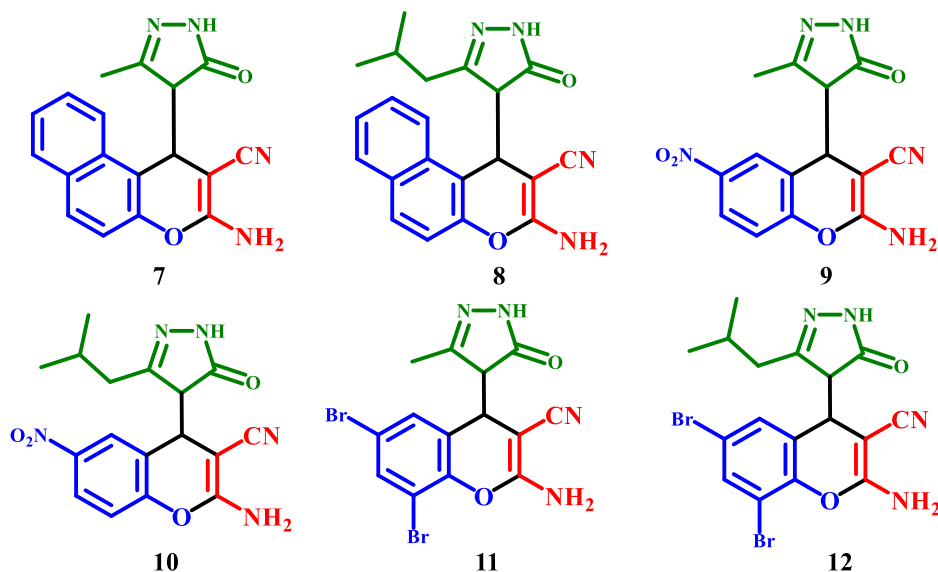


Рис. 2. Пиразолоновые производные **7-12**, полученные с помощью МКР

Функционализация производных 2-АЦХ другими 1,3-дикарбонильными соединениями, например димедоном (**13**), хотя и упоминается [4], однако реально наблюдаемые экспериментальные факты противоречат тем, которые приведены в цитируемой работе. В настоящее время нами ведутся исследования, направленные на установление закономерностей вовлечения димедона (**13**) в изучаемую МКР в качестве 1,3-дикарбонильной компоненты. Феналендион-1,3 (**14**) также не удастся вовлечь в МКР и получить соответствующие производные 2-АЦХ, что требует более детального изучения в силу как фундаментальных, так и практических причин.

Следующий этап, интересный как с точки зрения синтетической органической химии, так и с позиций биологических наук, связан с установлением того, как различные вариации структуры и функциональных групп, вводимых различными синтетическими подходами, сказываются на биологической активности продуктов. В настоящей работе это рассматривается на примере антибактериальной активности.

Антибактериальную активность оценивали относительно четырех видов микроорганизмов: двух грамотрицательных — *Azotobacter chroococcum* (**I**) и *Escherichia coli* M-17 (**II**), а также двух грамположительных — *Bacillus subtilis* (**III**) и *Bacillus mesentericus* (**IV**). Микроорганизмы **II–IV** культивировали на 2%-ом мясо-пептонном агаре, а азотобактер (**I**) — на твердой безазотной среде Эшби. Растворами исследуемых веществ в N,N-диметилформамиде (DMF) в концентрации 3 мг/мл смачивали диск ($d = 6$ мм) из фильтровальной бумаги, предварительно обработанной 70%-м изопропанолом и высушенной. Пропитанные раствором диски наносили на поверхность бактериальной культуры вскоре после

посева. Для азотобактера использовали такие же растворы, но в диметилсульфоксиде (DMSO). На одну бактериальную культуру равномерно помещали 5 таких дисков. Посев осуществлялся в условиях стерильного глав-бокса. Диаметры зон ингибирования роста микроорганизмов (мм) фиксировали на 3–7 сутки после посева. Отсутствие зон ингибирования в случае с чистыми растворителями (DMF и DMSO) показано в отдельном контрольном эксперименте. В качестве контроля (веществ с известной антибактериальной активностью) использовали: цетилтриметиламмоний бромид (ЦТМА, 3 мг/мл), хлоргексидина биглюконат (0,5 мг/мл), доксициклин (Dox, 3 мг/мл, только на I и II) ампициллин (Amp, 0,04 мг/мл, только на III и IV). Достоверность различий средних диаметров зон ингибирования оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Таблица

Антибактериальные свойства продуктов мультикомпонентных реакций 7–12 в сравнении с ЦТМА, хлоргексидином, Dox и Amp

Вид бактерий Вещество	<i>Azotobacter chroococcum</i> (I)	<i>Escherichia coli</i> M-17 (II)	<i>Bacillus subtilis</i> (III)	<i>Bacillus mesentericus</i> (IV)
Продукты мультикомпонентной реакции				
7	10,0 ± 0,60 WBS	18,8 ± 1,17 SBS	–	–
8	– ^a	–	–	–
9	–	–	9,8 ± 0,70 WBS	7,8 ± 0,40 WBS
10	–	–	–	–
11	–	25,2 ± 1,17 SBS	13,8 ± 1,70 WBS	14,8 ± 0,70 WBS
12	–	17,2 ± 0,70 WBS	–	–
Вещества-сравнения				
ЦТМА	11,4 ± 0,50 WBC	9,0 ± 0,00 WBC	12,8 ± 0,40 WBC	12,4 ± 0,80 WBC
Хлоргексидин	8,8 ± 0,70 WBC	13,4 ± 0,50 WBC	11,2 ± 0,40 WBC	9,8 ± 0,40 WBC
Dox	33,4 ± 1,20 SBC	26,8 ± 2,64 SBC	н	н
Amp	н	н	29,8 ± 1,00 SBC	26,8 ± 2,20 SBC

Примечание. ^a «–» – вещество не обладает антибактериальным действием; ^b «н» – эксперимент не проводился

Количественные данные *in vitro* оценки антибактериальной активности веществ приведены в таблице. На основании полученных экспериментальных данных (диаметр зон ингибирования, их характер, форма края зоны и др.), мы предлагаем следующий подход к группированию веществ по силе их антибактериального действия с учетом специфики органической химии. По культуральным признакам может быть заметно, является вещество или бактериостатиком, или бактерицидом. При этом достаточно явно прослеживается разделение

бактериостатиков на слабые (WBS) и сильные (SBS). В случае с бактерицидами ситуация несколько проще: разграничение по силе действия на сильные (SBC) и слабые (WBC) здесь условно можно осуществлять на основании количественных данных – диаметров зон ингибирования (рис. 3).

(Нет активности)	Слабый бактериостатик (WBS)	Сильный бактериостатик (SBS)	Бактерицид (WBC или SBC)
Зоны ингибирования не просматриваются	1) зона ингибирования роста трудно, но различима; 2) край зоны ингибирования просматривается с трудом (не четко); 3) диаметр зоны может быть измерен.	1) зона ингибирования явно различима; 2) край зоны ингибирования просматривается, но он не четкий; 3) диаметр зоны может быть измерен.	1) зона ингибирования явно и четко различима; 2) край зоны ингибирования четкий и резкий; 3) диаметр зоны может быть легко измерен.


 По возрастанию силы антибактериального действия

Рис. 3. Параметры, на основании которых осуществлялось отнесение веществ к той или иной группе антибактериального действия

Кроме того, нами была проведена оценка антибактериального эффекта исходных субстратов МКР. Установлено, что ни исходные субстраты, ни некоторые из промежуточных продуктов МКР, не обладают антибактериальными свойствами *in vitro* (за исключением 3,5-дибромсалицилового альдегида, который действует достоверно (при $P < 0,01$) слабее соответствующего продукта **11**). Некоторые примеры антибактериальных свойств веществ в описанных периодических культурах показаны на рисунке 4.

Структура **7** активна против **I** и **II**, но неактивна относительно грамположительных бактерий. Напротив, **9** активно против **III** и **IV**, но видимой активности относительно грамотрицательных бактерий не проявляет. Интересно антибактериальное действие вещества **11**: оно активно против **III** и **IV**, а относительно **II** и вовсе действует почти на уровне антибиотика доксицилина (статистически достоверных различий между ними нет); тем не менее, видимой активности против **I** данное вещество не проявляет. Этот же продукт (**11**), хотя и без подтвержденной статистической достоверности, действует на уровне ЦТМА, даже несколько превышая его по количественному эффекту. В отличие от грамотрицательной кишечной палочки, среди двух грамположительных бактерий, **11** не достиг эффекта, сопоставимого с ампициллином. Производное **10** не проявляет никакого видимого эффекта на все вышеперечисленные бактериальные культуры. В то же время, **12** обладает выраженным действием против **II**, хотя и не проявляет активности относительно **I**, **III** и **IV**. Большинство продуктов работают на уровне антибактериальной активности хлоргексидина, даже несколько превышая его. Такие факты могут свидетельствовать о видоспецифичности дей-

ствия полученных производных в зависимости от варьирования вводимых функциональных групп. Таким образом, синтетический метод МКР может считаться эффективным подходом в создании биологически активных молекул.

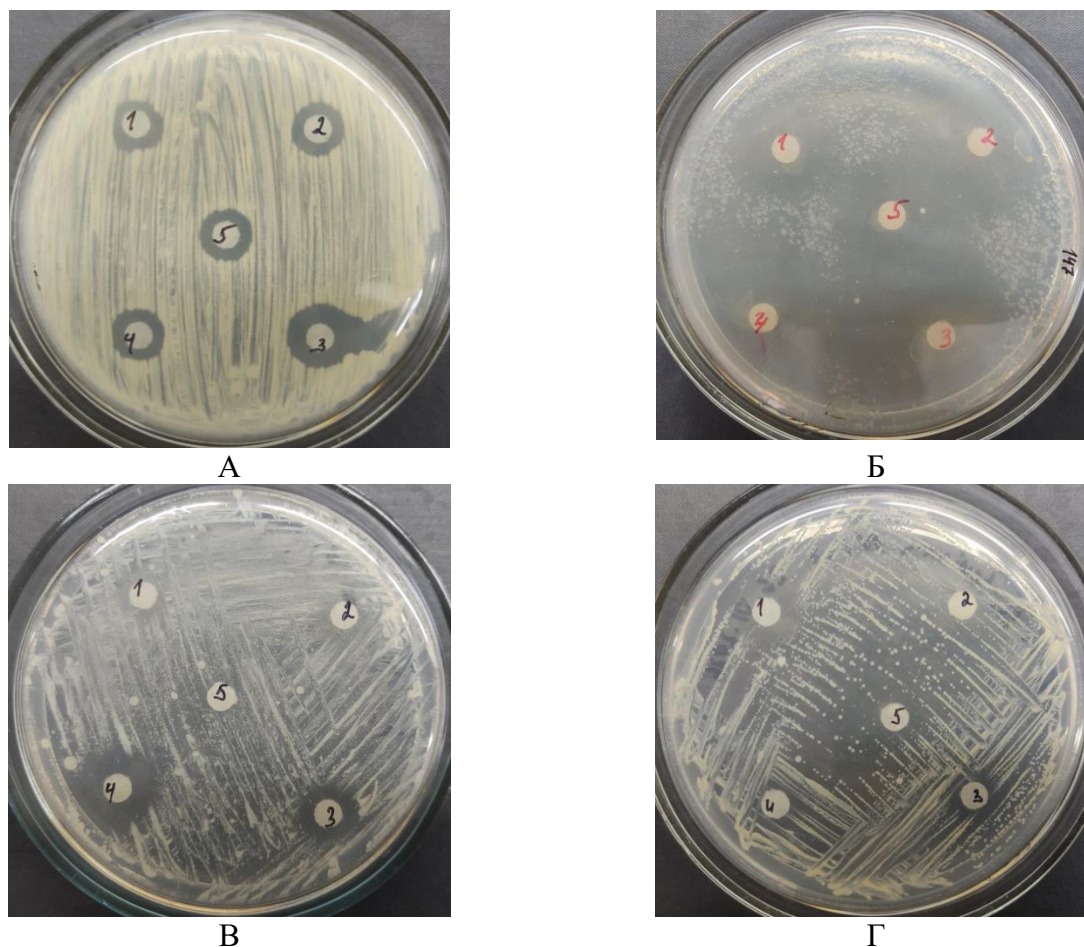


Рис. 4. Антибактериальные свойства ЦТМА относительно **III** (контроль), а также действие продукта **11** относительно **II** (Б), **III** (В) и **IV** (Г)

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта БРФФИ (№ гос. регистрации 20250778) и проекта НИР ГПНИ «Новые полифункциональные 3-гидрокси-2-оксоиндолы и гетероциклические соединения на их основе с высоким потенциалом биологической активности для создания прототипов лекарственных средств» 2026–2030 гг.

Список литературы

1. Batista, J. Jr. Natural chromenes and chromene derivatives as potential anti-trypanosomal agents / J. Batista Jr., D. Ambrosio, A. Lopes, L. Regasini // Bio-logical & Pharmaceutical Bulletin. – 2008. – Vol. 31, № 3. – P. 538–540.
2. Nissi Sharon, K. A brief review on the synthesis of 4H-chromene-embedded heterocycles / K. Nissi Sharon, P. Padmaja, P. Narayana Reddy // ChemistrySelect. – 2024. – vol. 9. – P. 1–18.
3. Aminkhani, A. One-Pot Three-Component Synthesis and Antimicrobial Activity of 2-Amino-4H-chromene Derivatives / Aminkhani A., M. Talati, R. Sharifi et al. // Journal of Heterocyclic Chemistry. – 2019. – DOI: 10.1002/jhet.
4. Lakshmi, Neelakandan V. A Rapid and Efficient Access to 4-Substituted 2-Amino-4H-chromenes Catalyzed by InCl₃ / Neelakandan V. Lakshmi, Selvarangam E. Kiruthika, Paramasivan T. Perumal // Synlett. – 2011. – №10. – P. 1389–1394.