

С.Д.Фазылов¹, О.А.Нуркенов¹, Е.М.Тажбаев², И.В.Кулаков³,
Т.С.Животова¹, А.Т.Кажмуратова², Ж.Б.Сатпаева²

¹Институт органического синтеза и углекислотной Республики Казахстан, Караганда;

²Карагандинский государственный университет им. Е.А.Букетова;

³Омский государственный университет, Россия

E-mail: iosu8990@mail.ru

Синтез и антибактериальные свойства некоторых производных алкалоида анабазина

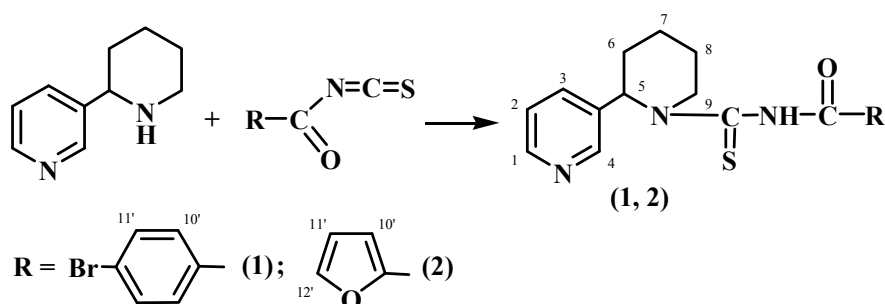
В статье приведены данные по синтезу и изучению антибактериальной активности тиомочевинных, тиазолиновых и тиазиновых производных алкалоида анабазина. Показано, что синтезированное N-аллилтиокарбамидное производное анабазина при нагревании в запаянной стеклянной ампуле в присутствии концентрированной соляной кислоты претерпевает внутримолекулярную гетероциклизацию с образованием 2-N-анабазино-5-метил-1,3-тиазолина. В результате проведенного биоскрининга на антибактериальные свойства установлено, что почти все исследованные соединения в условиях *in vitro* проявляют либо умеренно-выраженную, либо выраженную антимикробную и противогрибковую активность.

Ключевые слова: алкалоид анабазин, тиомочевинные, тиазолиновые, тиазиновые производные анабазина, антибактериальная активность.

Одной из актуальных проблем современной химической науки является поиск методов рационального использования природного растительного сырья и создание на его основе новых биологически активных соединений. В этом отношении особый интерес представляют растительные алкалоиды, занимающие «привилегированное» положение среди природных соединений, что объясняется как своеобразием строения алкалоидов, так и их высокой практической ценностью. Вмешиваясь в структуру природных соединений, синтезированных самой природой в биохимическом процессе жизнедеятельности растений, человек создает новые, порой уникальные химические соединения, которые во многих аспектах оказываются в десятки раз более эффективными и менее токсичными биологически активными соединениями, чем исходные субстраты и уже широко применяются в качестве лекарственных препаратов.

Одним из перспективных синтонов в плане модификации и создания новых БАВ является известный алкалоид — анабазин, который обладает сильными инсектицидным и противотуберкулезным свойствами и все еще полностью не раскрытыми потенциальными перспективами [1]. Поиск новых его синтетических производных с потенциально антибактериальной активностью возможен путем введения в его структуру таких фармакофорных фрагментов, как тиомочевинный, фурановый, тиазолиновый и другие, которые являются структурными звеньями многих антибактериальных препаратов [1–4]. В этой связи нами был осуществлен синтез новых производных алкалоида анабазина с данными фармакофорными фрагментами и изучены их биологические свойства на наличие антибактериальной и противогрибковой активности.

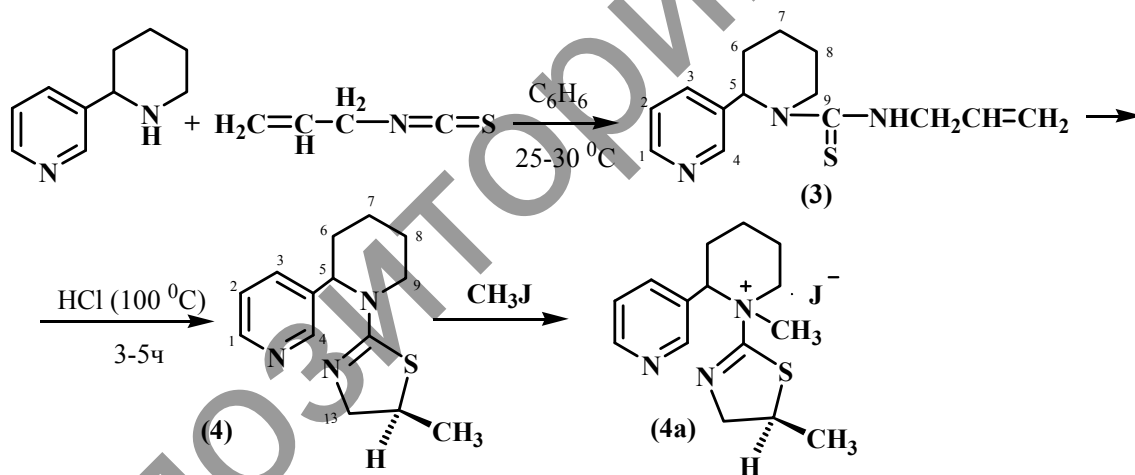
Синтез тиомочевинных производных алкалоида анабазина (1, 2) осуществляли следующим образом. Вначале провели синтез исходных изотиоцианатов из соответствующих хлорангидридов *p*-бромбензойной и 2-фуранкарбоновой кислот при их нагревании с роданистым калием в среде ацетона. Далее образующиеся *in situ* изотиоцианаты запускали в дальнейшее взаимодействие с алкалоидом анабазином по схеме:



Образующиеся целевые продукты (1, 2) представляют собой хорошо кристаллизующиеся белые кристаллические вещества с умеренной растворимостью в органических растворителях.

В ИК-спектрах синтезированных соединений (1, 2) имеется полоса поглощения в области 1545–1535 см^{-1} , характерная для C=S группы, полосы поглощения амидной группы C(O)NH проявляются в области 1687–1689 см^{-1} . При анализе спектров ЯМР ^1H соединений (1, 2) наблюдаются характерные сигналы протонов для алкалоидной части. Так, например, в спектре ЯМР ^1H соединения (2) сигналы протонов пиридинового кольца анабазина прописываются в области слабых полей: синглет протона Н-4 при 8,68 м.д., дублеты протонов Н-1 и Н-3 при 8,51 м.д. и 7,51 м.д. и дублет дублетов протона Н-2 при 7,44 м.д. Сигналы шести метиленовых протонов Н-6, Н-7, Н-8 проявляются в виде сложного мультиплета в области 1,32–2,00 м.д. Метиленовые протоны Н-9 и протон метиновой группы Н-5 пиперидинового кольца проявляются соответственно при 2,60 м.д. (мультиплет) и 3,03 м.д. (триплет) с КССВ $J = 13$ Гц. Протоны ароматического фуранового кольца Н-10, Н-11' и Н-12' резонируют соответственно в виде дублета, дублета дублетов и дублета при 7,98 м.д., 6,71 м.д. и 7,88 м.д. Амидный протон Н-Н проявляется синглетом при 10,79 м.д. Соотношение интегральных интенсивностей отвечает структуре (2).

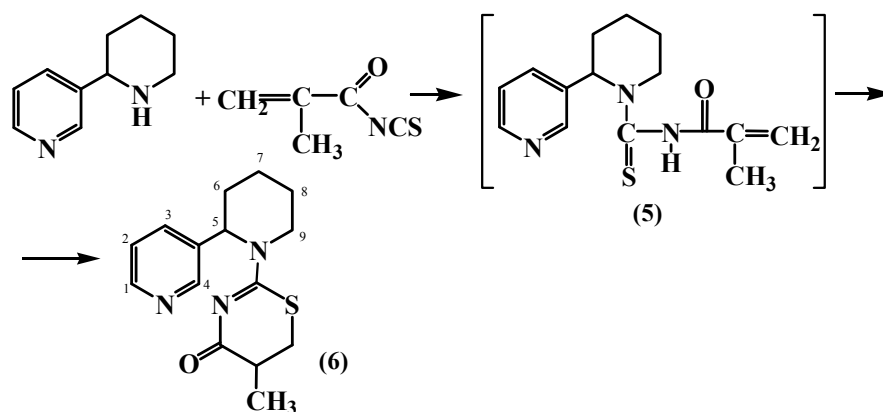
Синтез N-аллилтиокарбамидного производного (3) на основе алкалоида анабазина осуществлен при эквимольном взаимодействии анабазина с аллилизотиоцианатом в спиртовой среде. Далее для нас представляло интерес изучение возможной внутримолекулярной гетероциклизации полученного аллилтиокарбамидного производного (3) в соответствующее 1,3-тиазолиновое производное под действием соляной кислоты. В работе [5] описывается метод получения тиазолиновых гетероциклических производных из соответствующих аллилсодержащих тиомочевин под действием различных реагентов — растворов галогеноводородов и галогенов. Нами установлено, что синтезированное N-аллилтиокарбамидное производное анабазина (3) при его нагревании в течение 5 ч на кипящей водяной бане в запаянной стеклянной ампуле в растворе концентрированной соляной кислоты претерпевает внутримолекулярную гетероциклизацию по схеме:



Установлено, что в результате проведенного кислотного взаимодействия образуется с хорошим выходом производное анабазина с серосодержащим пятичленным гетероциклом — 2-N-анабазино-5-метил-1,3-тиазолин (4), растворимое во многих органических растворителях, кроме предельных углеводородов. Для проведения биоиспытаний на его основе синтезирован его водорастворимый йодметилат 2-N-анабазино-5-метил-1,3-тиазолин (4a).

В спектре ЯМР ^1H соединения (4) сигнал с интегральной интенсивностью одного протона, проявляющийся в виде уширенного дублета в области 5,22 м.д., нами отнесен к экваториальному протону Н-9, который в других исследуемых нами ранее производных анабазина не проявлялся в такой нехарактерной для него слабополевой части спектра. Метиновый протон пиперидинового кольца проявляется в виде триплета, каждый пик которого дополнительно расщеплен дублетами с расстоянием около 3,3 Гц, свидетельствующего о влиянии на него вращения пиридинового и тиазолинового колец относительно пиперидинового.

Аналогичный процесс внутримолекулярной гетероциклизации в соответствующий продукт (6) происходит при взаимодействии алкалоида анабазина с метакрилоилизотиоцианатом в среде ацетона:



Реакция проходит в довольно мягких условиях при температуре 25–30 °С в среде ацетона. Выход и чистота полученного 5-метил-2-(N-анабазинил)-5,6-дигидро-1,3-тиазин-4-она (6) варьировалась в зависимости от скорости и порядка прибавления исходных реагентов. Наиболее высокий выход целевого продукта (6) (41 %) был получен при медленном прикапывании свежеприготовленного ацетонового раствора метакрилоилизотиоцианата к интенсивно перемешиваемому раствору анабазина.

Столь быстрое образование 5-метил-2-(N-анабазинил)-5,6-дигидро-1,3-тиазин-4-она (6) при добавлении метакрилоилизотиоцианата к анабазину, по всей видимости, объясняется тем, что анабазин, находящийся в реакционном растворе в избытке, является довольно сильным основанием и способствует заметному увеличению образования тиольной формы соединения (5), имеющей решающее значение в процессе внутримолекулярной циклизации.

Образование циклического 5-метил-2-(N-анабазинил)-5,6-дигидро-1,3-тиазин-4-она (6) однозначно было доказано отсутствием в спектре ЯМР ¹H метиленовых протонов =CH₂, проявляющихся для аналогичных метакриловых производных двумя дублетами в области 5,70 и 6,00 м.д., а также синглета амидного N-H протона, участвующего в необходимой при циклизации тион-тиольной перегруппировке. Кроме того, в спектре ЯМР ¹H соединения (6) происходит расщепление метильных протонов CH₃ на дублет, свидетельствующее об их взаимодействии с метиновым СН-протоном тиазинового кольца, появляются сигналы метинового и метиленовых протонов в виде мультиплета и двух дублет дублетов, также свидетельствующих в пользу образования соединения (6) по описанной выше схеме циклизации.

Физико-химические константы и данные элементного анализа новых производных анабазина (1–4, 6) представлены в таблице.

Т а б л и ц а

Физико-химические константы и данные элементного анализа соединений (1–4, 6)

№ соед.	Выход, %	T _{пл.} , °С	Найдено, %			Брутто-формула	Вычислено, %		
			С	Н	N		С	Н	N
1	61	82–85	53,71	4,63	10,68	C ₁₈ H ₁₈ BrN ₃ OS	53,47	4,49	10,39
2	45	173–174	61,12	5,58	13,57	C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₂ S	60,93	5,43	13,32
3	92	масло	–	–	–	C ₁₄ H ₁₉ N ₃ S	64,33	7,33	16,08
4	50	100–101	64,77	7,62	16,44	C ₁₄ H ₁₉ N ₃ S	64,33	7,33	16,08
6	41	121–123	62,53	6,96	14,88	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ OS	62,25	6,62	14,52

Синтезированные соединения прошли скрининговые биологические испытания на антибактериальную и противогрибковую активности в МНПХ «Фитохимия» (г. Караганда) и РГКП «Карагандинский областной центр санитарно-эпидемиологической экспертизы» (г. Караганда).

Исследования на антимикробную активность были проведены на следующих соединениях: 4-бром-N-(анабазино-1-карбонотиоил)бензамид (1), N-(анабазино-1-карбонотиоил)фуран-2-карбоксамид (2), 2-N-анабазино-5-метил-1,3-тиазолин (4), йодметилат 2-N-анабазино-5-метил-1,3-тиазолина (4а), йодметилат 2-(N-анабазино)-5-метил-5,6-дигидро-1,3-тиазин-4-она (6).

Изучение антибактериальной и противогрибковой активности вышеуказанных образцов проводилось по отношению к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, к грамотрицательным штаммам *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и к дрожжевому

грибку *Candida albicans* методом диффузии в агар (лунок). Препараты сравнения — гентамицин и бензилпенициллина натриевая соль для бактерий и нистатин для дрожжевого грибка *C. albicans*.

Изучение противогрибковой активности вышеуказанных образцов проводилось по отношению к дрожжевому грибку *Candida albicans* и по отношению к условно-патогенному дрожжевому грибку *Candida sake*, *Candida dubliniensis*, *Candida holmii* методом диффузии в агар (лунок). Препарат сравнения — нистатин.

Антимикробная активность каждого образца оценивалась по диаметру зон задержки роста тест-штаммов (мм). Диаметр зон задержки роста меньше 10 мм и сплошной рост в чашке оценивали как отсутствие антибактериальной активности, 10–15 мм — слабая активность, 15–20 мм — умеренно-выраженная активность, свыше 20 мм — выраженная. Каждый образец испытывался в трех параллельных опытах.

В результате проведенного биоскрининга на антимикробную активность установлено, что почти все исследованные соединения в условиях *in vitro* проявляют либо умеренно-выраженную, либо выраженную антибактериальную и противогрибковую активность. Активность соединений оценивается ниже препарата сравнения — гентамицина (и нистатина для грибов), но выше широко известного антибиотика — бензилпенициллина натриевой соли, различаясь в широте действия относительно некоторых грамположительных (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) и грамотрицательных штаммов (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*).

По результатам проведенных биоиспытаний на антибактериальную активность новых синтезированных производных анабазина показано, что данные соединения могут быть предложены для дальнейших углубленных исследований с целью их использования в качестве лекарственных средств, обладающих антимикробным действием.

Список литературы

- 1 Нуркенов О.А., Фазылов С.Д., Кулаков И.В., Мусина Л.А. Алкалоид анабазин и его производные. — Караганда: Гла-сир, 2010. — 222 с.
- 2 Пинигина Н.М., Самойлова Т.И., Недоля Н.А., Патцеева Н.П., Герасимова В.В. Синтез и иммуномодулирующая активность N-(2-винилоксиэтил)тиомочевин // Хим.-фарм. журн. — 1989. — № 3. — С. 163–165.
- 3 Солдатенков А.Т., Колядина Н.М., Шендрик И.В. Основы органической химии лекарственных веществ. — М.: Химия, 2001. — 192 с.
- 4 Пат. 5190961 США. Производные тиомочевины. Антимикробные и противоязвенные средства на их основе / H.Hirokazu, E.Isamu, K.Shingo, I.Masashi, Y.Yukari, N.Shinegori and A.Norio; опубл. 02.03.93 // РЖХим. — 1995. — 15059П.
- 5 Соколов В.Б., Аксиненко А.Ю., Пушин А.Н., Мартынов И.В. Внутримолекулярная циклизация 1-аллил- и 1-металлил-6-амино-2-тиоурацилов // Изв. АН РФ. — 2005. — № 7. — С. 1694.

С.Д.Фазылов, О.А.Нуркенов, Е.М.Тажбаев, И.В.Кулаков,
Т.С.Животова, А.Т.Қажмұратова, Ж.Б.Сатпаева

Анабазин алкалоидының кейбір туындыларының синтезі мен антибактериалды қасиеттері

Мақалада анабазин алкалоидының тиомочевинді, тиазолинді және тиазинді туындыларының синтездері жүргізіліп, антибактериалдық белсенділіктері анықталды. Анабазиннің синтезделген N-аллилтиокарбамидті туындылары, концентрленген тұз қышқылында, тұйықталған шыны ампулада қыздыру кезінде ішкімолекулалық гетероциклизациялану реакциясына түсіп, 2-N-анабазино-5-метил-1,3-тиазолин түзіледі. Антибактериалдық қасиеттерін анықтау мақсатында жүргізілген биоскрининг нәтижесінде барлық зерттелінген қосылыстардың *in vitro* жағдайында орташа немесе айрықша антимикробты және грибка қарсы белсенділіктері көрсетілді.

S.D.Fazylov, O.A.Nurkenov, E.M.Tazhbayev, I.V.Kulakov,
T.S.Zhivotova, A.T.Kazhmuratova, Zh.B.Satpayeva

Synthesis and antibacterial properties of some derivatives of alkaloid anabasine

The data on synthesis and investigation of antibacterial activity of thiourea, thiazole and thiazine derivatives of alkaloid anabasine are given in the article. It is shown that the anabasine derivative synthesized N-allylthiocarbamide undergoes intramolecular heterocyclic cyclization at heating in the soldered glass ampoule at the presence of concentrated hydrochloric acid, forming 2-N-anabasine-5-methyl-1,3-thiazoline. As a result of bioscreening on antibacterial properties it is established that almost all investigated compounds exhibit either moderate-expressed or expressed antimicrobial and antifungal activity in conditions in vitro.

References

- 1 Nurkenov O.A., Fazylov S.D., Kulakov I.V., Musina L.A. *Alkaloid anabasine and its derivatives*, Karaganda: Glasir, 2010, 222 p.
- 2 Pinigina N.M., Samoilova T.I., Nedolya N.A., Papsheva N.P., Gerasimova V.V. *Chem.-pharm. journal*, 1989, 3, pp. 163–165.
- 3 Soldatenkov A.T., Kolyadina N.M., Shendrik I.V. *Principles of organic chemistry of medicinal substances*, Moscow: Chemistry, 2001, 192 p.
- 4 Hirokazu H., Isamu E., Shingo K., Masashi I., Yukari Y., Shinegori N. and Norio A., Pat. 5190961 USA, publ. 02.03.93, *Abstract journal on chemistry*, 1995. pp. 15059.
- 5 Sokolov V.B., Aksinenko A.J., Pushin A.N., Martynov I.V. *News of the Academy of Sciences of the Russian Federation*, 2005, 7, p. 1694.