

УДК 54.057:547.298.61:547.831.9:616-002.5

СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНАЯ АКТИВНОСТЬ 3-ХЛОР-(БРОМ)-БЕНЗИЛИДЕНГИДРАЗИДОВ 1-R-2-ОКСО-4-ГИДРОКСИХИНОЛИН-3-КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

И.В.Украинец, Л.В.Сидоренко, О.С.Прокопенко, В.Б.Рыбаков*, В.В.Чернышев*

Национальный фармацевтический университет,
61002, г. Харьков, ул. Пушкинская 53. E-mail: uiv@kharkov.ua

* Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова

Ключевые слова: 2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновая кислота; галоидзамещенный бензилиденгидразид; рентгеноструктурный анализ; противотуберкулезная активность

С целью установления закономерностей связи “структура – противотуберкулезная активность” осуществлен синтез мета-хлор-(бром)-бензилиденгидразидов 1-R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот. Для подтверждения химического строения полученных веществ использованы спектроскопия ЯМР ^1H и рентгеноструктурный анализ. Проведен сравнительный анализ антимикобактериальных свойств синтезированных соединений и их фторзамещенных аналогов.

SYNTHESIS, STRUCTURE AND ANTITUBERCULOSIS ACTIVITY OF 1-R-2-OXO-4-HYDROXYQUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACIDS 3-CHLORO-(BROMO)-BENZYLIDENE-HYDRAZIDES

I.V.Ukrainets, L.V.Sidorenko, O.S.Prokopenko, V.B.Rybakov, V.V.Chernyshev

The synthesis of 1-R-2-oxo-4-hydroxyquinoline-3-carboxylic acids metha-chloro-(bromo)-benzylidene-hydrazides has been performed with the purpose of determining of the peculiarities of “structure – antituberculosis activity” relationship. To confirm the chemical structure of the substances obtained NMR ^1H spectroscopy and X-ray diffraction analysis have been used. A comparative analysis of antimycobacterial properties of the compounds synthesized and their fluoro-substituted analogs has been carried out.

СИНТЕЗ, БУДОВА ТА ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНА АКТИВНІСТЬ 3-ХЛОР-(БРОМ)-БЕНЗИЛІДЕН-ГІДРАЗІДІВ 1-R-2-ОКСО-4-ГІДРОКСИХІНОЛІН-3-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ

І.В.Українець, Л.В.Сидоренко, О.С.Прокопенко, В.Б.Рибаков, В.В.Чернишов

З метою встановлення закономірностей зв'язку “структура – протитуберкульозна активність” здійснено синтез мета-хлор(бром)-бензиліденгідразидів 1-R-2-оксо-4-гідроксихінолін-3-карбонових кислот. Для підтвердження хімічної будови одержаних речовин використані спектроскопія ЯМР ^1H та рентгеноструктурний аналіз. Проведено порівняльний аналіз антимікобактеріальних властивостей синтезованих сполук та їх фторзаміщених аналогів.

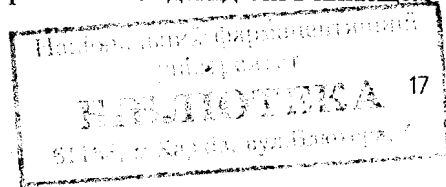
При изучении противотуберкулезных свойств гидразидов 1-R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот нами ранее установлено, что модификация их гидразидных групп бензальдегидом приводит к существенному повышению активности [1]. Позже было показано также положительное влияние на проявление биологических свойств атомов фтора в бензилиденовом остатке, причем наиболее выраженный эффект отмечен у мета-фторзамещенных производных [2].

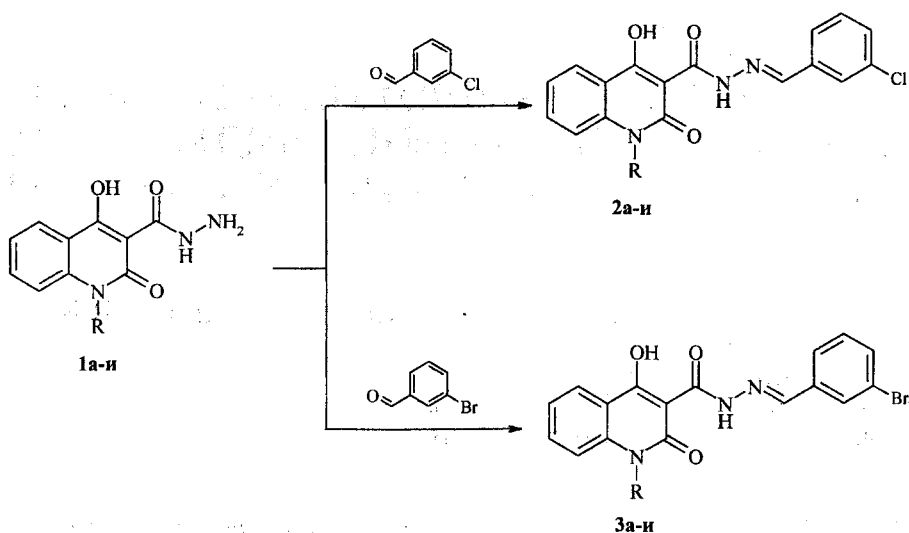
С другой стороны, многочисленные исследования закономерностей взаимосвязи “строение – антимикробная активность”, проводимые в ряду фторхинолоновых антибиотиков, убедительно доказывают, что для получения высокоактивных

соединений наличие атома фтора не всегда обязательно — благоприятное, а иногда и более эффективное воздействие на уровень активности оказывают и другие галогены [3, 4].

Исходя из этого, следующий этап наших исследований по поиску потенциальных противотуберкулезных средств в ряду амидированных производных 1-R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот мы посвятили 3-хлор-(бром)-бензилиденгидразидам (схема).

Синтез объектов исследования осуществлен реакцией гидразидов соответствующих 1-R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот (1) с мета-хлор- или бром-бензальдегидами в кипящем этаноле.





1-3: а R = H; б R = CH₃; в R = C₂H₅; г R = CH₂CH=CH₂; д R = C₃H₇;
 е R = C₄H₉;
 ж R = C₅H₁₁; з R = C₆H₁₃; и R = C₇H₁₅

Схема

Все полученные соединения представляют собой бесцветные кристаллические вещества с четкими температурами плавления, хорошо растворимые в ДМФА и ДМСО, малорастворимые в спирте (особенно первые представители гомологических рядов), практически нерастворимые в

воде. Их химическое строение подтверждено данными элементного анализа (табл. 1), спектрами ЯМР ¹H (табл. 2), а в случае 3-хлор-бензилиденгидразида 1-этил-2-оксо-4-гидроксииндолин-3-карбоновой кислоты (2в) — рентгеноструктурным анализом.

Таблица 1

Характеристики 3-хлор-(бром)-бензилиденгидразидов
 1-*R*-2-оксо-4-гидроксииндолин-3-карбоновых кислот (2, 3)

Соединение	Брутто-формула	Т.пл., °С	Найдено, %			Вычислено, %			Выход, %
			С	Н	N	С	Н	N	
2а	C ₁₇ H ₁₂ ClN ₃ O ₃	313-315	59,61	3,45	12,17	59,75	3,54	12,30	96
3а	C ₁₇ H ₁₂ BrN ₃ O ₃	305-307	52,98	3,24	10,69	52,87	3,13	10,88	95
2б	C ₁₈ H ₁₄ ClN ₃ O ₃	246-248	60,86	3,84	11,90	60,77	3,97	11,81	90
3б	C ₁₈ H ₁₄ BrN ₃ O ₃	236-238	54,11	3,40	10,66	54,02	3,53	10,50	88
2в	C ₁₉ H ₁₆ ClN ₃ O ₃	173-175	61,80	4,34	11,27	61,71	4,36	11,36	92
3в	C ₁₉ H ₁₆ BrN ₃ O ₃	187-189	55,15	3,74	10,22	55,09	3,89	10,14	90
2г	C ₂₀ H ₁₆ ClN ₃ O ₃	166-168	62,97	4,30	11,08	62,91	4,22	11,01	85
3г	C ₂₀ H ₁₆ BrN ₃ O ₃	194-196	56,44	3,87	9,77	56,35	3,78	9,86	87
2д	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₃ O ₃	173-175	62,63	4,85	10,88	62,58	4,73	10,95	87
3д	C ₂₀ H ₁₈ BrN ₃ O ₃	189-191	56,16	4,33	9,95	56,09	4,24	9,81	83
2е	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₃	142-144	63,31	5,00	10,66	63,40	5,07	10,56	86
3е	C ₂₁ H ₂₀ BrN ₃ O ₃	147-149	57,14	4,65	9,46	57,03	4,56	9,50	80
2ж	C ₂₂ H ₂₂ ClN ₃ O ₃	170-172	64,07	5,30	10,33	64,15	5,38	10,20	81
3ж	C ₂₂ H ₂₂ BrN ₃ O ₃	195-197	57,78	4,77	9,35	57,90	4,86	9,21	85
2з	C ₂₃ H ₂₄ ClN ₃ O ₃	133-135	64,97	5,79	9,75	64,86	5,68	9,87	83
3з	C ₂₃ H ₂₄ BrN ₃ O ₃	164-166	58,66	5,08	8,87	58,73	5,14	8,93	86
2и	C ₂₄ H ₂₆ ClN ₃ O ₃	123-125	65,50	5,90	9,60	65,52	5,96	9,55	84
3и	C ₂₄ H ₂₆ BrN ₃ O ₃	130-132	59,63	5,55	8,78	59,51	5,41	8,67	88

Таблица 2

Спектры ЯМР ^1H синтезированных соединений, δ , м.д.*

Соединение	OH (1H, с)	NHN (1H, с)	CH=N (1H, с)	Наром. бензилиденового остатка				R
				2'-H (1H, с)	4'-H (1H, д)	6'-H (1H, д)	5'-H (1H, т)	
2а	16,38	13,37	8,33	7,81	7,72	7,35, м		11,82 (1H, с, NH)
3а	16,38	13,38	8,31	7,95	7,76	7,38	7,32	11,86 (1H, с, NH)
2б	16,64	13,29	8,33	7,81	7,73	7,38, м		3,70 (3H, с, Me)
3б	16,65	13,30	8,33	7,96	7,77	7,39	7,31	3,71 (3H, с, Me)
2в	16,61	13,34	8,31	7,81	7,71	7,38	7,35	4,35 (2H, к, NCH ₂); 1,35 (3H, т, Me)
3в	16,61	13,34	8,31	7,96	7,76	7,47	7,32	4,34 (2H, к, NCH ₂); 1,35 (3H, т, Me)
2г	16,75	13,26	8,30	7,81	7,72	7,36, м		5,95 (1H, м, CH=); 5,20 (2H, м, =CH ₂); 4,94 (2H, д, NCH ₂)
3г	16,73	13,27	8,33	7,96	7,76	7,41	7,33	5,94 (1H, м, CH=); 5,18 (2H, м, =CH ₂); 4,94 (2H, д, NCH ₂)
2д	16,64	13,35	8,33	7,81	7,72	7,40	7,37	4,24 (2H, т, NCH ₂); 1,76 (2H, м, NCH ₂ CH ₂); 1,08 (3H, т, Me)
3д	16,65	13,34	8,30	7,95	7,75	7,44	7,31	4,23 (2H, т, NCH ₂); 1,76 (2H, м, NCH ₂ CH ₂); 1,07 (3H, т, Me)
2е	16,63	13,36	8,32	7,82	7,72	7,40	7,37	4,27 (2H, т, NCH ₂); 1,71 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂); 1,51 (2H, м, CH ₂ Me); 1,05 (3H, т, Me)
3е	16,64	13,36	8,31	7,96	7,77	7,42	7,32	4,27 (2H, т, NCH ₂); 1,72 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂); 1,51 (2H, м, CH ₂ Me); 1,05 (3H, т, Me)
2ж	16,62	13,35	8,31	7,81	7,71	7,38, м		4,24 (2H, т, NCH ₂); 1,72 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂); 1,46 (4H, м, (CH ₂) ₂ Me); 0,97 (3H, т, Me)
3ж	16,64	13,36	8,31	7,95	7,76	7,43	7,32	4,25 (2H, т, NCH ₂); 1,71 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂); 1,45 (4H, м, (CH ₂) ₂ Me); 0,97 (3H, т, Me)
2з	16,62	13,35	8,33	7,81	7,72	7,38, м		4,25 (2H, т, NCH ₂); 1,71 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂); 1,47 (2H, м, CH ₂ (CH ₂) ₂ Me); 1,39 (4H, м, (CH ₂) ₂ Me); 0,94 (3H, т, Me)
3з	16,63	13,34	8,29	7,95	7,75	7,44	7,33	4,24 (2H, т, NCH ₂); 1,70 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂); 1,47 (2H, м, CH ₂ (CH ₂) ₂ Me); 1,39 (4H, м, (CH ₂) ₂ Me); 0,94 (3H, т, Me)
2и	16,61	13,35	8,31	7,81	7,71	7,38, м		4,24 (2H, т, NCH ₂); 1,71 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂); 1,45 (2H, м, CH ₂ (CH ₂) ₃ Me); 1,35 (6H, м, (CH ₂) ₃ Me); 0,92 (3H, т, Me)
3и	16,61	13,35	8,29	7,95	7,75	7,42	7,32	4,24 (2H, т, NCH ₂); 1,71 (2H, кв, NCH ₂ CH ₂); 1,43 (2H, м, CH ₂ (CH ₂) ₃ Me); 1,33 (6H, м, (CH ₂) ₃ Me); 0,91 (3H, т, Me)

* Сигналы ароматических протонов хинолонового фрагмента имеют вид: 5-H - дублет в области 8,03-8,23 м.д.; 7-H - триплет при 7,56-7,70 м.д.; 8-H - дублет при 7,39-7,52 м.д.; 6-H - триплет при 7,20-7,31 м.д.

Спектры ЯМР ^1H синтезированных веществ и их, описанных ранее, фторированных аналогов [2] в основном весьма схожи. Различия наблюдаются лишь в сигналах протонов бензилиденовых фрагментов. Прежде всего, это изменение мультиплетности сигналов протонов, находящихся в орто-положении к атому галогена, которое обусловлено отсутствием магнитных свойств у ядер хлора и брома (в отличие от фтора) [5]. Кроме того, при переходе от фторпроизводных к хлор- и далее к бромзамещенным продуктам в спектрах наблюдается существенный парамагнитный сдвиг сигнала Н-2', причем, чем значительнее снижается индуктивный эффект, оказываемый галогеном на данный протон, тем больше смещение его сигнала в слабое поле: средние значения для 3-фторбензи-

лиденгидразидов — 7,55; для 3-хлор-бензилиденгидразидов — 7,81 и для 3-бром-бензилиденгидразидов — 7,95 м.д.

По данным рентгеноструктурного анализа 1,2-дигидрохинолиновая система 3-хлор-бензилиденгидразида 1-этил-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновой кислоты (2в) N(1)...C(10) плоская с точностью до 0,032(2) Å° (см. рис.). Прилегающие к ней атомы O(2), O(4), C(11) и C(21) также принадлежат этой плоскости.

Амидная группа практически компланарна бициклу (торсионный угол C(4)-C(3)-C(11)-O(11) 1,7(4)°. Такая ориентация амидного заместителя стабилизирована сильной внутримолекулярной водородной связью O(11):H(4)-O(4) (O...H 1,65(4)Å, O...H-O 152(4)°).

Таблица 3

Антимикробная активность и цитотоксичность 3-хлор-(бром)-бензилиденгидразидов 1-R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот (2, 3)

Соединение	Задержка роста <i>M. tuberculosis</i> в конц. 6,25 мкг/мл, %	МИК, мкг/мл	IC ₅₀ , мкг/мл	SI
2а	0	-	-	-
2б	0	-	-	-
2в	100	0,78	>10	>12,8
2г	3	-	-	-
2д	3	-	-	-
2е	100	0,2	Не растворим	Не растворим
2ж	96	0,2	>10	>50
2з	99	0,2	>10	>50
2и	90	0,39	>10	>25,6
3а	23	-	-	-
3б	16	-	-	-
3в	100	0,39	>10	>25,6
3г	16	-	-	-
3д	13	-	-	-
3е	97	0,39	>10	25,6
3ж	0	-	-	-
3з	0	-	-	-
3и	1	-	-	-

Связи C(4)-O(4) и C(3)-C(4) имеют характерные для енолов длины 1,330(3) и 1,371(4) Å. Существенное удлинение связи C(11)-O(11) до 1,250(4) Å (среднее значение 1,202 Å [6]), очевидно, вызвано сильной внутримолекулярной водородной свя-

зью O(11)...H(4)-O(4). Этильный заместитель при атоме N(1) повернут практически перпендикулярно плоскости хинолонового цикла — торсионный угол C(2)-N(1)-C(21)-C(22) 95,1(3)°.

Исследование противотуберкулёзных свойств всех синтезированных 3-хлор-(бром)-бензилиденгидразидов 1-R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот (2, 3) проведено Национальным институтом аллергии и инфекционных заболеваний Министерства здравоохранения США в рамках программы ТААСФ (Tuberculosis Antimicrobial Acquisition & Coordinating Facility) радиометрическим методом [7-9].

Из результатов первичного микробиологического скрининга (первый уровень исследований) следует, что ряд исследованных веществ в концентрации 6,25 мкг/мл проявляет выраженный противотуберкулёзный эффект, затормаживая рост *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 на 90-100% (табл. 3).

Определение действительной минимальной ингибирующей концентрации, согласно с принятыми в ТААСФ критериями, проводится только для веществ, которые в концентрации 6,25 мкг/мл ингибируют рост микобактерий туберкулеза не менее, чем на 90% (второй уровень). Сравнительный анализ этих показателей свидетельствует о том, что замена атома фтора в мета-положении бензилиденового остатка на бром и, особенно, хлор приводит к существенному повышению активности — минимальная ингибирующая концентрация всех соединений, прошедших первый уровень скрининга, оказалась менее 1 мкг/мл, тогда как среди фторпроизводных МИК 0,2 мкг/мл была отмечена только у одного соединения [2].

Одновременно с определением минимальной ингибирующей концентрации на втором уровне

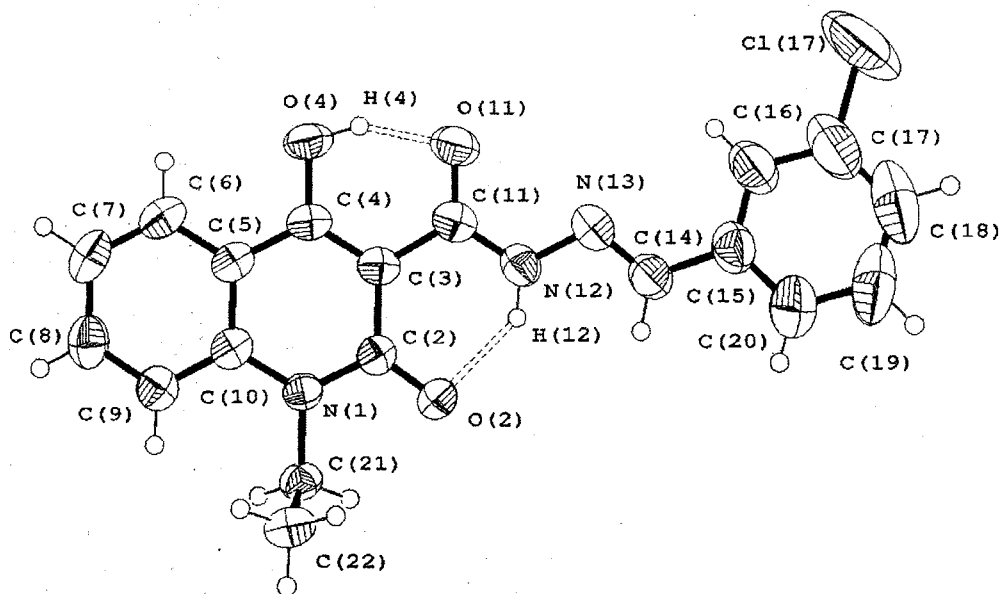


Рис. Нумерация атомов и пространственное строение молекулы 3-хлорбензилиденгидразида 2в. Эллипсоиды тепловых колебаний даны с вероятностью 50%. Внутримолекулярные Н-связи показаны пунктирной линией.

Таблица 4

Противотуберкулёзная активность
3-хлорбензилиденгидразида 1-этил- (2в)
и 3-бромбензилиденгидразидов 1-этил- (3в)
и 1-бутил- (3е) 2-оксо-4-гидроксихинолин-
3-карбоновых кислот на модели зараженных
туберкулёзом макрофагов

Соединение	МИК, мкг/мл	ЕС ₉₀ , мкг/мл	ЕС ₉₉ , мкг/мл	ЕС ₉₀ /МИК
2в	0,78	1,18	1,76	1,51
3в	0,39	1,57	>2	4,03
3е	0,39	1,71	>2	4,38

отобранные соединения подвергаются испытанию на цитотоксичность (IC₅₀) при концентрациях 10хМИК по отношению к *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Результаты представляются в виде индекса селективности (SI), который определяется как отношение цитотоксичности к минимальной ингибирующей концентрации. Удовлетворительными обычно считаются вещества, индекс селективности которых составляет не менее 10. Как видно из представленных в табл. 3 данных, тест на цитотоксичность из всех 3-хлор-(бром)-бензилиденгидразидов 1-R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот успешно прошли практически все соединения. Исключение составляет лишь 3-хлорзамещенное 1-N-бутильное производное (2е), растворимость которого в водном ДМСО оказалась слишком низкой для данного исследования.

Третий уровень исследований противотуберкулёзной активности новых соединений по программе ТААСФ состоит из нескольких этапов. Прежде всего, вещества прошедшие первый и второй уровни, подвергаются испытанию на определение их эффективности в отношении микобактерий туберкулёза, размещенных внутриклеточно (в макрофагах). Объясняется это тем, что на быстроразмножающиеся, а значит находящиеся вне клеток, микобактерии хорошо действуют большинство противотуберкулёзных препаратов. Однако на фоне химиотерапии метаболизм и размножение микобактерий угнетаются, причем начинают преобладать персистирующие формы. На этом этапе возбудители туберкулёза находятся главным образом внутри клеток (в макрофагах). Эффективно влиять на такие формы значительно сложнее, хотя это важно не только для непосредственных, но и отдаленных результатов терапии, поскольку персистирующие микобактерии легко реверсируют в исходные формы и начинают бурно размножаться, что приводит к обострениям и рецидивам заболевания [10]. Результаты исследований представляются в виде ЕС₉₀ и ЕС₉₉ — концентрации испытуемого вещества, вызывающие торможение роста микобактерий в макрофагах соответственно на 90 и 99%. Соединения с ЕС₉₀ более 16хМИК (эти данные для удобства

приводятся в виде соотношения ЕС₉₀/МИК) считаются на данной модели неактивными [11]. Экспериментальные данные (табл. 4) свидетельствуют о том, что 3-хлорбензилиденгидразид 1-этил- (2в) и 3-бромбензилиденгидразиды 1-этил- (3в) и 1-бутил- (3е) 2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот оказывают выраженное ингибирующее влияние на рост внутриклеточных микобактерий. Данное обстоятельство выгодно отличает исследуемые соединения от многих известных туберкулостатиков, большинство из которых (стрептомицин, канамицин, флоримицин, ПАСК, тиоацетазон и др.) не проявляют свойств внутриклеточного воздействия на возбудителей туберкулёза.

Параллельно с определением эффективности отобранных соединений на модели зараженных туберкулёзом макрофагов проводятся испытания антимикобактериальной активности этих образцов по отношению к комплексу *Mycobacterium avium*, представляющему собой родственные виды нетуберкулёзных микобактерий, вызывающих у человека заболевания, которые морфологически и клинически отличаются от туберкулёза [12]. Исследования, проведенные на пяти изолированных клинических штаммах *Mycobacterium avium*, показывают, что бензилиденгидразиды 2в, 3в и 3е хотя и активнее своих фторзамещенных аналогов [2], но все же мало эффективны в отношении указанных микроорганизмов — МИК наиболее активного из них 3-хлорпроизводного 2в составляет 16 мкг/мл.

Как известно, характерной особенностью микобактерий туберкулёза является их изменчивость (полиморфизм). Под влиянием внешней среды меняются морфологические, культуральные и биологические свойства микобактерий туберкулёза. Так, например, помимо типичной палочкоподобной формы, микобактерии туберкулёза могут быть нитевидной, зернистой, кокковой, а также гигантской формы с образованием почек. Под влиянием противотуберкулёзных препаратов могут образовываться и ультрамелкие формы, проходящие через бактериальные фильтры и поддерживающие длительное хроническое протекание туберкулёзного воспаления в организме [10]. Применение антибактериальных препаратов влечет за собой развитие медикаментозной устойчивости микобактерий туберкулёза, которая является одной из форм изменчивости бактериальной клетки под влиянием химиопрепаратов как вариант приспособления к неблагоприятным условиям. Помимо этого в каждой популяции микобактерий существуют устойчивые мутанты. Антимикобактериальные препараты угнетают рост чувствительных возбудителей, тогда как устойчивые мутанты размножаются. Исходя из этого, третий уровень микробиологического скрининга по программе ТААСФ предполагает обязательное подтверждение противотуберкулёзных свойств отобранных соединений, но уже на двух штаммах: повторно на Мусо-

Таблиця 5

МИК 3-галогенбензилиденгидразидов
2в, 3в и 3е по отношению к различным
штаммам *Mycobacterium tuberculosis*

Штамм <i>M. tuberculosis</i>	2в МИК, мкг/мл	3в МИК, мкг/мл	3е МИК, мкг/мл
H37Rv	0,78	0,39	0,39
Erdman	0,78	0,78	0,78
Изониазид-R	0,78	0,39	1,56
Рифампицин-R	0,78	0,39	1,56
Этамбутол-R	0,78	0,78	1,56
Канамицин-R	0,78	0,39	1,56
Ципрофлоксацин-R	0,78	0,78	1,56

bacterium tuberculosis H37Rv ATCC 27294 и дополнительно на *Mycobacterium tuberculosis* Erdman ATCC 35801. Также определяется минимальная ингибирующая концентрация на штаммах, устойчивых к одному из лекарственных препаратов. Обычно это штаммы, резистентные к изониазиду, рифампицину, этамбутолу, канамицину и ципрофлоксацину (в табл. 5 они обозначены символом R).

Таблиця 6

Отдельные межатомные расстояния l (А)
в структуре 3-хлорбензилиденгидразида 2в

Связь	l	Связь	l
O(2)-C(2)	1,242(3)	C(7)-H(7)	0,9300
O(4)-C(4)	1,330(3)	C(8)-C(9)	1,376(5)
O(4)-H(4)	0,90(4)	C(8)-H(8)	0,9300
O(11)-C(11)	1,250(4)	C(9)-C(10)	1,412(4)
N(1)-C(10)	1,384(3)	C(9)-H(9)	0,9300
N(1)-C(2)	1,385(3)	C(14)-C(15)	1,481(4)
N(1)-C(21)	1,476(3)	C(14)-H(14)	0,9300
N(12)-C(11)	1,334(4)	C(15)-C(16)	1,360(6)
N(12)-N(13)	1,383(3)	C(15)-C(20)	1,386(7)
N(12)-H(12)	0,87(4)	C(16)-C(17)	1,382(6)
N(13)-C(14)	1,268(4)	C(16)-H(16)	0,9300
C(2)-C(3)	1,457(4)	C(17)-C(18)	1,368(9)
C(3)-C(4)	1,371(4)	C(17)-Cl(17)	1,714(6)
C(3)-C(11)	1,480(4)	C(18)-C(19)	1,375(9)
C(4)-C(5)	1,438(4)	C(18)-H(18)	0,9300
C(5)-C(6)	1,389(4)	C(19)-C(20)	1,377(7)
C(5)-C(10)	1,411(4)	C(19)-H(19)	0,9300
C(6)-C(7)	1,376(5)	C(20)-H(20)	0,9300
C(6)-H(6)	0,9300	C(21)-C(22)	1,513(4)
C(7)-C(8)	1,388(5)	C(21)-H(21A)	0,9700
C(5)-C(10)	1,4050(9)	C(21)-H(21B)	0,9700
O(41)-H(41)	0,856(3)	C(22)-H(22A)	0,9600
C(22)-H(22B)	0,9600	C(22)-H(22C)	0,9600

Результаты определения минимальной ингибирующей концентрации некоторых 3-хлор (бром)-бензилиденгидразидов 1-R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот на чувствительных к лекарственным препаратам штаммах *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv и Erdman, а также на монорезистентных культурах, приведены в табл. 5 и свидетельствуют о высокой антимикобактериальной активности исследуемых соединений.

Завершающим этапом третьего уровня исследований по программе ТААСФ является определение минимальной бактерицидной концентрации (МБК) образцов, прошедших предыдущие этапы, по отношению к штаммам *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv и кроме того, к штаммам, устойчивым к некоторым лекарственным препаратам. Бактерицидное действие в терапевтических дозах свойственно лишь рифампицину, в более высоких — изониазиду и пиразинамиду; для остальных противотуберкулезных препаратов (например, стрептомицина) бактерицидное действие возможно лишь в дозах, значительно превышающих терапевтические. Поэтому, в основном, рассчитывают на бактериостатический эффект противотуберкулезной терапии, хотя больший интерес представляют все же вещества с бактерицидным механизмом действия. Проведенные исследования показали, что МБК 3-хлор-(бром)-бензилиденгидразидов 2в, 3в и 3е как в отношении *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, так и в отношении штаммов, резистентных к изониазиду и рифампицину, равна МИК или превышает ее не более, чем в 2 раза, то есть воздействие на микобактерии туберкулеза этих соединений можно квалифицировать как бактерицидное.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H синтезированных соединений записаны на приборе Bruker WM-360, рабочая частота — 360,139 МГц, растворитель ДМСО- D_6 , внутренний стандарт — ТМС. Исходные гидразиды 1R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот получены известным способом [13].

Общая методика получения 3-хлор-(бром)-бензилиденгидразидов 1-R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот (2, 3). К раствору 0,01 Моль гидразида соответствующей 1-R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновой кислоты (1) в 70 мл этилового спирта прибавляют 0,011 Моль 3-хлор-(бром)-замещенного бензальдегида и кипятят с обратным холодильником в течение 30 мин. Реакционную смесь охлаждают, осадок хлор-(бром)-замещенного бензилиденгидразида 2 или 3 отфильтровывают, промывают водой, сушат. Кристаллизуют из ДМФА или этанола.

Рентгеноструктурное исследование 3-хлорбензилиденгидразида 1-этил-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновой кислоты (2в). Экспериментальные интенсивности дифракционных отражений получены при комнатной температуре — 293(2)К на

Таблица 7

Отдельные валентные углы ω (град.) в структуре 3-хлорбензилиденгидразида 2в

Валентные углы	ω	Валентные углы	ω
C(4)-O(4)-H(4)	106(3)	O(11)-C(11)-N(12)	122,1(3)
C(10)-N(1)-C(2)	123,2(2)	O(11)-C(11)-C(3)	120,5(3)
C(10)-N(1)-C(21)	120,1(2)	N(12)-C(11)-C(3)	117,4(3)
C(2)-N(1)-C(21)	116,6(2)	N(13)-C(14)-C(15)	121,1(3)
C(11)-N(12)-N(13)	120,4(3)	N(13)-C(14)-H(14)	119,4
C(11)-N(12)-H(12)	118(2)	C(15)-C(14)-H(14)	119,4
N(13)-N(12)-H(12)	121(2)	C(16)-C(15)-C(20)	120,0(4)
C(14)-N(13)-N(12)	113,9(3)	C(16)-C(15)-C(14)	122,6(4)
O(2)-C(2)-N(1)	120,0(2)	C(20)-C(15)-C(14)	117,4(4)
O(2)-C(2)-C(3)	123,1(2)	C(15)-C(16)-C(17)	118,2(5)
N(1)-C(2)-C(3)	116,9(2)	C(15)-C(16)-H(16)	120,9
C(4)-C(3)-C(2)	119,87(4)	C(17)-C(16)-H(16)	120,9
C(31)-N(32)-C(34)	120,4(2)	C(18)-C(17)-C(16)	123,0(5)
C(4)-C(3)-C(11)	118,1(2)	C(18)-C(17)-Cl(17)	117,9(4)
C(2)-C(3)-C(11)	121,5(3)	C(16)-C(17)-Cl(17)	119,1(5)
O(4)-C(4)-C(3)	122,6(2)	C(17)-C(18)-C(19)	118,2(5)
O(4)-C(4)-C(5)	116,1(3)	C(17)-C(18)-H(18)	120,9
C(3)-C(4)-C(5)	121,2(2)	C(19)-C(18)-H(18)	120,9
C(6)-C(5)-C(10)	120,5(3)	C(18)-C(19)-C(20)	119,8(6)
C(6)-C(5)-C(4)	121,6(3)	C(18)-C(19)-H(19)	120,1
C(10)-C(5)-C(4)	117,9(2)	C(20)-C(19)-H(19)	120,1
C(7)-C(6)-C(5)	120,7(3)	C(19)-C(20)-C(15)	120,8(6)
C(7)-C(6)-H(6)	119,7	C(19)-C(20)-H(20)	119,6
C(5)-C(6)-H(6)	119,7	C(15)-C(20)-H(20)	119,6
C(6)-C(7)-C(8)	119,2(3)	N(1)-C(21)-C(22)	112,3(2)
C(6)-C(7)-H(7)	120,4	N(1)-C(21)-H(21A)	109,1
C(8)-C(7)-H(7)	120,4	C(22)-C(21)-H(21A)	109,1
C(9)-C(8)-C(7)	121,7(3)	N(1)-C(21)-H(21B)	109,1
C(9)-C(8)-H(8)	119,2	C(22)-C(21)-H(21B)	109,1
C(7)-C(8)-H(8)	119,2	H(21A)-C(21)-H(21B)	107,9
C(8)-C(9)-C(10)	119,8(3)	C(21)-C(22)-H(22A)	109,5
C(8)-C(9)-H(9)	120,1	C(21)-C(22)-H(22B)	109,5
C(10)-C(9)-H(9)	120,1	H(22A)-C(22)-H(22B)	109,5
N(1)-C(10)-C(5)	120,2(2)	C(21)-C(22)-H(22C)	109,5
N(1)-C(10)-C(9)	121,7(3)	H(22A)-C(22)-H(22C)	109,5
C(5)-C(10)-C(9)	118,1(3)	H(22B)-C(22)-H(22C)	109,5

дифрактометре CAD4 [14] (CuK α -излучение, графитовый монохроматор, ω -сканирование). Параметры элементарной ячейки определяли и уточняли по 25 рефлексам в интервале углов θ 30–33°. 3-Хлорбензилиденгидразид 2в кристаллизуется в ромбической сингонии с пространственной группой Pbc_a (a=14,0728(12), b=8,571(4), c=30,055(6) Å, V=3625,2(19) Å³, Z=8, d_{выч.}=1,355 г/см³, μ =2,072 мм⁻¹). Дифрактометрический эксперимент проводился на

Таблица 8

Водородные связи в структуре 3-хлорбензилиденгидразида 2в*

D-H	d (D-H)	d (D...A)	d (H...A)	ϕ (D-H...A)	A
O(4)-H(4)	0,90(4)	2,473(3)	1,65(4)	152(4)	O(11)
N(12)-H(12)	0,87(4)	2,608(3)	1,90(4)	136(3)	O(2)

* D - атом-донор; A - атом-акцептор; H - атом водорода; d - расстояние в Å, ϕ - угол в град.

кристалле с линейными размерами 0,2x0,2x0,2 мм (2,94 $\leq\theta\leq$ 74,86°, область индексов h k l: -17 \leq h \leq 0, 0 \leq k \leq 10, 0 \leq l \leq 37). Всего собрано независимых 3295 (R_{int}=0,000) рефлексов. Число уточняемых параметров — 243. Результаты уточнения структуры: GooF=1,025, R₁/wR₂ [I>2 σ (I)] 0,0818 / 0,2238, R₁/wR₂ (все рефлексы) 0,1049 / 0,2528, $\Delta\rho_{\text{макс}}$ / $\Delta\rho_{\text{мин}}$: 0,319 / -0,643 е Å⁻³.

Поскольку кристаллы исследованного соединения имеют низкие линейные коэффициенты поглощения и малые размеры, поправка на поглощение не вводилась. Первичная обработка массива экспериментальных данных проводилась по комплексу программ WinGX [15]. Все последующие расчеты выполнялись в рамках комплекса программ SHELX97 [16]. Кристаллическая структура определена прямыми методами с последующим уточнением позиционных и тепловых параметров в анизотропном приближении для всех неводородных атомов. Атомы H рассчитывались из геометрических соображений и уточнялись в рамках модели “атома-наездника”. Исключение составляют атомы водорода гидроксильной и CONH-групп, где они объективно локализованы из разностного синтеза электронной плотности. Эти атомы водорода уточнялись в изотропном приближении независимо. Отдельные межатомные расстояния и валентные углы систематизированы в табл. 6 и 7; в табл. 8 приведены параметры внутримолекулярных водородных связей. Полная кристаллографическая информация по 3-хлорбензилиденгидразиду 1-этил-2-оксо-4-гидрокси-хинолин-3-карбоновой кислоты (2в) депонирована в Кембриджской Базе Структурных Данных (депонент CCDC 243107) [17]. Пространственное расположение атомов в молекуле исследованного соединения, их нумерация показаны на рисунке, полученном с использованием программы ORTEP3 [18]. Расчет параметров H-связей проведен по программе PARST95 [19].

Выводы

1. Осуществлен синтез 3-хлор-(бром)-бензилиденгидразидов 1-R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот, строение которых подтверждено методами спектроскопии ЯМР ¹H и рентгеноструктурного анализа.

2. По результатам проведенного микробиологического скрининга среди синтезированных со-

единений обнаружены вещества, показавшие высокую противотуберкулезную активность на чувствительных к лекарственным препаратам штаммах *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv и *Mycobacterium tuberculosis* Erdman, а также на монорезистентных культурах. Оказывая на туберкулезную палочку бактерицидное действие, исследованные соединения обладают низкой цитотоксичностью и способны ингибировать рост микобактерий в макрофагах.

Литература

1. Українець І.В., Джарадат Нідаль Амін, Безуглий П.О. та ін. // Вісник фармації. — 2000. — №1 (21). — С. 13-15.
2. Українець І.В., Прокопенко О.С., Сидоренко Л.В., Горохова О.В. // Вісник фармації. — 2004. — №3 (39). — С. 14-18.
3. Мокрушина Г.А., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н. // Хим.-фарм. журн. — 1995. — Т. 29, №9. — С. 5-19.
4. Li X.H., Tian Z.M., Miao H. et al. // Yao Xue Xue Bao. — 1997. — Vol. 32, №11. — P. 844-851.
5. Gunther H. *NMR Spectroscopy: Basis principles, concepts, and applications in Chemistry*. — Chichester: John Wiley and Sons Ltd., 1995. — 602 p.
6. Burgi H.-B., Dunitz J.D. *Structure correlation*. — Weinheim: VCH, 1994. — Vol. 2. — P. 741-784.
7. Collins L., Franzblau S.G. // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 1997. — Vol. 41, №5. — P. 1004-1009.
8. 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.
9. Inderleid C.B., Salfinger M. // *Antimycobacterial agents and susceptibility tests: mycobacteria* / In: *Manual of Clinical Microbiology* / Ed. Murray P.R., Baron E.J., Tenover F.C., Tenover R.H. — Washington D.C.: ASM Press, 1995. — P. 1385-1404.
10. Савула М.М., Ладний О.Я. Туберкульоз. — Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. — 324 с.
11. Skinner P.S., Furney S.K., Jacobs M.R. et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 1994. — Vol. 38, №11. — P. 2557-2563.
12. *Руководство по медицине: Диагностика и терапия: В 2-х т.* / Под ред. Р.Беркоу, Э. Флетчера; Пер. с англ. — М.: Мир, 1997. — Т. 1. — С. 83-94.
13. Українець І.В., Безуглий П.А., Трескач В.И. и др. // XTC. — 1992. — №8. — С. 1086-1090.
14. Enraf-Nonius. *CAD4 Software*. — Version 5.0, Enraf-Nonius. Delft. — The Netherlands, 1989.
15. Farrugia L.J. // *J. Appl. Cryst.* — 1999. — Vol. 32. — P. 837-838.
16. Sheldrick G.M. *SHELX97. Program for the Solution and the Refinement of Crystal Structures*. — University of Gottingen. — Germany, 1997.
17. Allen F.H. // *Acta Cryst., Sec. B*. — 2002. — Vol. 58. — P. 380-388.
18. Farrugia L.J. // *J. Appl. Cryst.* — 1997. — Vol. 30. — P. 565.
19. Nardelli M. // *J. Appl. Cryst.* — 1995. — Vol. 28. — P. 659.

Надійшла до редакції 25.06.2004 р.