

УДК 615.281.9:577.112.384

## Получение и антимикобактериальные свойства амидов 3-(трифторметилфенил)-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты

Ковганко Н. Н.<sup>1</sup>, Слабко И. Н.<sup>2</sup>, Ковганко В. Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь;

<sup>2</sup> Учреждение образования «Белорусский государственный технологический университет», г. Минск, Республика Беларусь

**Реферат.** Получены и изучены антимикобактериальные свойства амидов 3-(трифторметилфенил)-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты. Показано, что антимикобактериальная активность полученных веществ сравнима с используемыми в настоящее время противотуберкулезными средствами.

**Ключевые слова:** амид, 2-изоксазолин, антимикобактериальная активность, фтор.

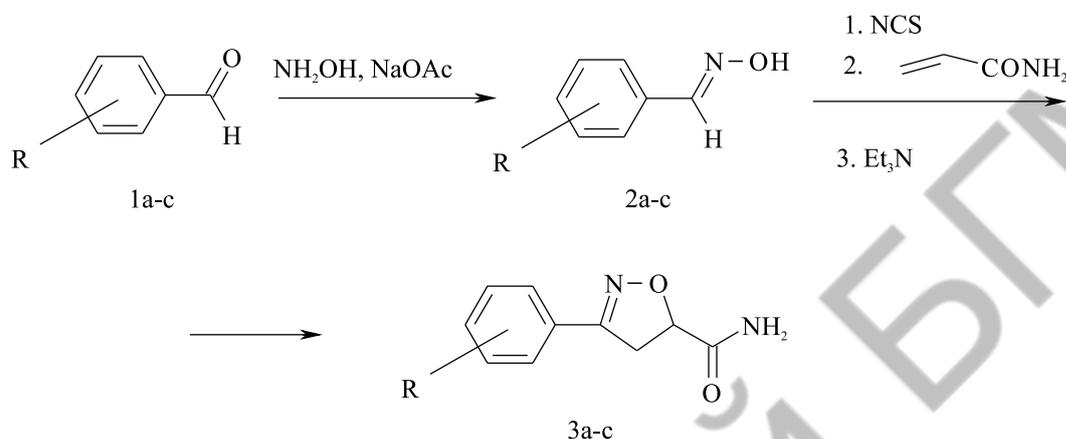
**Введение.** Туберкулез — это заболевание, которое тяжело поддается лечению, особенно в запущенных формах. Благоприятный исход зависит от стадии выявления патологии. Добиться полного выздоровления за несколько месяцев можно при правильном выборе противотуберкулезного препарата. В обратном случае лечение может затянуться на годы, так и не приведя к положительному результату. Подбор медикаментозной схемы для лечения туберкулеза начинается после постановки точного диагноза и основывается на многих факторах. Если заболевание было диагностировано впервые, его начинают лечить веществами первого ряда, включающими синтетические антимикобактериальные препараты и средства природного происхождения. Они обладают наибольшей активностью против палочки Коха; оказывают на организм минимальное токсическое действие; рассчитаны на длительное применение. В настоящее время наиболее действенными в лечении считаются «Изониазид», «Рифампицин», «Стрептомицин», «Пиразинамид», «Этамбутол». Их принято назначать в качестве основных медикаментов, причем для повышения эффективности применяют 2–3 одновременно. Это позволяет уменьшить вероятность привыкания [1, 2]. Однако в связи с высокой резистентностью микобактерий к различным антибиотикам поиск новых антимикобактериальных препаратов является актуальной задачей [1–5]. В последнее время поиски активно проводятся среди различных амидов гетероциклических соединений как аналогов эффективного лекарственного средства пиразинамида [4–6]. Достаточно высокую активность проявляют производные изоксазола и 2-изоксазолина [4–6]. Нами предположено, что перспективные микобактерициды могут быть получены на основе трифторметилсодержащих амидов, содержащих 2-изоксазолиновый цикл в своей структуре [3]. Ранее было показано, что введение атомов фтора может улучшать противотуберкулезные свойства микобактерицидов [3]. Так, полученные ранее моно- и дифторпроизводные амидов 3-арил-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты показали перспективные результаты [7].

**Цель работы** — исследование антимикобактериальных свойств трифторметилзамещенных амидов 3-арил-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты.

**Материалы и методы.** Синтез трифторметилзамещенных амидов 3-арил-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты осуществляли по приведенной ниже схеме. На первой стадии, исходя из коммерчески доступных трифторметилзамещенных альдегидов **1а-с** реакцией с гидрохлоридом гидросиламина в присутствии ацетата натрия, получили соответствующие оксимины **2а-с**. Дальнейшее хлорирование полученных оксиминов **2а-с** с помощью N-хлорсукцинимидом и последующее дегидрохлорирование промежуточно образовавшегося хлорангидрида гидроксамовой кислоты под действием триэтиламина привело к генерированию нитрилоксида. Реакцией 1,3-диполярного циклоприсоединения указанного нитрилоксида к акриламиду получили целевые амиды 3-(трифторметилфенил)-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты **3а-с**.

К раствору 0,284 г оксима 4-(трифторметил)бензальдегида в 10 мл ДМФА добавили порциями 0,220 г N-хлорсукцинимидом. Перед добавлением первой порции раствор продули воздухом, собранным над концентрированной соляной кислотой. После перемешивания реакционной смеси в течение

1 ч внесли 0,160 г акриламида. Затем добавили по каплям раствор 0,42 мл триэтиламина в 3 мл ДМФА и оставили перемешиваться в течение 24 ч. В реакционную смесь внесли 75 мл воды. Продукт реакции экстрагировали метиленхлоридом (2 × 15 мл). Объединенный органический слой промыли водой (20 мл) и сушили сульфатом натрия. Растворитель удалили, остаток перекристаллизовали из 2-пропанола. Получили 0,150 г продукта **3a**. Перекристаллизацией маточного раствора дополнительно получили 0,004 г продукта.



R = 4-CF<sub>3</sub> (a), 2-CF<sub>3</sub> (b), 3-CF<sub>3</sub> (c).

Рисунок — Амид 3-(4-(трифторметил)фенил)-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты **3a**

Общий выход 39,7 %.

Т. пл. 201–203 °С (2-пропанол).

УФ спектр (EtOH, λ<sub>max</sub>, нм): 267.

ИК спектр (KBr, см<sup>-1</sup>): 3402, 3220 (N–H), 1655, 1617 (CO–NH<sub>2</sub>).

Спектр <sup>1</sup>H (DMF-d<sub>7</sub>, Δ, м. д., 500 МГц): 3,72 (1H, дд, J<sub>1</sub> 6,9 Гц, J<sub>2</sub> 17,2 Гц, 4-CH), 3,84 (1H, дд, J<sub>1</sub> 11,7 Гц, J<sub>2</sub> 17,2 Гц, 4-CH), 5,25 (1H, дд, J<sub>1</sub> 6,9 Гц, J<sub>2</sub> 11,7 Гц, 5-CH), 7,52 (1H, уш. с, NH), 7,76 (1H, уш. с, NH), 7,88 (1H, д, J 8,2 Гц, аром протон), 8,00 (1H, д, J 8,2 Гц, аром протон).

**Амид 3-((2-трифторметил)фенил)-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты **3b**.**

К раствору 0,284 г оксима 4-(2-трифторметилфенил)бензальдегида в 15 мл ДМФА добавили порциями 0,2420 г N-хлорсукцинимид. Перед добавлением первой порции раствор продули воздухом, собранным над концентрированной соляной кислотой. После перемешивания реакционной смеси в течение 1 ч внесли 0,160 г акриламида. Затем добавили по каплям раствор 0,42 мл триэтиламина в 3 мл ДМФА и оставили перемешиваться в течение 24 ч. В реакционную смесь внесли 75 мл воды. Продукт реакции экстрагировали метиленхлоридом (2 × 20 мл). Объединенный органический слой промыли водой (2 × 25 мл) и сушили сульфатом натрия. Растворитель удалили, остаток перекристаллизовали из 2-пропанола. Получили 0,139 г продукта **3b**. Перекристаллизацией маточного раствора дополнительно получили 0,018 г продукта. После повторного упаривания маточника дополнительно получили 0,043 г.

Общий выход 51,6 %.

Т.пл. 129–131 °С (2-пропанол).

УФ спектр (EtOH, λ<sub>max</sub>, нм): 217, 232 (плечо).

ИК спектр (KBr, см<sup>-1</sup>): 3393, 3203 (N–H), 1659, 1603 (O = C–NH<sub>2</sub>), 1130 (C–F).

Спектр <sup>1</sup>H (DMF-d<sub>7</sub>, Δ, м. д., 500 МГц): 3,64 (1H, дд, J<sub>1</sub> 6,5 Гц, J<sub>2</sub> 17,4 Гц, 4-CH), 3,78 (1H, дд, J<sub>1</sub> 11,6 Гц, J<sub>2</sub> 17,4 Гц, 4-CH), 5,23 (1H, дд, J<sub>1</sub> 6,5 Гц, J<sub>2</sub> 11,6 Гц, 5-CH), 7,53 (1H, уш. с, NH), 7,69 (1H, уш. с, NH), 7,75 (2H, дд, J<sub>1</sub> 7,9 Гц, J<sub>2</sub> 16,4 Гц, аром. протоны), 7,83 (1H, т, J 7,5 Гц, аром. протон), 7,93 (1H, д, J 7,9 Гц, аром. протон).

**Амид 3-((3-трифторметил)фенил)-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты **3c**.**

К раствору 0,284 г оксима 4-(3-трифторметилфенил)бензальдегида в 15 мл ДМФА добавили порциями 0,2420 г N-хлорсукцинимид. Перед добавлением первой порции раствор продули воздухом, собранным над концентрированной соляной кислотой. После перемешивания реакционной смеси в течение 1 ч внесли 0,160 г акриламида. Затем добавили по каплям раствор 0,42 мл триэтила-

мина в 3 мл ДМФА и оставили перемешиваться в течение 24 ч. В реакционную смесь внесли 75 мл воды. Продукт реакции экстрагировали метиленхлоридом (2 × 20 мл). Объединенный органический слой промыли водой (2 × 25 мл) и сушили сульфатом натрия. Растворитель удалили, остаток перекристаллизовали из 2-пропанола. Получили 0,255 г продукта **3c**.

Выход 65,8 %.

Т.пл. 175–176 °С (2-пропанол).

УФ спектр (EtOH,  $\lambda_{\max}$ , нм): 263.

ИК спектр (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3431, 3154 (N–H), 1701 (C = N), 1676, 1618 (CO–NH<sub>2</sub>).

Спектр <sup>1</sup>H (DMF–d<sub>7</sub>,  $\Delta$ , м.д., 500 МГц): 3,75 (1H, дд, J<sub>1</sub> 6,9 Гц, J<sub>2</sub> 17,2 Гц, 4–CH), 3,87 (1H, дд, J<sub>1</sub> 11,7 Гц, J<sub>2</sub> 17,2 Гц, 4–CH), 5,25 (1H, дд, J<sub>1</sub> 6,9 Гц, J<sub>2</sub> 11,7 Гц, 5–CH), 7,51 (1H, уш. с, NH), 7,71 (1H, уш. с, NH), 7,78 (1H, т, J 7,5 Гц, аром. протон), 7,89 (1H, д, J 7,5 Гц, аром. протон), 8,03 (1H, с, аром. протон), 8,07 (1H, д, J 7,5 Гц, аром. протон).

Исследование антимикобактериальных свойств полученных соединений проведено на штамме *Micobacterium terrae* 15755. Данный штамм является непатогенным и используется в качестве модельного для определения противотуберкулезной активности. Антимикобактериальные свойства полученных соединений оценены на основании минимальной ингибирующей концентрации (МИК, мкг/мл), которые приведены в таблице. В качестве эталонов использованы известные противотуберкулезные препараты «Пиразинамид» и «Изониазид». Для этого 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 Миддлбука 7Н9 с глицерином для получения требуемых концентраций (200, 100, 50, 25, 12,5 и 6,25 мкг/мл). Все образцы выдерживали в термостате при 37 °С в течение трех недель. Для оценки антимикробных свойств новых соединений определяли минимальную ингибирующую концентрацию (МИК, мкг/мл), которая соответствует концентрации анализируемого вещества, при которой роста микобактерий в чашке Петри не наблюдалось.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты определения антимикобактериальных свойств синтезированных соединений приведены в таблице.

Из данных таблицы видно, что активность двух новых синтезированных соединений — амида 3-((2-трифторметил)фенил)-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты **3b** и амида 3-((3-трифторметил)фенил)-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты **3c** оказалась высокой и сравнима с активностью противотуберкулезных препаратов, используемых в настоящее время.

Таблица — Антимикобактериальные свойства синтезированных соединений

Соединение	МИК, мкг/мл
3a	>200
3b	200
3c	200
Пиразинамид	200
Изониазид	200

**Заключение.** В результате проведенных экспериментов синтезированы новые соединения ряда амидов 3-арил-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты и установлено, что некоторые из них обладают антимикобактериальной активностью, которая оказалась сравнимой с используемыми в настоящее время противотуберкулезными средствами.

### Литература

1. Janin, Y. L. Antituberculosis drugs: Ten years of research. / Y. L. Janin // Bioorg. Med. Chem. — 2007. — Vol. 15. — № 7. — P. 2479–2513.
2. Substituted N–Phenylpyrazine–2–carboxamides: Synthesis and Antimycobacterial Evaluation. / M. Dolehal [et al.] // Molecules. — 2009. — Vol. 14, № 10. — P. 4180–4189.
3. Ковганко, Н. Н. Синтез и антимикобактериальные свойства фторарил–2–изоксазолинов. / Н. Н. Ковганко [и др.] // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. — 2013. — № 1. — С. 73–77.
4. Synthesis and evaluation of new fluorinated anti–tubercular compounds. / M. Esfahanizadeh [et al.] // Iran. J. Pharm. Res. — 2014. — Vol. 13, № 1. — P. 115–126.
5. Design, synthesis and anti–mycobacterial evaluation of some new N–phenylpyrazine–2–carboxamides. / J. Zitko [et al.] // Chem. Pap. — 2016. — Vol. 70, № 5. — P. 649–657.

6. Chauhan, P. M. Recent advances in the design and synthesis of heterocycles as anti-tubercular agents. / P. M. Chauhan, N. Sunduru, M. Sharma // *Future Med. Chem.* — 2010. — Vol. 2, № 9. — P. 1469–1500.

7. Ковганко, Н. Н., Слабко И. Н., Ковганко В. Н. Синтез и антимицобактериальные свойства фторзамещенных амидов 3-арил-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты / Н. Н. Ковганко, И. Н. Слабко, В. Н. Ковганко // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : сб. рецензир. науч. работ // М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т ; редкол.: А. В. Сикорский, О. К. Доронина. — Минск : РНМБ, 2017. — Вып. 7. — С. 219–220.

## Synthesis and antimycobacterial properties of 3-(trifluoromethylphenyl)-2-isoxazoline-5-carboxamides

*Kauhanka N. N.<sup>1</sup>, Slabko I. N.<sup>2</sup>, Kauhanka V. N.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Educational Establishment “The Belarusian State Medical University”,  
Minsk, Republic of Belarus;*

*<sup>2</sup>Educational Establishment “The Belarusian State Technological University”,  
Minsk, Republic of Belarus*

Antimycobacterial properties of some 3-(trifluoromethylphenyl)-2-isoxazoline-5-carboxamides were studied. The activity of synthesized compounds is similar to activity of currently used anti-TB drugs (isoniazid and pyrazinamide).

**Keywords:** amide, 2-isoxazoline, antimycobacterial activity, fluorine.

*Поступила 19.09.2019*