

О. Г. Худина¹, Я. В. Бургарт¹, М. А. Кравченко², В. И. Салютин¹**СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ФТОРАЛКИЛСОДЕРЖАЩИХ 3-ГИДРОКСИИМИНО-1,5-БЕНЗОДИАЗЕПИНОВ**¹ Институт органического синтеза им. И. Я. Пастовского УрО РАН, Екатеринбург, Россия;² ФГУ Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии Росмедтехнологий, Екатеринбург, Россия

Усовершенствован метод синтеза фторалкилсодержащих 3-гидроксиимино-1,5-бензодиазепинов. Для этого 3-гидроксиимины, полученные из 1,3-дикетонов и 3-оксоэфиров нитрозированием *tert*-бутил нитритом в диэтиловом эфире в условиях кислого катализа, без выделения и дополнительной очистки вводили в реакцию с *o*-фенилендиамином. Установлено, что полифторалкилсодержащие 3-гидроксиимино-1,5-бензодиазепин-2-оны и 2-гидрокси-3-гидроксиимино-2-трифторметил-4-фенил-1Н-1,5-бензодиазепин обладают высокой туберкулостатической активностью, равной активности препарата сравнения изониазида.

Ключевые слова: фторалкилсодержащие 3-гидроксиимино-1,5-бензодиазепины, синтез, туберкулостатическая активность.

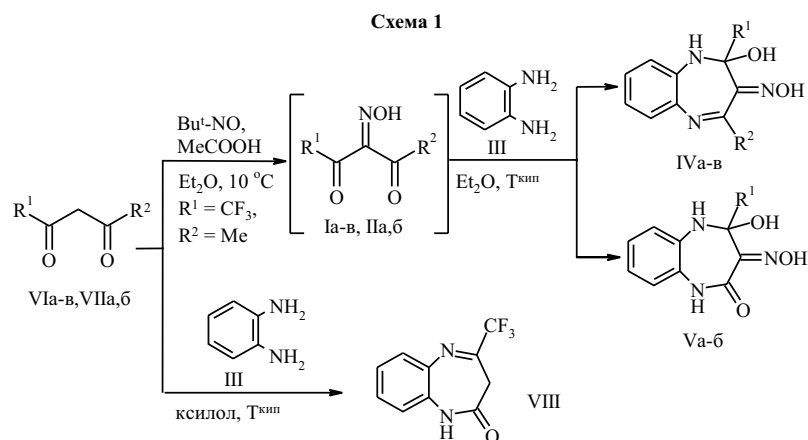
В последние годы наблюдается резкий подъем показателей заболеваемости и смертности от туберкулеза во всем мире и в России, в частности. Это связано, главным образом, с распространением ВИЧ-инфекции и миграцией больших масс людей из малоразвитых государств в страны с развитой экономикой. Кроме того, возможность формирования устойчивости микобактерий туберкулеза (МБТ) к противотуберкулезным лекарственным средствам была известна давно, однако в последние годы отмечено возрастание числа штаммов МБТ, обладающих множественной устойчивостью к существующим лекарственным препаратам. Помимо этого, практически все медицинские препараты, применяемые для лечения туберкулеза способны вызывать побочные токсические эффекты [1]. В связи с этим очевидна необходимость создания новых оригинальных лекарственных средств, превосходящих по активности и эффективности существующие.

Нами предпринята попытка поиска новых соединений с противотуберкулезной активностью в ряду фторированных 1,5-бензодиазепинов, содержащих гидроксииминовую группу. Присутствие фтора в молекуле способствует увеличению ее метаболической стабильности, модулирует ее физико-химические свойства

(липофильность, растворимость, кислотность или основность), облегчает транспорт через клеточные мембраны [2]. В современном мире фторгетероциклическая химия является успешно развиваемой научной отраслью лекарственной химии, поскольку в медицинской практике эффективно используются препараты, производимые на основе фторгетероциклов [3].

Синтез фторалкилсодержащих 2-гидроксиимино-1,5-бензодиазепинов (IVа, Va, б) из 2-гидроксиимино-1,3-дикарбонильных соединений (Iа, IIа, б) и *o*-фенилендиамин (III) описан нами ранее в работе [4]. В данной работе гетероциклы IVа, Va, б получены нами по усовершенствованной методике из 1,3-дикарбонильных соединений без выделения и дополнительной очистки промежуточных Iа и IIа, б (схема 1). Необходимость в усовершенствовании методики возникла из-за нестабильности Iб, в, из которых впоследствии не могли быть получены IVб, в.

Нами найдено, что VIб, в с *tert*-бутилнитритом в диэтиловом эфире в присутствии кислого катализатора — уксусной кислоты — образуют неустойчивые гидроксиимины Iб, в, которые без выделения и дополнительной очистки вводили в реакцию с III в кипящем диэтиловом эфире (схема 1). Полученные бензодиазе-

I, IV, VI: R² = Ph, R¹ = CF₃ (а); R² = Me, R¹ = CF₃ (б), C₄F₉ (в);II, V, VII: R¹ = CF₃, R² = OEt (а); R¹ = C₄F₉, R² = OMe (б)

пины IVб, в представляю собой кристаллические вещества белого цвета, нерастворимые в воде, хорошо растворимые в ДМСО и этаноле.

К сожалению, провести одnoreакторный синтез нам не удалось. Перед добавлением III необходимо нейтрализовать кислый эфирный раствор гидроксиимина Ib, в насыщенном водным раствором бикарбоната натрия, иначе в кислых условиях при добавлении диамина III происходит осмоление реакционной массы.

Мы попытались нитрозировать трифторацетилацетон VIб *тrem*-бутилнитритом без кислого катализа, чтобы далее провести одnoreакторную циклоконденсацию гидроксиимина Ib с III. Оказалось, что нитрозирование в нейтральных условиях идет очень медленно. При этом, во-первых, не наблюдается полной конверсии 1,3-дикетона VIб, а, во-вторых, за время прохождения реакции гидроксиимин Ib успевает частично разложиться. По этим причинам одnoreакторный синтез 1,5-бензодиазепина IVб в нейтральных условиях оказался неудачным и привел к образованию трудноразделимой смеси продуктов.

Строение новых гетероциклов IVб, в подтверждено данными элементного анализа, ИК и ЯМР спектроскопии. Выбор структуры гидратированного бензодиазепина, а не изомерного нециклического 1,3-аминовинилкетона, для соединений IVб, в сделан на основании результатов спектроскопии ЯМР ^{13}C и ^{19}F . Дублет дублетный сигнал ядра углерода, связанного с наофторбутильным заместителем, с $^2J_{\text{C, F1}}$ 23,8 Гц, $^2J_{\text{C, F2}}$ 20,8 Гц в спектре ЯМР ^{13}C продукта IV в находится в сильном поле (δ_{C} 99,7 м.д.), что характерно для sp^3 -гибридизованного ядра углерода 1,2-дигидро-1,5-бензодиазепина, а не для sp^2 -гибридизованного ядра углерода изомерного 1,3-аминовинилкетона [5]. Кроме того, синглетный сигнал ядер фтора в области 83,5 м.д. в спектре ЯМР ^{19}F соединения IVб, характерный для CF_3 -группы при четвертичном атоме углерода [6], однозначно доказывает строение 1,2-дигидро-1,5-бензодиазепина IVб.

Для установления таутомерного строения бензодиазепинов нами проведено рентгеноструктурное исследование кристаллов соединения IVб (рисунок).

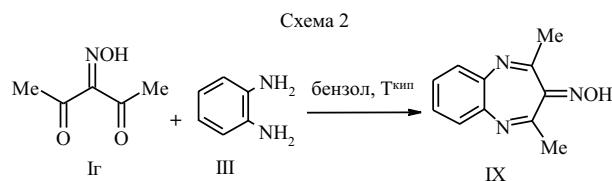
Структура гетероцикла IVб состоит из 2 кристаллографически независимых молекул 2-гидрокси-3-гидроксиимино-4-метил-2-трифторметил-1H-1,5-бензодиазепина, стабилизированных в упаковке за счет разветвленной системы межмолекулярных водородных

связей. Параметры водородных связей представлены в табл. 1.

Измеренные длины связей $\text{C}(9)\text{-N}(3) = 1,272(2) \text{ \AA}$ и $\text{C}(9\text{A})\text{-N}(3\text{A}) = 1,271(2) \text{ \AA}$ существенно короче связей $\text{N}(3)\text{-O}(2) = 1,386(2) \text{ \AA}$ и $\text{N}(3\text{A})\text{-O}(2\text{A}) = 1,383(2) \text{ \AA}$ и соответствуют $\text{C}=\text{N}\text{-OH}$ группе, что указывает на существование гетероцикла IVб в виде гидроксииминного таутомера.

Семичленный диазепиновый цикл имеет конформацию “псевдованны”. Фрагменты $\text{C}(1)\text{C}(6)\text{C}(9)\text{C}(8)$ и $\text{C}(1\text{A})\text{C}(6\text{A})\text{C}(9\text{A})\text{C}(8\text{A})$ практически плоские. Максимальные выходы из среднеквадратичных плоскостей этих фрагментов наблюдаются у атомов $\text{C}(1)$ и $\text{C}(1\text{A})$, которые равны соответственно 0,065(2) и 0,071(2) \AA . Атомы $\text{N}(1)$, $\text{N}(2)$, $\text{C}(10)$ и $\text{N}(1\text{A})$, $\text{N}(2\text{A})$, $\text{C}(10\text{A})$ существенно выведены из плоскостей $\text{C}(1)\text{C}(6)\text{C}(9)\text{C}(8)$ и $\text{C}(1\text{A})\text{C}(6\text{A})\text{C}(9\text{A})\text{C}(8\text{A})$. Наибольшие отклонения наблюдаются у атомов $\text{C}(10)$ и $\text{C}(10\text{A})$, они равны соответственно 0,940(2) и 0,925(2) \AA .

Для изучения туберкулостатической активности в ряду 1,5-бензодиазепинов и выявления зависимости противотуберкулезного действия от их строения нами получены не содержащий гидроксииминную группу 4-трифторметил-1,5-бензодиазепин-2-он (VIII) и нефторированный 2-гидроксиимино-1,5-бензодиазепин IX по соответствующим известным методикам (схема 1, 2) [7, 8].



Найдено, что все исследуемые бензодиазепины оказывают туберкулостатическое действие. Наибольшую активность проявляют 3-гидроксиимино-1,5-бензодиазепин-2-оны Va, б, которые по силе действия не уступают изониазиду.

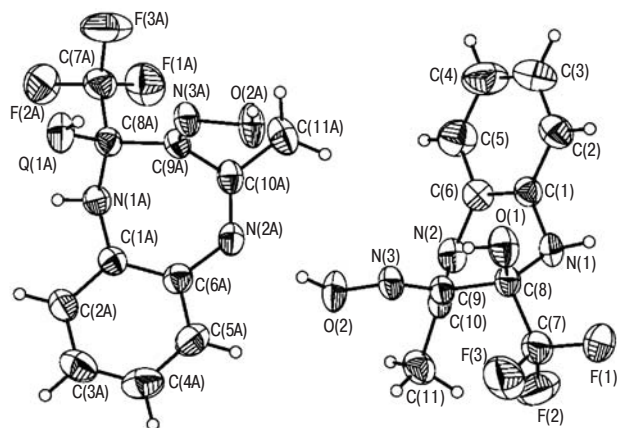
3-Гидроксиимино-1,5-бензодиазепины IVа – в оказались менее активными.

Сравнение данных по туберкулостатической активности фторалкилсодержащих 3-гидроксиимино-1,5-бензодиазепинов IVа – в, Va, б, нефторированного производного 1,5-бензодиазепина IX и не содержащего гидроксииминную группу трифторметилзамещенного аналога VIII показало, что введение в молекулу атомов фтора и гидратация практически не влияют на туберкулостатическую активность 1,5-бензодиазепи-

Т а б л и ц а 1

Характеристики межмолекулярных и внутримолекулярных водородных связей в кристалле гетероцикла IVб

D-H	A	d(D-H), \AA	d(H...A), \AA	ω D-H...A, град	d(D...A), \AA
N(1A)-H(1A)	O(2) [-x + 1, -y + 2, -z]	0,86(2)	2,23(2)	147,3(1)	2,988 (2)
N(1)-H(1)	O(2A) [-x, -y + 2, -z + 1]	0,89(2)	2,22(2)	149,8(2)	3,018 (2)
O(2)-H(2)	N(2A)	0,89(2)	1,79(2)	167,3(2)	2,667 (2)
O(2A)-H(2A)	N(2) [x, y - 1, z]	1,02(2)	1,66(2)	169,5(2)	2,672 (2)
O(1A)-H(1B)	N(3A)	0,79(2)	2,22(2)	117,2(2)	2,676 (2)
O(1)-H(1C)	N(3)	0,77(3)	2,26(3)	115,8(1)	2,685 (2)



Две кристаллографически независимые молекулы в P21 структуре 2-гидрокси-3-гидроксиимино-4-метил-2-трифторметил-1H-1,5-бензодиазепина (IVб) (атомы второй независимой молекулы несут дополнительный индекс А)

нов, в то время как удаление гидроксиминовой группы и дегидратация 1,2,3,4-тетрагидро-1,5-бензодиазепин-2-онов приводят к резкому понижению противотуберкулезных свойств (табл. 2).

Дополнительно нами были изучены туберкулостатические свойства исходных 2-гидроксиимино-1,3-дикарбонильных соединений Ia, IIб. Они проявляют умеренную активность.

Экспериментальная химическая часть

Чистоту полученных соединений контролировали методом ТСХ на пластинах Sorbfil-UV в хлороформе, проявление в УФ-свете. Температуры плавления определяли в открытых капиллярах на аппарате для определения точки плавления Stuart SMP3 (Великобритания) и на приборе Voetius. ИК-спектры снимали на Фурье-ИК спектрометре Perkin Elmer Spectrum One (Великобритания) в интервале 400 – 4000 см⁻¹ в вазелиновом масле. Спектры ЯМР измерены на спектрометре Bruker DRX-400 (Германия) (¹H: 400 МГц; ¹³C: 100,6 МГц, относительно SiMe₄, ¹⁹F: 376 МГц, относительно C₆F₆). Данные элементного анализа соответствуют вычисленным значениям.

Получение производных 1,5-бензодиазепина IVa – в, Va, б. К смеси 20 ммоль 1,3-дикарбонильного

Таблица 2
Противотуберкулезная активность 3-гидроксиимино-1,5-бензодиазепинов IVa – в, Va, б, VIII, IX и их предшественников 2-гидроксиимино-1,3-дикарбонильных соединений Ia, IIб

Соединение	МИК, мкг/мл
Ia	1,25
IIб	1,25
IVa	0,25
IVб	3,25
IVв	1,25
Va	0,12
Vб	0,18
VIII	3,25
IX	1,62
Изониазид	0,15

соединения (VIa – в, VIIa, б) и 6 мл ледяной уксусной кислоты в 20 мл безводного диэтилового эфира в 3-х горлой колбе прикапывали при охлаждении до 10 °С и при перемешивании 25 ммоль (2,58 г) *трет*-бутилнитрита в 5 мл диэтилового эфира. Затем реакционную массу перемешивали 2 ч при комнатной температуре. Эфирный раствор гидроксимиона (Ia – в, Pa, б) нейтрализовали до pH 7 насыщенным водным раствором бикарбоната натрия, промывали водой, сушили 1 ч над сульфатом магния. Потом к эфирному раствору без дополнительной очистки гидроксимиона добавляли 20 ммоль (2,16 г) III. Реакционную массу нагревали при кипении в течение 3 ч. Эфир упаривали.

Для гетероциклов IVa, Va, б, синтезированных по усовершенствованной вышеописанной методике с выходами 53 – 69 %, не отмечено депрессии температуры плавления пробы смешения с 1,5-бензодиазепинами, полученными нами ранее по методу [4].

2-Гидрокси-3-гидроксиимино-4-метил-2-трифторметил-1H-1,5-бензодиазепин (IVб). Выход 3,72 г (68 %), т. пл. 136 – 137 °С (из этилацетата). ИК-спектр, ν_{\max} , см⁻¹: 3500, 3490, 3340, 1600 (ОН, NH); 1630, 1510, 1480 (C=N, C=C); 1150 – 1210 (C-F). ПМР-спектр (DMCO-d₆), δ , м.д.: 2,31 (с, 3H, Me); 6,18 (с, 1H, NH); 6,99 – 7,2 (м, 4H, C₆H₄); 7,43 (с, 1H, ОН); 12,07 (с, 1H, =N-OH). ЯМР ¹⁹F спектр (DMCO-d₆), δ , м.д.: 83,5 (м, 3F, CF₃). Данные PСA соединения IVв представлены в табл. 3.

2-Гидрокси-3-гидроксиимино-4-метил-2-нонафторбутил-1H-1,5-бензодиазепин (IVв). Выход 4,91 г (58 %), т. пл. 157 – 158 °С (промывали горячим хлороформом). ИК-спектр, ν_{\max} , см⁻¹: 3475, 3345, 2670, 1600

Таблица 3
Основные кристаллографические данные, параметры рентгеноструктурного анализа соединения IVб

Параметр	Значение
Брутто-формула	C ₁₁ H ₁₀ F ₃ N ₃ O ₂
Молекулярная масса	273,22
Сингония	триклинная
Пространственная группа	P-1
a/Å	9,839 (2)
b/Å	9,8946 (13)
c/Å	13,6075 (13)
α /град	79,626 (10)
β /град	71,932 (14)
γ /град	73,530 (16)
V/Å ³	1201,5 (4)
Z	4
$d_{\text{calc}}/\text{г} \cdot \text{см}^{-3}$	1,510
$\mu/\text{мм}^{-1}$	0,137
Угол сканирования, θ /град	2,80 – 26,34
Общее количество отражений	5843
Количество независимых отражений	4868
Количество отражений с $I > 2\sigma(I)$	2745
Число уточняемых параметров	369
$R_1 [I > 2\sigma(I)]$	0,0399
$wR_2 [I > 2\sigma(I)]$	0,0810
R_1 (по всем отражениям)	0,0801
wR_2 (по всем отражениям)	0,0878

(OH, NH); 1625, 1500, 1450 (C=N, C=C); 1170 – 1230 (C-F). ПМР-спектр ((CD₃)₂CO), δ, м.д.: 2,40 (д, ⁶J_{H, F} 0,49 Гц, 3H, Me); 5,48 (с, 1H, NH); 6,31 (д, ⁴J_{H, F} 1,34 Гц, 1H, OH); 6,97 – 7,27 (м, 4H, C₆H₄); 11,39 (с, 1H, =N-OH). ЯМР ¹⁹F спектр ((CD₃)₂CO), δ, м.д.: 38,24 (м, 2F, CF₂); 44,43 (м, 2F, CF₂); 48,40 (м, АВ-система, Δν = 6,98, ²J_{F, F} 280 Гц, 2F, CF₂); 82,98 (м, 3F, CF₃). ЯМР ¹³C спектр ((CD₃)₂CO), δ, м.д.: 24,31 (т, J 1,22 Гц, Me), 99,7 (д.д., ²J_{C, F1} 23,8 Гц, ²J_{C, F2} 20,8 Гц, C₄F₉COH), 124,4, 125,07, 126,8, 127,15 (дд, ¹J_{C, F1} 250,8 Гц, ¹J_{C, F2} 221 Гц, CF¹F²C₃F₇), 127,92, 134, 141,6, 149,97 (д, J 2 Гц, C=NOH), 164,37. C₁₄H₁₀F₉N₃O₂.

Экспериментальная биологическая часть

Изучение туберкулостатической активности производных 1,5-бензодиазепина состояло в определении концентрации, ингибирующей рост культуры лабораторного штамма МБТ Н₃₇Rv и клинического тубазидоустойчивого штамма, при выращивании на жидкой среде Сотона и на плотной желточковой среде “Новая” или яичной среде Левенштейна – Йенсена [9, 10].

Методика эксперимента. Культуру лабораторного штамма взвешивали на торсионных весах и навеску в количестве 10 мг помещали в фарфоровую ступку, тщательно растирали и готовили суспензию культуры по бактериальному стандарту мутности 100 млн микробных тел в 1 мл (10 единиц). Полученную взвесь в количестве 0,2 мл засевали в пробирки с 5 мл питательной среды и исследуемого соединения соответствующего разведения. Пробирки инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 7 – 10 сут. Изучение действия веществ на МБТ проводили параллельно в 3 пробирках на каждую концентрацию.

Рентгеноструктурные исследования

Монокристаллы гетероцикла IVб получены кристаллизацией из метанола. Рентгенодифракционные эксперименты выполнены на дифрактометре “Xcalibur 3 CCD” (λ(MoK_α) = 0,71073 Å, графитовый монохроматор, ω-сканирование, температура 295(2) °К). Учет поглощения не проводился. Кристаллическая структура решена прямыми методами и последующими Фурье-синтезами по программе SHELXS-97 [11]. Структура уточнена МНК в анизотропном полноматричном приближении для всех неводородных атомов по про-

грамме SHELXS-97 [11]. Атомы водорода NH-, OH- и HON= групп решены прямым методом и включены в уточнение независимо в изотропном приближении. Остальные атомы водорода помещены в геометрически рассчитанные положения и включены в уточнение в модели “наездника” в изотропном приближении с зависимыми тепловыми параметрами. Основные кристаллографические данные соединения IVб и некоторые экспериментальные характеристики представлены в табл. 3.¹

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 09-03-00274а), ГК № 02.740.11.0260, интеграционного проекта фундаментальных исследований, выполняемых в УрО РАН “Научные основы создания и разработки лекарственных препаратов природного и синтетического происхождения” (№ 09-И-3-2004).

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. М. Рудой, Т. А. Смаилова, С. К. Марданов, *Проблемы туберкулеза*, № 6, 32 – 35 (1991).
2. В. Е. Smart, *J. Fluor. Chem.*, **109**(1), 3 – 11 (2001).
3. F. M. D. Ismail, *J. Fluor. Chem.*, **118**(1 – 2), 27 – 33 (2004).
4. Я. В. Бургарт, О. Г. Кузюева, М. И. Кодесс, В. И. Салютин, *Журн. орган. химии*, **34**(3), 405 – 410 (1998).
5. G. C. Levy, R. L. Lichter, G. L. Nelson, *Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, Wiley, New York (1980).
6. O. G. Khudina, E. V. Shchegol'kov, Ya. V. Burgart, et al., *J. Fluor. Chem.*, **126**(8), 1230 – 1238 (2005).
7. F. V. Wigton and M. M. Joulie, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 5212 – 5215 (1959).
8. J. A. Barltrop, C. G. Richards, D. M. Russell, and G. Ryback, *J. Chem. Soc.*, No 3, 1132 – 1142 (1959).
9. Т. Н. Яценко, И. С. Мечева, *Руководство по лабораторным исследованиям при туберкулезе*, Медицина, Москва (1973).
10. В. Н. Василев, *Микобактериозы и микозы легких*, Медицина и физкультура, София (1971), с. 377.
11. G. M. Sheldrick, *SHELXS-97, Program for the Solution of Crystal Structure*, University of Göttingen, Germany (1997).

Поступила 09.03.10

¹ Полный набор кристаллографических данных соединения IVб депонирован в Кембриджском банке структурных данных (CCDC 767574) и доступен по адресу www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html (CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).

SYNTHESIS, STRUCTURE, TUBERCULOSTATIC ACTIVITY AND TOXICITY OF FLUOROALKYL-CONTAINING 3-HYDROXYIMINO-1,5-BENZODIAZEPINES

O. G. Khudina¹, Y. V. Burgart¹, M. A. Kravchenko², and V. I. Salutin¹

¹ Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620219 Russia;

² Phthisiopulmonology Research Institute, Ministry of Public Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, 620039 Russia

An improved method for the synthesis of fluoroalkyl-containing 3-hydroxyimino-1,5-benzodiazepines is proposed. According to this, 3-hydroxyimines were obtained via the nitrosation of 1,3-diketones and 3-oxo esters by *tert*-butylnitrite in diethyl ether under acid catalysis conditions. These 3-hydroxyimines were introduced without isolation and additional refinement into the reaction with *ortho*-phenylenediamine. It was found that polyfluoroalkyl-containing 3-hydroxyimino-1,5-benzodiazepin-2-ones and 2-hydroxy-3-hydroxyimino-2-trifluoromethyl-4-phenyl-1H-1,5-benzodiazepine possess high tuberculostatic activity comparable with the activity of isoniazide. The tests for acute toxicity of trifluoromethylated heterocycles showed that they are less toxic than isoniazide.

Key words: Fluoroalkyl-containing 3-hydroxyimino-1,5-benzodiazepines, synthesis, tuberculostatic activity