

УДК 547.785.51

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОДУКТОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ 1,3-ОКСАЗИНОВ-6-ОНОВ С N-НУКЛЕОФИЛЬНЫМИ РЕАГЕНТАМИ

Л.Н. Овсянникова^{1*}, Б.Ю. Лалаев¹, И.П. Яковлев¹, Г.В. Ксенофонтова¹

Резюме. Целью работы было изучение противомикробной и противогрибковой активности продуктов взаимодействия 2,5-замещенных 4-гидроксид-1,3-оксазин-6-онов с N-нуклеофилами. Активность полученных веществ проверяли на тест-культурах *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans* соответственно. У исследуемых соединений выявлен выраженный противогрибковый эффект.

Ключевые слова: 1,3-оксазин-6-оны, бензимидазол-2-илгидразин, бензотиазол-2-илгидразин, 1,2,4-триазол, противомикробная активность, противогрибковая активность.

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE REACTION PRODUCTS OF 1,3-OXAZIN-6-ONES WITH N-NUCLEOPHILES

L.N. Ovsyannikova^{1*}, B.U. Lalaev¹, I.P. Yakovlev¹, G.V. Ksenofontova¹

Abstract. The aim of the research was investigation of the antimicrobial and antifungal activity of the reaction products of 2,5-substituted 4-hydroxy-6H-1,3-oxazin-6-ones with N-nucleophiles. The activity of the obtained substances was tested on the test-cultures *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans*, respectively. The significant antifungal effect of the studied compounds was revealed.

Keywords: 1,3-oxazin-6-ones, benzimidazol-2-yl-hydrazine, benzothiazol-2-yl-hydrazine, 1,2,4-triazole, antimicrobial activity, antifungal activity.

1 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФА Минздрава России), 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

1 – Federal State Educational Institution of Higher Education of St. Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of Russia, 14, lit. A, St. Petersburg, 197376, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: lilia.ovsyannikova@pharmintotech.com

Тел.: 8 (921) 929 39 17

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время исследования в области химии биологически активных азидов занимают одно из ведущих мест в химии гетероциклических соединений. Наиболее изученной группой среди диазидов являются производные пиримидинов [1]. Среди них наименее изученной группой остаются ненасыщенные оксипроизводные 1,3-оксазинов.

Многие 1,3-оксазин-6-оны используются в качестве исходных соединений для получения разнообразных ациклических и гетероциклических систем, синтез которых другими методами невозможен или многостадийен. Они являются структурными аналогами природных пиримидинов, играющих определяющую роль во многих физиологических процессах живых организмов, и обладают антимикробной, противогрибковой, противовирусной, противоопухолевой активностью. Поэтому поиск новых биологически актив-

ных веществ среди продуктов взаимодействия 2,5-замещенных-4-гидроксид-1,3-оксазин-6-онов с N-нуклеофильными реагентами является актуальной задачей.

Ранее [2, 3] были получены 1,3-оксазины с различными заместителями во втором положении (2-арил, 2-алкилсульфанил, 2-метокси), исследования которых показали, что они обладают анальгетической, седативной, антимикробной активностью. Однако в предыдущих исследованиях некоторые реакции и биологическая активность с N-нуклеофильными реагентами не были изучены.

Целью работы явилось изучение биологической активности новых производных 1,2,4-триазолов.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

- 1) синтез новых производных 1,2,4-триазолов;

- 2) прогноз биологической активности с помощью программы PASS;
- 3) исследование противомикробной и противогрибковой активности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами впервые была изучена реакция 2,5-замещённых-4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов (I(a-г)) с бензтиазол-2-илгидразином (II) и бензимидазол-2-илгидразином (III) в среде безводного метанола (х.ч., ЗАО «Вектон», Россия) без нагревания при постоянном перемешивании в течение 40–48 ч. Реакция протекает с раскрытием по C² оксазинового цикла и приводит к образованию производного 1,2,4-триазола (IV(a-г), V(a-г)) (рисунок 1).

Строение полученных соединений доказано физико-химическими методами ¹H-ЯМР-, ¹³C-ЯМР-, ИК- и УФ-спектроскопии [4–7].

Среди полученных 1,2,4-триазолов обнаружены соединения с биологической активностью. Из литературных данных среди 1,2,4-триазолов известны вещества с противогрибковой, противовирусной, противораковой, психотропной и другими видами биологической активности. Широко известна группа производных 1,2,4-триазола, применяемых для лечения грибковых заболеваний, – флуконазол, итраконазол и др.

Для прогнозирования различных видов биологической активности все полученные соединения были проанализированы при помощи программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) с использованием веб-сервиса <http://pharmaexpert.ru/passonline>. Результаты показали высокую вероятность противогрибковой, противомикробной, противовирусной активности. Поэтому полученные 1,2,4-триазолы были исследованы на противомикробную и противогрибковую активность.

Исследования противомикробной активности полученных соединений проведены на кафедре микробиологии ФГБОУ ВО СПХФА Минздрава РФ. Антибактериальную активность исследовали на тест-

культурах микроорганизмов *Escherichia coli* штамм ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* штамм Р 209. Антимикробное действие полученных соединений определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде – пептонном бульоне (МПБ) с последующим высевом на плотную питательную среду – мясо-пептонный агар (МПА) для определения минимальной подавляющей концентрации исследуемых соединений.

Исходные растворы производных 1,2,4-триазолов готовили в 50%-м водном ДМСО (диметилсульфоксид, х.ч., ЗАО «Вектон», РФ) из-за их ограниченной растворимости в воде.

Для приготовления взвеси бактериальных культур использовали 2-суточные культуры, выращенные на МПА. Готовили взвесь по бактериальному стандарту мутности Мак-Фарланда (2·10⁸ КОЕ/мл), затем полученную суспензию разводили до концентрации 10⁶ КОЕ/мл и вносили по 0,1 мл в каждую пробирку ряда. Микробная нагрузка составляла 10⁵ КОЕ/мл.

Бактериальные культуры выращивали в течение 24 ч при температуре 37 °С. Антимикробный эффект определяли по отсутствию роста тест-микроорганизма в МПБ при минимальной концентрации вещества, а характер противомикробного действия (бактериостатическое или бактерицидное) – по отсутствию роста на плотной питательной среде.

Исследование противогрибковой активности полученных соединений проводили на тест-культуре *C. albicans* ATCC 885-653 (из коллекции культур ФГБОУ ВО СПХФА). Противогрибковую активность определяли методом двукратных серийных разведений на жидкой питательной среде Сабуро с последующим высевом на плотную питательную среду для определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) исследуемых соединений. Исходные растворы производных 1,2,4-триазолов готовили в 50%-м водном диметилсульфоксиде из-за их ограниченной растворимости в воде.

Для приготовления взвеси дрожжевых культур использовали 2-суточные культуры, выросшие на плотной питательной среде Сабуро. Готовили взвесь

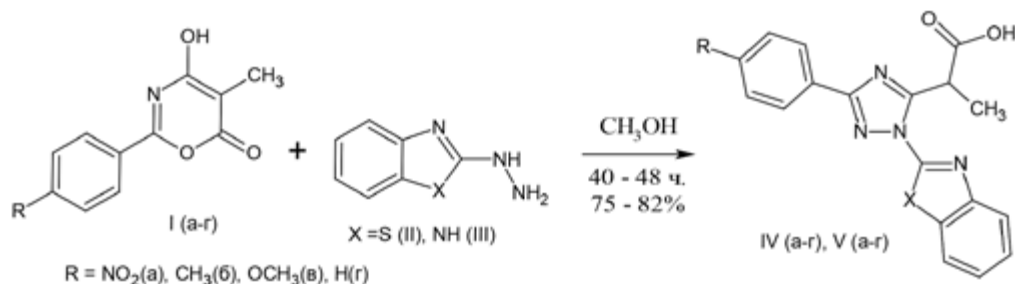


Рисунок 1. Схема синтеза 1,2,4-триазолов

по стандарту Мак-Фарланда ($2 \cdot 10^8$ КОЕ/мл), затем полученную суспензию развели до концентрации 10^5 КОЕ/мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования противомикробной и противогрибковой активности представлены в таблице 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённые исследования позволили получить новые производные 1,2,4-триазолов, которые обладают противогрибковой активностью.

Антифунгальная активность исследованных соединений оказалась сопоставима с препаратом сравнения – флуконазолом в отношении дрожжей *Candida spp.*

Полученные 1,2,4-триазолы не обладают антибактериальной активностью в отношении *St. aureus* и *E. coli*. Однако противостафилококковое действие синтезированных веществ среди 1,2,4-триазолов (IVa; Va) несколько увеличилось после введения в бензольное кольцо нитрогруппы, МПК при этом составляла 12,5 мкг/мл.

Следует отметить, что некоторые исследуемые образцы (IVг; Vб; Vг) оказывали статическое действие на тест-культуры *St. aureus* и *E. coli*.

ЛИТЕРАТУРА

- А.Э. Потапова, Е.В. Куваева, И.П. Яковлев, Е.В. Федорова, А.Е. Щеголев. Синтез и биологическая активность 2,5-замещённых 6-гидрокси-пиримидин-4(3H)-онов // Бутлеровские сообщения. 2015. Т. 44. № 11. С. 65–68.
- В.Э. Захс, И.П. Яковлев, Б.А. Ивин. Исследование азинов и азолов. 61. О взаимодействии малонилдихлорида с ароматическими амидами // ХГС. 1987. № 3. С. 382–385.
- Б.Ю. Лалаев, И.П. Яковлев, В.Э. Захс. Синтез 5-алкил(арил)-2-алкилсульфанил(алкокси)-4-гидрокси-6H-1,3-оксазин-6-онов // Журнал общей химии. 2005. Т. 75. № 3. С. 46.
- Л.Н. Овсянникова, Б.Ю. Лалаев, И.П. Яковлев, Т.Л. Семакова. Особенности реакций 2,5-замещённых 4-гидрокси-6H-1,3-оксазин-6-онов с бензимидазол-2-илгидразином // ЖОРХ. 2016. Т. 52. Вып. 4. С. 617–618.
- Патент № 2603958 РФ, МПК С 07 D 417/04, А 61 К 31/428, А 61 Р 31/04. Замещённые 2-(1-(1,3-бензотиазол-2-ил)-3-фенил-1H-1,2,4-триазол-5-ил) пропановые кислоты и способ их получения / Овсянникова Л.Н., Лалаев Б.Ю., Яковлев И.П., Ксенофонтова Г.В., Семакова Г.В.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПбХФА Минздрава России. – № 2015147573/04; заявл. 05.11.15; опубл. 10.12.16, Бюл. № 34. 13 с.
- Л.Н. Овсянникова, А.Т. Фам, Г.В. Ксенофонтова, Б.Ю. Лалаев, И.П. Яковлев. Реакция 1,3-оксазин-6-онов с 2,4-дигидразинил-6-метилпиримидином // Тезисы докладов IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации». – Санкт-Петербург. 2016. С. 463–465.
- Л.Н. Овсянникова, Ле Нгок Ан, Т.Л. Семакова, Б.Ю. Лалаев, И.П. Яковлев. Реакции некоторых 4-гидрокси-6H-1,3-оксазин-6-онов с бензимидазол-2-илгидразином // Тезисы докладов V научно-технической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных (с международным участием) «Неделя науки – 2015». – Санкт-Петербург. 2015. С. 61.

Таблица 1.

Противомикробная, противогрибковая активность
1,2,4-триазолов, мкг/мл

№ п/п	Соединение	Формула соединения	Тест-культура		
			<i>C. albicans</i>	<i>St. aureus</i>	<i>E. coli</i>
			МПК, мкг/мл		
1.	IV a		16	64	12,5
2.	IV б		32	64	16
3.	IV в		32	16	16
4.	IV г		32	32	16
5.	V a		16	12,5	12,5
6.	V б		32	16	12,5
7.	V в		16	32	12,5
8.	V г		32	16	16