

## **Противотуберкулезная активность производных бензамида и бензойной кислоты**

*Сечко О. Г., Слабко И. Н., Царенков В. М.*

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Реферат.** В результате экспериментов, посвященных изучению противотуберкулезной активности десяти соединений, синтезированных в ИБОХ НАН Беларуси — семи производных бензамида и трех производных бензойной кислоты, — установлено, что производное бензами-



да — 3-[4-(2-фторбензол)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид и производное бензойной кислоты — 4-[(2-метил-5-нитрофенил)амино]метил} бензойная кислота в концентрации 200 мкг/мл полностью подавляют рост *Mycobacterium terrae* 15755, причем в такой же концентрации, как и противотуберкулезное лекарственное средство первого ряда рифампицин в условиях эксперимента.

**Ключевые слова:** производные бензамида, производные бензойной кислоты, противотуберкулезная активность, минимальная ингибирующая концентрация.

**Введение.** Бензамид представляет собой амид бензойной кислоты (рисунок 1).

Производные бензамида имеют широкий спектр фармакологических эффектов — антимикробное, анальгезирующее, противосудорожное, противовоспалительное и противоопухолевое действие, оказывают воздействие на сердечно-сосудистую систему и т. д. [1]. Поэтому синтез и изучение фармакологической активности новых производных бензамида является актуальным.

Бензойная кислота — это ароматическая карбоновая кислота (рисунок 2), которая встречается в тканях растений и животных и может синтезироваться микроорганизмами.

Производные бензойной кислоты также имеют ряд фармакологических эффектов — противогрибковый, антибактериальный и т. д. [2, 3]. Кроме того, активно исследуется потенциальная противовирусная активность производных бензойной кислоты с помощью *in silico* подходов в отношении SARS-CoV-2 — возбудителя заболевания COVID-19 [4].

Так, E. Kalinichenko et al. синтезировали производные бензамида и бензойной кислоты в Институте биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси (ИБОХ НАН Беларуси) и исследовали их противоопухолевую активность. Ряд производных продемонстрировали значительную активность в отношении клеток K562. Биологическая оценка показала, что большинство синтезированных производных бензамида и бензойной кислоты проявляют многоцелевой профиль и высокую ингибирующую активность в отношении киназ EGFR, KDR, PDGFRa, HER-4 и InsR. Результаты этого исследования имеют важное потенциальное применение при разработке новых противоопухолевых препаратов [5].

В данной статье представлены результаты исследования противотуберкулезной активности производных бензамида и бензойной кислоты, которые были синтезированы в ИБОХ НАН Беларуси. Борьба с туберкулезом осуществляется на международном уровне и усложнена наличием приобретенной устойчивости микобактерий [6]. Таким образом, с ростом значений показателей заболеваемости, распространенности и абсолютного числа больных с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) микобактерий туберкулеза возрастает потребность в новых соединениях, обладающих противотуберкулезной активностью.

**Цель работы** — исследование противотуберкулезной активности производных бензамида и бензойной кислоты.

**Материалы и методы.** Исследование противотуберкулезной активности производных бензамида и бензойной кислоты проводили на штамме *Mycobacterium terrae* 15755 с использованием метода разведений в плотной питательной среде в чашках Петри. Данный штамм является непатогенным и рекомендован для использования в качестве модельного для определения противотуберкулезной активности [7]. Для оценки противотуберкулезной активности использовали визуальную оценку роста *Mycobacterium terrae* в плотной питательной среде в чашках Петри. Метод серийных разведений основан на создании последовательных разведений изучаемого вещества в питательной среде в порядке геометрической или арифметической прогрессии. В нашем эксперименте концентрация изучаемых соединений в ряду серийных разведений убывала в геометрической прогрессии с коэффициентом 2. Для этого был приготовлен исходный раствор изучаемого соединения в диметилсульфоксиде (ДМСО) с концентрацией 2000 мкг/мл, который затем добавляли в питательную среду Миддлбрука 7Н9 с глицерином (Middlebrook 7H9 Broth with Glycerol) для получения требуемых концентраций (200 и

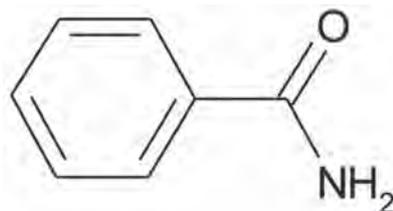


Рисунок 1 — Структурная формула бензамида

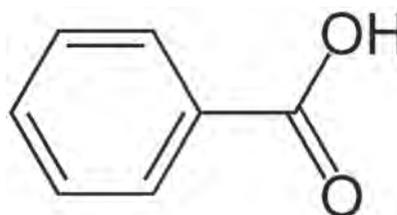


Рисунок 2 — Структурная формула бензойной кислоты

100 мкг/мл). Для получения концентрации 150 мкг/мл готовили исходный раствор изучаемого соединения в ДМСО с концентрацией 1500 мкг/мл. Затем культуру микобактерий высевали во все анализируемые растворы. Кроме того, выполнялись два контрольных опыта. Первый контрольный опыт выполнялся для контроля влияния растворителя — для этого использовали ДМСО в таком же количестве, как и в образцах с максимальной концентрацией анализируемого вещества (200 мкг/мл), который добавляли в питательную среду Миддлбрука 7Н9 с глицерином, затем культуру микобактерий высевали в анализируемый раствор. Второй контрольный опыт выполнялся для контроля роста культуры, поэтому не содержал никаких добавок. Все образцы выдерживали в термостате при 37 °С в течение трех недель.

Для оценки противотуберкулезной активности определяли минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) (мкг/мл), которая соответствует концентрации анализируемого вещества, при которой роста микобактерий в чашке Петри не наблюдалось. В параллельных экспериментах в качестве эталонов использовали рифампицин, изониазид и этамбутол, которые обладают микобактерицидным действием и используются для лечения туберкулеза [8].

**Результаты и их обсуждение.** Результаты определения антимикукобактериальных свойств десяти соединений, производных бензамида и бензойной кислоты представлены в таблице 1, где показан наблюдаемый рост *Mycobacterium terrae* 15755 при различных концентрациях изучаемых соединений — 100 мкг/мл и 200 мкг/мл, рост *Mycobacterium terrae* 15755 в присутствии рифампицина, изониазида, этамбутола и рост *Mycobacterium terrae* 15755 в присутствии только растворителя (ДМСО) — без добавления исследуемых соединений.

Таблица 1 — Антимикукобактериальные свойства производных бензамида и бензойной кислоты

№	Химическое название соединения	100,0 мкг/мл	200,0 мкг/мл
1	4-{{(2-метил-5-нитрофенил)амино}метил}-N-(4-{{2-(метилкарбамоил)пиридин-4-ил}окси}фенил) бензоат	++++	+++
2	4-{{(4-{{2-(метилкарбамоил)пиридин-4-ил}окси}фенил)амино}метил}-N-[3-(трифлюорометил)фенил]бензамид	++++	++
3	Диэтил (4-(((4-((2-(метилкарбамоил)пиридин-4-ил)окси)фенил)амино)метил)бензоил) глутамат	++++	+++
4	N-(3-(4-метил-1Н-имидазол-1-ил)-5-(трифлюорометил)фенил)-4-(((4-(пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)амино)метил)бензамид	++++	++++
5	Диэтил (4-(((4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)метил)бензоил)глутамат	++++	+++
6	4-{{[4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил]амино}метил}-N-[3-(трифлюорометил)фенил]бензамид	++++	++++
7	4-((4-(2-флюоробензоил)пиперазин-1-ил)метил)бензойная кислота	++++	++
8	3-[4-(2-фторбензол)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамид	++++	—
9	4-{{(2-метил-5-нитрофенил)амино}метил} бензойная кислота	++++	—
10	4-гидрокситилбензойная кислота	++++	++++
11	Рифампицин	+	—
12	Изониазид	—	—
13	Этамбутол	—	—
14	Контроль растворителя (ДМСО)	—	++++
15	Контроль культуры ( <i>M. terrae</i> 15755)	++++	

*Примечание.* «++++» — обильный рост, «+++» — сильный рост, «++» — слабый рост, «+» — незначительный рост, «—» — отсутствие роста.

Все десять исследуемых соединений в концентрации 100 мкг/мл не подавляют рост микобактерий.

Соединение 1 — производное бензамида — 4-{{(2-метил-5-нитрофенил)амино}метил}-N-(4-{{2-(метилкарбамоил)пиридин-4-ил}окси}фенил)бензоат в концентрации 200 мкг/мл подавляет рост микобактерий с обильного роста до сильного роста.



Соединение 2 — производное бензамида — 4-{{(4-{{2-(метилкарбамоил)пиридин-4-ил}окси}фенил)амино}метил}-N-[3-(трифлуорометил)фенил]бензамид в концентрации 200 мкг/мл подавляет рост микобактерий с обильного роста до слабого роста.

Соединение 3 — производное бензамида — диэтил (4-(((4-((2-(метилкарбамоил)пиридин-4-ил)окси)фенил)амино)метил)бензоил)глутамат в концентрации 200 мкг/мл подавляет рост микобактерий с обильного роста до сильного роста.

Соединение 4 — производное бензамида — N-(3-(4-метил-1H-имидазол-1-ил)-5-( трифлуорометил)фенил)-4-(((4-(пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)амино)метил)бензамид в концентрации 200 мкг/мл не подавляет рост микобактерий.

Соединение 5 — производное бензамида — диэтил (4-(((4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)амино)метил)бензоил)глутамат в концентрации 200 мкг/мл подавляет рост микобактерий с обильного роста до сильного роста.

Соединение 6 — производное бензамида — 4-{{[4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил]амино}метил}-N-[3-(трифлуорометил)фенил]бензамид в концентрации 200 мкг/мл не подавляет рост микобактерий.

Соединение 7 — производное бензойной кислоты — 4-((4-(2-флюоробензоил)пиперазин-1-ил)метил)бензойная кислота в концентрации 200 мкг/мл подавляет рост микобактерий с обильного роста до слабого роста.

Соединение 8 — производное бензамида — 3-[4-(2-фторбензол)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамид в концентрации 200 мкг/мл полностью подавляет рост микобактерий (рисунок 3).

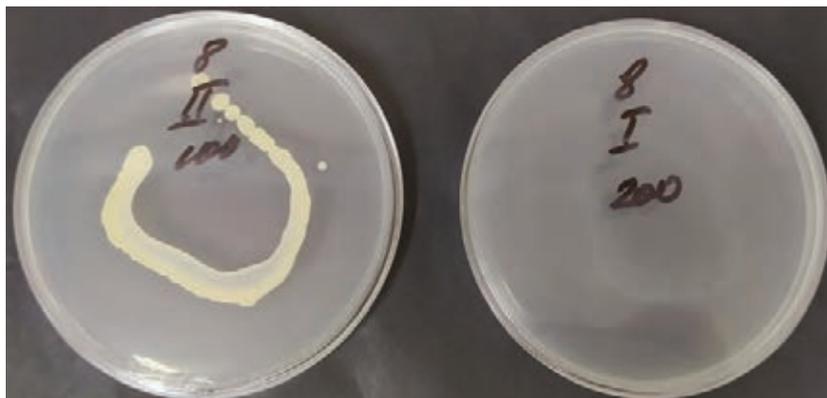


Рисунок 3 — Рост микобактерий в присутствии соединения № 8 в концентрации 100 мкг/мл (слева) и 200 мкг/мл (справа)

Соединение 9 — производное бензойной кислоты — 4-{{(2-метил-5-нитрофенил)амино}метил}бензойная кислота в концентрации 200 мкг/мл полностью подавляет рост микобактерий (рисунок 4).



Рисунок 4 — Рост микобактерий в присутствии соединения № 9 в концентрации 100 мкг/мл (справа) и 200 мкг/мл (слева)

Соединение 10 — производное бензойной кислоты — 4-гидрокситилбензойная кислота в концентрации 200 мкг/мл не подавляет рост микобактерий.

Рифампицин, который используется в настоящее время для лечения туберкулеза и является препаратом первого ряда, в концентрации 200 мкг/мл полностью подавляет рост микобактерий.

В ходе ранее проведенных исследований нами было установлено, что изониазид, который используется в настоящее время для лечения туберкулеза и является препаратом первого ряда, в концентрациях 50 мкг/мл и 100 мкг/мл полностью подавляет рост микобактерий и этамбутол, который используется в настоящее время для лечения туберкулеза и является препаратом первого ряда, в концентрациях 25 мкг/мл и 50 мкг/мл полностью подавляет рост микобактерий [9].

Таким образом среди изученных соединений наибольший интерес для дальнейшего изучения представляют соединения № 8, структурная формула которого представлена на рисунке 5, и соединение № 9, структурная формула которого представлена на рисунке 6. У обоих соединений МИК оказалась 200 мкг/мл — такая же как у рифампицина в условиях эксперимента, поэтому дальнейшие эксперименты были посвящены изучению противотуберкулезной активности этих двух соединений и были выполнены в нескольких повторностях.

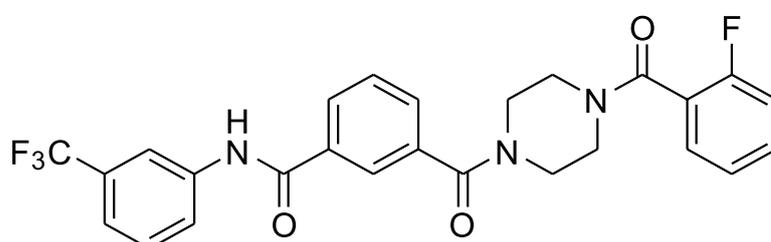


Рисунок 5 — Структурная формула соединения № 8 - 3-[4-(2-фторбензол)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамид

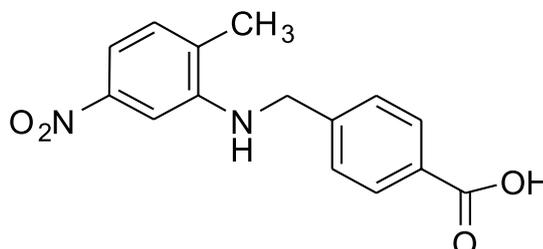


Рисунок 6 — Структурная формула соединения № 9 4-[(2-метил-5-нитрофенил)амино]метил} бензойная кислота

Результаты определения противотуберкулезной активности соединения № 8 и соединения № 9 представлены в таблице 2, где показан наблюдаемый рост *Mycobacterium terrae* 15755 в различных концентрациях изучаемых соединений — 100 мкг/мл, 150 мкг/мл и 200 мкг/мл.

Таблица 2 — Антимикобактериальные свойства соединений № 8 и № 9

Химическое название соединения	100,0 мкг/мл	150,0 мкг/мл	200,0 мкг/мл
3-[4-(2-фторбензол)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамид (соединение № 8)	++++	+++	—
	++	—	—
	++	+++	—
	+	++	—
	+++	—	—
4-[(2-метил-5-нитрофенил)амино]метил} бензойная кислота (соединение № 9)	++++	+++	—
	++	+++	—
	+++	+++	+

Примечание. «++++» — обильный рост, «+++» — сильный рост, «++» — слабый рост, «+» — незначительный рост, «—» — отсутствие роста.

Соединение № 8 в концентрации 200 мкг/мл полностью подавляет рост микобактерий во всех пяти экспериментах.

Соединение № 9 в концентрации 200 мкг/мл полностью подавляет рост микобактерий в двух экспериментах из трех, в одном эксперименте наблюдается незначительный рост микобактерий.

**Заключение.** В результате экспериментов, посвященных изучению противотуберкулезной активности десяти соединений, синтезированных в ИБОХ НАН Беларуси — семи производных бензамида и трех производных бензойной кислоты, установлено, что одно производное бензамида — 3-[4-(2-фторбензол)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид (соединение № 8) и одно производное бензойной кислоты — 4-[(2-метил-5-нитрофенил)амино]метил} бензойная кислота (соединение № 9) в концентрации 200 мкг/мл полностью подавляют рост *Mycobacterium terrae* 15755, причем в такой же концентрации, как и противотуберкулезное лекарственное средство первого ряда рифампицин в условиях эксперимента. Полученные результаты были подтверждены серией экспериментов, выполненных в нескольких повторностях: соединение № 8 во всех пяти экспериментах в концентрации 200 мкг/мл подавляет рост микобактерий, соединение № 9 в двух экспериментах из трех полностью подавляет рост микобактерий, в одном эксперименте наблюдается незначительный рост микобактерий.

Авторы выражают благодарность и глубокую признательность доктору химических наук, члену-корреспонденту Национальной академии наук, заместителю директора по научной и инновационной работе государственного научного учреждения «Институт биоорганической химии НАН Беларуси» Калиниченко Елене Николаевне за предоставленные для исследования соединения.

### Литература

1. Asif, M. Pharmacological potential of benzamide analogues and their uses in medicinal Chemistry / M. Asif // Modern Chemistry Applications. — 2016. — Vol. 4, № 4. — P. 1–10.
2. Benzoic acid derivatives with improved antifungal activity: Design, synthesis, structure–activity relationship (SAR) and CYP53 docking studies / S. Berne [et al.] // Bioorganic & medicinal chemistry. — 2015. — Vol. 23, № 15. — P. 4264–4276.
3. Synthesis and antimicrobial activity of the hybrid molecules between amoxicillin and derivatives of benzoic acid / Z. Li [et al.] // Drug. Development. Research. — 2021. — Vol. 82, № 2. — P. 198–206.
4. Molecular Docking Study on Several Benzoic Acid Derivatives against SARS-CoV-2 / A. Stefaniu [et al.] // Molecules. — 2020. — Vol. 25, № 24. — P. 5828.
5. Synthesis, Biological Activities and Docking Studies of Novel 4-(Arylaminomethyl) benzamide Derivatives as Potential Tyrosine Kinase Inhibitors / Kalinichenko E. [et al.] // Molecules. — 2019. — Vol. 24, № 19. — P. 3543.
6. World Health Organization. Global tuberculosis report 2020. — Geneva: World Health Organization Report 2020 [Интернет]. — Mode of access: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>. — Date of access: 05.04.2021.
7. Griffiths, P. A. *Mycobacterium terrae*: a potential surrogate for *Mycobacterium tuberculosis* in a standard disinfectant test / P. A. Griffiths, J. R. Babb, A. P. Fraise // J. of Hospital Infection. — 1998. — Vol. 38, № 3. — P. 183–192.
8. Сводное руководство ВОЗ по лечению лекарственно-устойчивого туберкулеза. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ. — 2019. — Лицензия CC BY-NC-SA 3.0 IGO
9. Antimycobacterial properties of 5H-[1,3,4]thiadiazolo[2,3b]quinazolin-5-one derivatives / O. G. Sechko [et al.] // Revista Farmaceutica a Moldovei. — 2020. — № 1–4. — С. 27–29.

## Antituberculosis activity of benzamide derivatives and benzoic acid derivatives

*Sechko O. G., Slabko I. N., Tsarenkov V. M.*

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

As a result of experiments devoted to the study of the anti-tuberculosis activity of ten compounds synthesized at the Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus — seven derivatives of benzamide and three derivatives of benzoic acid, it was found that the benzamide derivative — 3-[4-



(2-fluorobenzoyl)piperazin-1-carbonyl]-N-[3- (trifluoromethyl)-phenyl]benzamide and a benzoic acid derivative — 4-{[(2-methyl-5-nitrophenyl)amino]methyl}benzoic acid in the concentration 200 µg/ml completely inhibit the growth of *Mycobacterium terrae* 15755, accordingly minimum inhibitory concentration is the same as concentration of the first-line anti-tuberculosis drug rifampicin in experimental conditions — 200 µg/ml.

**Keywords:** derivatives of benzamide, derivatives of benzoic acid, anti-tuberculosis activity, minimum inhibitory concentration.

*Поступила 13.07.2021*