

УДК 547.298.1:547.831.9:615.28:616.441:616-002.5

## 3-ФТОРОБЕНЗИЛІДЕНГІДРАЗИДИ ГАЛОГЕНОЗАМІЩЕНИХ 4-ГІДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГІДРОХІНОЛІН-3-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ ТА ЇХ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНІ ВЛАСТИВОСТІ

А.О.Ткач, О.С.Головченко, І.В.Українець, Л.О.Петрушова

Національний фармацевтичний університет,  
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: uiv@kharkov.ua*Ключові слова: бензиліденгідрозиди; галогенування; гідрозиди;  
4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонові кислоти; протитуберкульозна активність***За результатами проведених досліджень встановлено, що галогенування бензольної частини хінолінового ядра в 3-фторобензиліденгідрозиди 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот супроводжується значним посиленням антимікобактеріальної активності, однак водночас призводить також і до суттєвого зростання цитотоксичності.****3-FLUOROBENZYLIDENE HYDRAZIDES OF HALOGEN SUBSTITUTED 4-HYDROXY-2-OXO-1,2-DI-HYDROQUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACIDS AND THEIR ANTITUBERCULOUS PROPERTIES**

A.A.Tkach, O.S.Golovchenko, I.V.Ukrainets, L.A.Petrushova

**According to the results of the investigations performed it has been found that halogenation of the benzene part of the quinoline nucleus in 3-fluorobenzylidene hydrazides of 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids is accompanied by a significant increase of the antimycobacterial activity, but it also simultaneously leads to the significant growth of cytotoxicity.****3-ФТОРБЕНЗИЛИДЕНГИДРАЗИДЫ ГАЛОГЕНЗАМЕЩЕННЫХ 4-ГИДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГИДРОХИНОЛИН-3-КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И ИХ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫЕ СВОЙСТВА**

А.А.Ткач, О.С.Головченко, И.В.Украинец, Л.А.Петрушова

**По результатам проведенных исследований установлено, что галогенирование бензольной части хинолинового ядра в 3-фторбензилиденгидразидах 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновых кислот сопровождается значительным усилением антимикобактериальной активности, однако одновременно приводит также и к существенному росту цитотоксичности.**

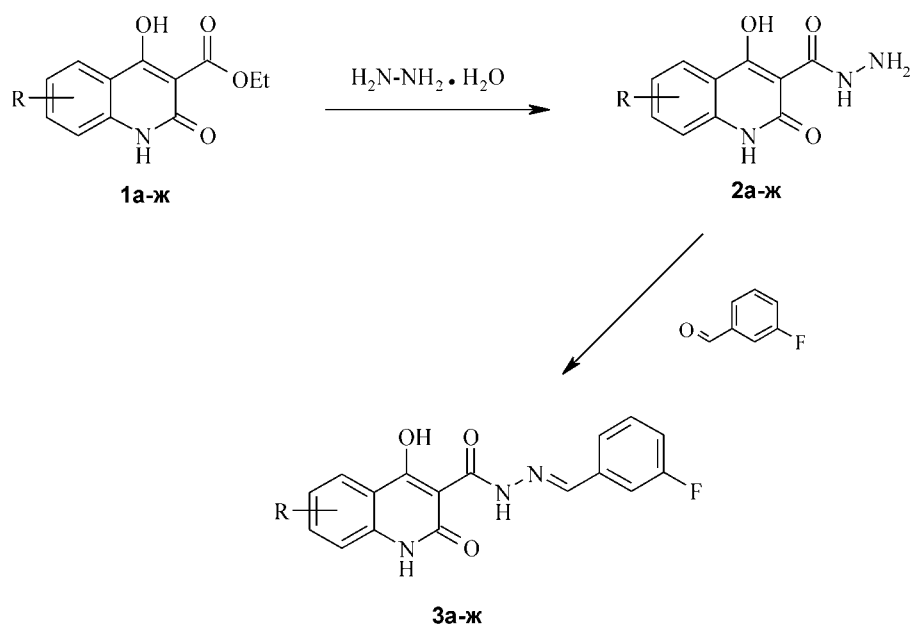
Численні структурно-біологічні дослідження, проведені науковцями за декілька останніх десятиліть, що минули з моменту появи на ринку перших фторохінолонових антибіотиків, однозначно довели позитивний вплив на силу антимікробної дії атома азоту в шостому положенні 4-оксо-1,4-дигідрохінолінового ядра [1]. І тільки недавно було доведено, що висока активність притаманна не лише фторопохідним — інші галогени також здатні проявляти аналогічний посилюючий ефект [2]. Схожа картина спостерігалась нами і при вивченні протитуберкульозних властивостей гетериламідів, близьких за будовою 1R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот [3]. Як виявилось, галогенування бензольної частини хінолонового фрагменту і в даному випадку приводить до зростання активності у 2-4 рази порівняно з незаміщеними аналогами, причому незалежно від того, який саме галоген знаходиться у кільці.

Враховуючи наведені обставини, є доцільною хімічна модифікація описаних раніше фторозаміщених бензиліденгідрозидів 1R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот, які в до-

слідках *in vitro* продемонстрували високу антимікобактеріальну дію [4]. Коло можливих об'єктів дослідження при цьому було свідомо обмежене лише мета-фтор-ізомерами як найбільш активними.

Синтез цільових бензиліденгідрозидів 3a-ж здійснено за двостадійною лінійною схемою, яка передбачає попереднє виділення проміжних гідрозидів 2a-ж, одержаних гідрозидом вихідних етилових ефірів галогензаміщених 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот 1a-ж. Висока реакційна здатність етилових ефірів 1a-ж зумовлює практично кількісні виходи гідрозидів 2a-ж, які, в свою чергу, з характерною для реакцій такого типу легкістю реагують з мета-фторобензальдегідом, утворюючи відповідні бензиліденгідрозиди 3a-ж.

Всі одержані речовини (табл. 1) являють собою безбарвні кристалічні речовини з чіткими температурами плавлення, практично нерозчинні у воді, малорозчинні в спирті, при кімнатній температурі помірно розчинні в ДМФА та ДМСО. Перебіг реакцій у представленому на схемі 1 напрямку легко контролюється спектрами ЯМР <sup>1</sup>H (табл. 2). Разом з тим визначити природу галогену в хіно-



1-3: а R = 6-F; б R = 6,7-F<sub>2</sub>; в R = 6-Cl; г R = 7-Cl; д R = 6-Br; е R = 6,8-Br<sub>2</sub>; ж R = 6-I

Схема 1

лоновому кільці спектроскопія ЯМР <sup>1</sup>H, на жаль, не в змозі. Тому для доведення будови кінцевих бензиліденгідрозидів 3а-ж нами додатково використана хроматомас-спектрометрія (табл. 3), яка дозволяє окрім хроматографічної чистоти досліджуваних сполук підтвердити також і присутність в їх молекулах конкретно того чи іншого галогену.

У мас-спектрах усіх без виключення бензиліденгідрозидів 3а-ж спостерігаються піки молекулярних іонів, хоча їх інтенсивність і не перевищує

10%. Мультиплетність цих піків та співвідношення інтенсивностей окремих сигналів у них повністю відповідають ізотопному складу і є типовими для кожного галогену та кількості його атомів у молекулі [6]. Цікаво, що викликана електронним ударом первинна фрагментація молекулярних іонів бензиліденгідрозидів 3а-ж переважно відбувається не за зв'язком N—N як слід того було б чекати, тому що у похідних гідрозину цей зв'язок зазвичай є найслабшим [7], а за гідрозидним зв'яз-

Таблица 1

Характеристики гідрозидів 2а-ж та бензиліденгідрозидів 3а-ж

Сполука	Емпірична формула	Т.пл., °С*	Знайдено, %			Вирахувано, %			Вихід, %
			С	Н	Н	С	Н	Н	
2а	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	~200	50,52	3,51	17,63	50,64	3,40	17,72	96
2б	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	~200	47,16	2,88	16,56	47,07	2,76	16,47	95
2в	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	~200	47,43	3,12	16,48	47,35	3,18	16,57	97
2г	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	~200	47,40	3,09	16,50	47,35	3,18	16,57	99
2д	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> BrN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	~200	40,19	2,82	14,19	40,29	2,71	14,10	96
2е	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	~200	31,77	1,80	11,07	31,86	1,86	11,15	99
2ж	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> IN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	~200	34,85	2,39	12,25	34,81	2,34	12,18	97
3а	C <sub>17</sub> H <sub>11</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	338-340	59,59	3,30	12,14	59,48	3,23	12,24	90
3б	C <sub>17</sub> H <sub>10</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	367-369	56,63	2,67	11,55	56,52	2,79	11,63	88
3в	C <sub>17</sub> H <sub>11</sub> ClFN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	345-347	56,67	3,01	11,60	56,76	3,08	11,68	91
3г	C <sub>17</sub> H <sub>11</sub> ClFN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	336-338	56,65	3,00	11,58	56,76	3,08	11,68	94
3д	C <sub>17</sub> H <sub>11</sub> BrFN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	321-323	50,58	2,67	10,49	50,52	2,74	10,40	92
3е	C <sub>17</sub> H <sub>10</sub> Br <sub>2</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	307-309	42,34	2,15	8,62	42,27	2,09	8,70	96
3ж	C <sub>17</sub> H <sub>11</sub> FIN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	310-312	45,20	2,38	9,38	45,25	2,46	9,31	90

\* Всі гідрозиди 2а-ж при температурі близько 300 °С не плавлячись втрачають молекулу гідрозину і перетворюються на відповідні симетричні N,N'-ди-(4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохіноліноіл)-гідрозини, що характерно для таких сполук [5].

Таблиця 2

Спектри ЯМР  $^1\text{H}$  гідразидів 2а-ж та бензиліденгідразидів 3а-ж

Сполука	Хімічні зсуви, $\delta$ , м. д.					
	4-OH (1H, c)	1-NH (1H, c)	CONHN (1H, c)	N=CH (1H, c)	H аром. (м)	NH <sub>2</sub> (2H, c)
2а	17,15	13,20	11,08	-	7,81-7,24 (3H)	4,96
2б	17,08	13,27	11,01	-	7,92-7,22 (2H)	5,15
2в	16,92	13,13	11,34	-	7,98-7,21 (3H)	5,07
2г	17,15	13,20	11,08	-	7,86-7,18 (3H)	5,12
2д	16,90	13,04	11,17	-	8,01-7,23 (3H)	5,16
2е	17,03	13,19	11,25	-	8,16 (1H, c); 8,12 (1H, c)	5,05
2ж	16,94	13,28	11,21	-	8,17-7,07 (3H)	5,13
3а	16,53	13,36	11,92	8,47	7,83-7,14 (7H)	-
3б	16,82	13,30	11,85	8,50	7,91-7,20 (6H)	-
3в	16,48	13,27	12,10	8,49	7,94-7,19 (7H)	-
3г	16,62	13,33	11,98	8,48	7,85-7,16 (7H)	-
3д	16,60	13,28	12,08	8,48	8,10-7,18 (7H)	-
3е	16,55	13,07	11,90	8,52	8,15-7,23 (6H)	-
3ж	16,49	13,25	12,01	8,47	8,24-7,12 (7H)	-

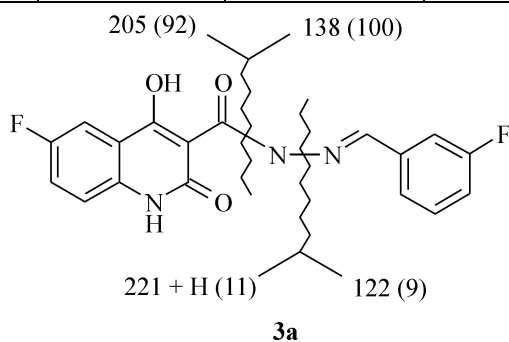


Схема 2

ком CO—NHN. Свідченням цього є присутній в усіх спектрах максимально інтенсивний фторобензиліденгідразинний осколочний пік з  $m/z$  138 та високоінтенсивні піки відповідних ацилкатіонів, тоді як імовірність розриву зв'язку N—N приблизно у 10 разів нижча (схема 2).

Дослідження протитуберкульозних властивостей гідразидів 2а-ж та мета-фторобензиліденгідрazi-

дів 3а-ж галогензаміщених 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот проведені *in vitro* в Національному інституті алергії та інфекційних захворювань США в рамках міжнародної програми ТААСФ (Tuberculosis Antimicrobial Acquisition & Coordinating Facility) радіометричним методом [8, 9] відносно *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 27294. Наведені у табл. 4 результати первинного мікробіологічного скринінгу (перший рівень випробовувань) свідчать про те, що вихідні гідразиди 2а-ж у більшості випадків виявилися малоактивними. Лише гідразид 7-хлорохінолін-3-карбоної кислоти 2-г у початковій концентрації 6,25 мкг/мл несподівано продемонстрував 99%-ве пригнічення здатності мікобактерій туберкульозу до розмноження, тоді як його 6-галогенозаміщені аналоги 2а-в,д-ж показали напрочуд низьку активність. Перехід до мета-фторобензиліденгідразидів 3а-ж, як і очікувалось, супроводжується значним посиленням антимікобактеріальної дії.

Таблиця 3

Мас-спектри бензиліденгідразидів 3а-ж

Сполука	$m/z$ (I <sub>отн.</sub> , %)
3а	343 [M] <sup>+</sup> (7), 222 (11), 205 (92), 179 (10), 138 (100), 122 (9); 111 (34); 94 (28)
3б	361 [M] <sup>+</sup> (9), 240 (23), 223 (97), 197 (16), 138 (100), 140 (15); 111 (42); 94 (30)
3в*	359 [M] <sup>+</sup> (5), 238 (10), 221 (85), 195 (11), 138 (100), 111 (30); 94 (24); 75 (13)
3г*	359 [M] <sup>+</sup> (10), 238 (13), 221 (80), 195 (17), 138 (100), 111 (35); 94 (21); 75 (10)
3д**	403 [M] <sup>+</sup> (4), 282 (9), 265 (53), 239 (12), 138 (100), 111 (37); 94 (32); 75 (24)
3е**	481 [M] <sup>+</sup> (3), 360 (4), 343 (48), 317 (9), 138 (100), 111 (39); 94 (35); 75 (31)
3ж	451 [M] <sup>+</sup> (9), 330 (14), 313 (85), 287 (19), 138 (100), 111 (46); 94 (40); 75 (27)

\* Значення  $m/z$  наведені тільки для ізотопу  $^{35}\text{Cl}$ .\*\* Значення  $m/z$  наведені тільки для ізотопу  $^{79}\text{Br}$ .

Таблиця 4

Біологічні властивості гідразидів 2а-ж та бензиліденгідразидів 3а-ж

Сполука	Протитуберкульозна активність		Цитотоксичність	
	пригнічення росту <i>Mycobacterium tuberculosis</i> в концентрації 6,25 мкг/мл, %	МІК, мкг/мл	ІС, мкг/мл	SI
2а	53	-	-	-
2б	0	-	-	-
2в	57	-	-	-
2г	99	6,25	> 10	> 1,6
2д	32	-	-	-
2е	0	-	-	-
2ж	0	-	-	-
3а	0	-	-	-
3б	98	6,25	0,8	0,128
3в	99	3,13	Не розчинний	Не розчинний
3г	96	6,25	1	0,16
3д	99	1,56	Не розчинний	Не розчинний
3е	0	-	-	-
3ж	99	1,56	0,49	0,31

Однак і в цій групі сполук не обійшлося без несподіванок — 6-фторозаміщений продукт 3а, всупереч сподіванням, виявився взагалі нездатним хоча б у якійсь мірі впливати на ріст тест-штаму.

Другий рівень випробовувань — визначення дійсної мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) згідно з прийнятими в ТААСФ критеріями проводиться тільки для речовин, які в концентрації 6,25 мкг/мл затримують ріст мікобактерій туберкульозу не менше, ніж на 90%. На цьому ж рівні визначається ще один важливий показник відібраних сполук — цитотоксичність (ІС<sub>50</sub>). Випробовування проводяться при концентраціях 10 х МІК по відношенню до *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Для зручності результати наводяться у вигляді індексу селективності (SI), який являє собою відношення цитотоксичності до мінімальної інгібуючої концентрації. Задовільними зазвичай вважаються речовини, індекс селективності яких складає не менше 10. Незважаючи на те, що цитотоксичність деяких зразків (наприклад, мета-фторобензиліденгідразидів 3в,д) з причини їх недостатньої розчинності у водному ДМСО визначити за стандартною методикою так і не вдалося, в цілому можна констатувати, що досліджувана група сполук даний тест не пройшла (табл. 4). Тобто переобтяження хінолонової структури атомами галогену призводить до занадто високого зростання цитотоксичності.

#### Експериментальна частина

Спектри ЯМР <sup>1</sup>H усіх синтезованих речовин зареєстровані на приладі Varian Mercury-VX-200 (робоча частота складає 200 МГц). В усіх випадках

розчинник ДМСО-D<sub>6</sub>, внутрішній стандарт — ТМС. Хроматомас-спектри бензиліденгідразидів 2а-ж записані на приладі Hewlett Packard 5890/5972 в режимі повного сканування в діапазоні 35-700 *m/z*, іонізація електронним ударом 70 eV; хроматографічна колонка Hewlett Packard-5MS: довжина 25 м, внутрішній діаметр 0,2 мм, нерухома фаза — плівка полісилоксану (5% дифенілполісилоксан, 95% диметилполісилоксан) товщиною 0,33 мікрон, газ-носій — гелій. Етилові ефіри галогенозаміщених 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (1а-ж) синтезовані за розробленою раніше методикою [3]. У роботі використані комерційні галогенозаміщені антранілові кислоти фірми "Lancaster" та мета-фторобензальдегід фірми "Fluka".

**Гідразиди галогенозаміщених 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (2а-ж). Загальна методика одержання.** До розчину 0,01 Моль етилового ефіру відповідної галогенозаміщеної 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти (1а-ж) в 20 мл етилового спирту додають 0,011 Моль (у перерахунку на фактичний вміст) гідразин-гідрату. Через 2 год реакційну масу розбавляють холодною водою. Осад гідразиду 2, який при цьому виділяється, відфільтровують, промивають холодною водою, сушать.

**3-Фторобензиліденгідразиди галогенозаміщених 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (3а-ж). Загальна методика одержання.** До розчину 0,01 Моль гідразиду 2а-ж в 15 мл суміші 1:1 ДМФА та етилового спирту додають 1,2 мл (0,011 Моль) мета-фторобензальдегіду і кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Після

ля цього реакційну масу охолоджують до кімнатної температури і поміщають у морозильну шафу (температура близько 0°C) на декілька годин. Кристалічний осад фторобензиліденгідрозиду 3-ж відфільтровують, промивають охолодженим спиртом, потім водою і сушать.

#### Висновки

1. Для визначення структурно-біологічних закономірностей здійснено синтез серії 3-фторобен-

зиліденгідрозидів галогенозамішених 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот, будова яких підтверджена елементним аналізом, ЯМР <sup>1</sup>H та хроматомас-спектрами.

2. На підставі проведених мікробіологічних досліджень зроблено висновок про недоцільність галогенування бензольної частини хінолінового ядра, оскільки така модифікація значно посилює не тільки протитуберкульозну активність, а й цитотоксичність.

#### Література

1. Мокрушина Г.А., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н. // *Хим.-фарм. журн.* — 1995. — Т. 29, №9. — С. 5-19.
2. Li X.H., Tian Z.M., Miao H. et al. // *Yao Xue Xue Bao.* — 1997. — Vol. 32, №11. — P. 844-851.
3. Ukrainets I.V., Sidorenko L.V., Petrushova L.A., Gorokhova O.V. // *Chem. Heterocycl. Comp.* — 2006. — Vol. 42, №1. — P. 64-69.
4. Українець І.В., Прокопенко О.С., Сидоренко Л.В., Горохова О.В. // *Вісник фармації.* — 2004. — №3(39) — С. 3-8.
5. Українець І.В., Ткач А.А., Моспанова Е.В., Свечникова Е.Н. // *ХГС.* — 2007. — №8. — С. 1196-1203.
6. Терентьев П.Б., Станкявичус А.П. *Масс-спектрометрия биологически активных азотистых оснований.* — Вильнюс: Моклас, 1987. — С. 239-255.
7. Иоффе Б.В., Кузнецов М.А., Потехин А.А. *Химия органических производных гидразина.* —Л.: Химия, 1979. — С. 55.
8. Siddiqui S.H. // *Radiometric (BACTEC) tests for slowly growing mycobacteria.* In: *Clinical Microbiology Procedures Handbook / Ed. H.D.Isenberg.* — Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1992. — Vol. 1. — P. 5.14.2-5.14.25.
9. Inderleid C.B., Nash K.A. // *Antimycobacterial agents: in vitro susceptibility testing, spectra of activity, mechanisms of action and resistance, and assays for activity in biological fluids.* In: *Antibiotics in Laboratory Medicine / 4-th ed.* — Ed. Lorian V. — Baltimore: Williams and Wilkins, 1996. — P. 127-175.

Надійшла до редакції 12.10.2007 р.

---

Автори щиро вдячні Національному інституту алергії та інфекційних захворювань США за вивчення протитуберкульозних властивостей синтезованих нами речовин (контракт №01-AI-45246).