

А. В. Великородов¹, В. А. Ионова¹, Е. А. Шустова¹, А. А. Старикова²**СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 4-ФОРМИЛФЕНИЛ-N-ФЕНИЛКАРБАМАТА**¹ Астраханский государственный университет, Россия, Астрахань.² Астраханский государственный медицинский университет, Россия, Астрахань.

Реакциями [3+2]-циклоприсоединения и конденсации на основе 4-формилфенил-N-фенилкарбамата получены новые производные фенилкарбаматов с изоксазольным, нитрофурановым, тиосемикарбазонным, изоникотиноилгидразидным и пиридиновым фрагментами. Изучена их противомикробная активность в отношении музейных штаммов грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* 209-P, *Streptococcus pneumoniae*, грамотрицательных бактерий *E. coli* O18, *Pseudomonas aeruginosa* 165, а также культур *Micrococcus*, выделенных из организма человека. Наиболее активными среди них являются производные с изоксазольным, нитрофурановым и гидразидным фрагментами.

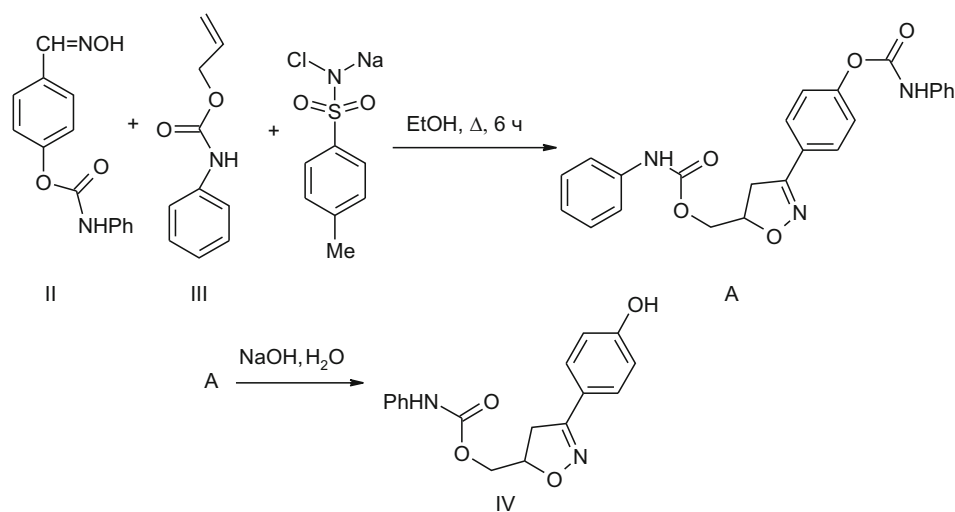
Ключевые слова: реакции циклоприсоединения и конденсации; спиросоединения с карбаматной функцией; противомикробная активность.

В развитие исследований по синтезу биологически активных соединений с карбаматной функцией нами изучена возможность синтеза новых производных N-арилкарбаматов на основе 4-формилфенил-N-фенилкарбамата (альдегид I). Известно, что взаимодействие гидроксизамещенных производных бензальдегида с фенилизоцианатом протекает в разных направлениях в зависимости от взаимного расположения гидрокси- и альдегидной групп в бензольном кольце. Так, продуктом реакции салицилового альдегида с фенилизоцианатом является 2-оксо-3-фенил-3,4-дигидро-2H-1,3-бензоксазин-4-ил-N-фенилкарбамат [1]. В то же время 3(4)-гидроксизамещенные бензальдегиды реагируют с фенилизоцианатом с образованием соответствующих формильных производных фенил-N-фенилкарбаматов [2].

Учитывая значительный синтетический потенциал альдегидной группы нами изучены некоторые реакции функционализации альдегида I.

Хорошо известно, что изоксазолы обладают значительным потенциалом биологической активности, включая противомикробную [3, 4], диуретическую [5], анальгетическую [6], антипротозойную [7] активность и др. В этой связи представляется важным получение новых производных изоксазолов. Важнейшим методом получения этих соединений является реакция 1,3-диполярного циклоприсоединения к алкенам N-оксидов бензонитрила [8], причем наибольший интерес представляет *one pot* вариант этой реакции, в которой в качестве источника 1,3-диполярного соединения используется оксим соответствующего аренкарбальдегида, а в качестве хлорирующего и дегидрохлорирующего реагента — хлорамин Т (N-натрий-N-хлор-4-метилбензолсульфонамид).

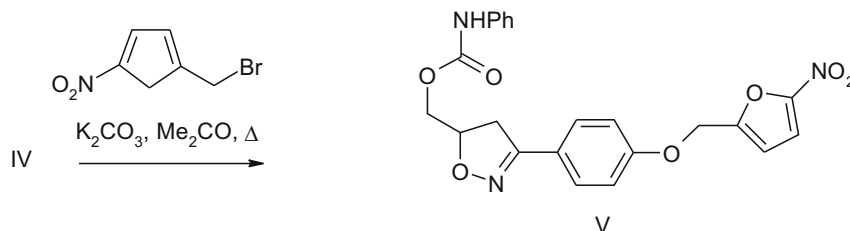
Нами изучена реакция оксима 4-формилфенил-N-фенилкарбамата (оксима II) с аллил-N-фенилкарбаматом (III) в присутствии хлорамина Т при кипячении в этаноле.



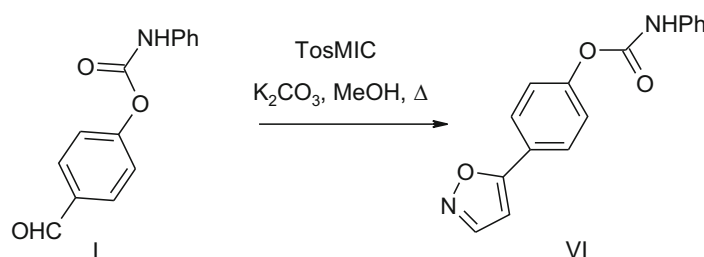
В результате исследования структуры продукта реакции методами ИК, ЯМР ¹H, ¹³C спектроскопии и масс-спектрометрии установлено, что вместо ожидаемого 4-(5-{{(анилинокарбонил)окси}метил}-4,5-дигидроизокса-

золил)фенил-*N*-фенилкарбамата (A) продуктом реакции оказался [3-(4-гидроксифенил)-4,5-дигидроизоксазол-5-ил]метил-*N*-фенилкарбамат (IV). Соединение IV, вероятно, образуется в результате гидролиза по связи O(C=O) соединения A при обработке реакционной массы водной щелочью в процессе выделения продукта реакции. Отметим, что данная процедура является необходимой для удаления 4-толуолсульфонамида от целевого продукта реакции.

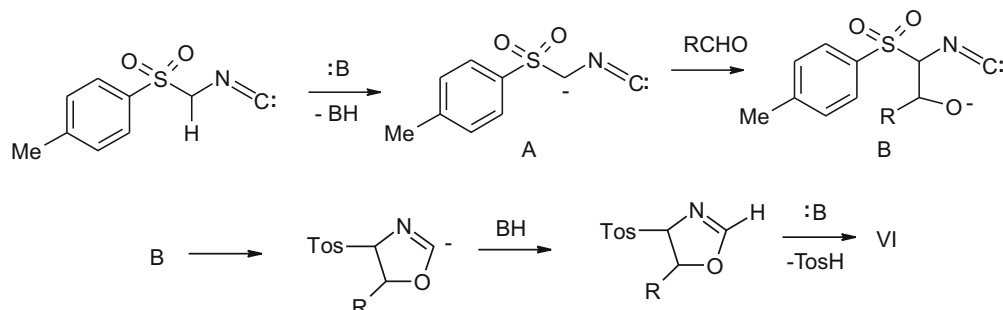
Алкилированием соединения IV 2-(бромметил)-5-нитрофураном в ацетоне в присутствии карбоната калия получен 3-{4-[(5-нитро-2-фурил)метокси]фенил}-4,5-дигидроизоксазол-5-ил]метил-*N*-фенилкарбамат (V), структура которого подтверждена методами ИК, ЯМР ¹H спектроскопии и элементарным анализом.



Изучено циклоприсоединение альдегида I к 1,3-диполярному соединению, которое генерируется из *n*-толуолсульфонилметилизоцианида (TosMIC) под действием основания — карбоната калия при кипячении в метаноле в течение 4 ч. Установлено, что продуктом реакции циклоприсоединения является 5-(5-изоксазолил)фенил-*N*-фенилкарбамат (VI).

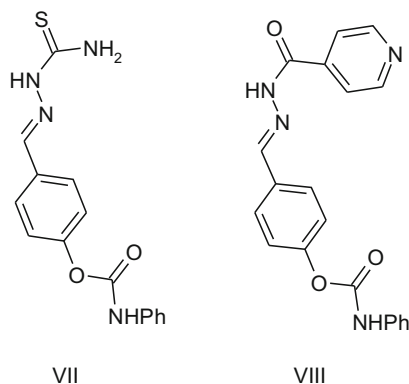


Реакция [3 + 2]-циклоприсоединения по карбонильной группе соединения I, вероятно, протекает по схеме [9], представленной ниже.



Хорошо известно, что тиосемикарбазоны и гидразоны карбонильных соединений обладают широким спектром биологической активности, в том числе проявляют противомикробную [10], противотуберкулезную [11] и противогрибковую [12, 13] активность.

Нами изучены реакции альдегида I с тиосемикарбазидом и гидразидом изоникотиновой кислоты. Реакции проводили путем кипячения эквимольных количеств реагентов в этаноле. Как ожидалось, реакции конденсации альдегида I с нуклеофильными реагентами приводят к получению соответствующих производных (VII, VIII).



Параметры ИК- ПМР-спектров новых соединений

Соединение	ν , см^{-1}	δ , м.д. (J, Гц)
IV	3324 (NH), 1720 (C=O), 1610, 1565, 1539 (C=C _{аром.}), 1201 (OH)	3,20 (д.д, 1H, H ⁴ , J 9,7, 8,5 Гц), 3,43 (д.д, 1H, H ⁴ , J 13,3, 10 Гц), 4,50 (т, 1H, OCH ₂ , J 4,0 Гц), 4,70 (д, 1H, OCH ₂ , J 4,0 Гц), 4,82 – 4,88 (м, 1H, H ⁵), 6,59 (уш. с, 1H, OH), 7,05 (т, 1H, H _{аром.} , J 7,9 Гц), 7,19 – 7,27 (м, 4H, H _{аром.}), 7,35 (д, 2H, H _{аром.}), 7,83 (д, 2H, H _{аром.} , J 8,5 Гц), 9,94 (с, 1H, NH).
V	3324 (NH), 1720 (C=O), 1610, 1590, 1565 (C=C _{аром.}), 1545, 1360 (NO ₂)	3,21 (д.д, 1H, H ⁴ , J 9,7, 8,5 Гц), 3,45 (д.д, 1H, H ⁴ , J 13,3, 10 Гц), 4,52 (т, 1H, OCH ₂ , J 4,0 Гц), 4,70 (д, 1H, OCH ₂ , J 4,0 Гц), 4,82 – 4,88 (м, 1H, H ⁵), 5,14 (с, 2H, ArOCH ₂), 6,77 – 6,89 (м, 4H, H _{аром.}), 7,04 (т, 1H, H _{аром.} , J 7,9 Гц), 7,20 (т, 2H, H _{аром.} , J 8,7 Гц), 7,34 (д, 2H, H _{аром.} , J 8,7 Гц), 7,85 (д, 2H, H _{аром.} , J 8,4 Гц), 9,94 (с, 1H, NH).
VI	3340 (NH), 1720 (C=O), 1610, 1575, 1545 (C=C _{аром.})	6,65 (д, 1H, H ⁴ , J 1,8 Гц), 6,92 (т, 1H, H _{аром.} , J 7,9 Гц), 7,21 – 7,29 (м, 4H, H _{аром.}), 7,40 (д, 2H, H _{аром.} , J 7,9 Гц), 7,54 (д, 2H, H _{аром.} , J 8,5 Гц), 8,12 (д, 1H, H ³ , J 1,8 Гц), 9,94 (с, 1H, NH).
VII	3335, 3310 (NH), 3420 (NH ₂), 1710, (C=O), 1630 (C=N), 1610, 1585, 1565, 1500 (C=C _{аром.}), 1120 (C=S)	6,96 (т, 1H, H _{аром.} , J 7,9 Гц), 7,23 (т, 2H, H _{аром.} , J 7,9 Гц), 7,40 – 7,51 (м, 6H, H _{аром.}), 8,32 (с, 1H, CH=N), 8,53 (уш. с, 1H, NH ₂), 8,66 (с, 1H, NH ₂), 9,94 (с, 1H, NH), 12,11 (1H, NH).
VIII	3320, 3310 (NH), 1710, 1670 (C=O), 1630 (C=N), 1610, 1575, 1565 (C=C _{аром.})	6,95 (т, 1H, H _{аром.} , J 7,9 Гц), 7,23 (т, 2H, H _{аром.} , J 7,9 Гц), 7,37 – 7,41 (м, 4H, H _{аром.}), 7,51 (д, 2H, H _{аром.} , J 8,9 Гц), 8,40 (д, 2H, H _{аром.} , J 5,1 Гц), 9,1 (д, 2H, H _{аром.} , J 5,1 Гц), 9,31 (с, 1H, CH=N), 9,94 (с, 1H, NH), 12, 10 (1H, NH).
IX	3310 – 3360 (NH), 2265 (C≡N), 1710, (C=O), 1620, 1575, 1565 (C=C _{аром.})	3,70 (с, 3H, NHCO ₂ Me), 6,69 (с, 1H, H ⁵), 6,94 (т, 1H, H _{аром.} , J 7,4 Гц), 7,27 – 7,34 (м, 4H, H _{аром.}), 7,60 – 7,67 (м, 4H _{аром.}), 7,75 (д, 2H, H _{аром.} , J 8,0 Гц), 8,20 (д, 2H, H _{аром.} , J 8,5 Гц), 8,95 (с, 2H, 2NH), 9,58 (с, 1H, NH), 9,94 (с, H, NH).
X	3310 – 3360 (NH), 2265 (C≡N), 1710, 1690 (C=O), 1610, 1575, 1560 (C=C _{аром.})	3,71 (с, 3H, NHCO ₂ Me), 6,92 – 6,96 (м, 2H, H ⁵ , H _{аром.}), 7,22 – 7,26 (м, 4H, H _{аром.}), 7,40 (д, 2H, H _{аром.} , J 8,7 Гц), 7,62 (д, 2H, H _{аром.} , J 7,9 Гц), 7,72 (д, 2H, H _{аром.} , J 8,7 Гц), 7,80 (д, 2H, H _{аром.} , J 7,9 Гц), 8,51 (с, 1H, NH), 9,62 (с, 1H, NH), 9,93 (с, 1H, NH).

4-**{2-Изоникотиноилгидразоно}метил}фенил-N-фенилкарбамат (VIII)** получают по приведенной выше методике взаимодействием 6,05 г (0,025 моль) альдегида I и 3,43 г (0,025 моль) гидразида изоникотиновой кислоты. Выход 8,3 г (92 %), бесцветные кристаллы, т. пл. 223 – 224 °С (из диоксана). C₂₀H₁₆N₄O₃.

Метил-N-[4-(4-{4-[(анилинокарбонил)окси]фенил}-5-циано-6-имино-1,6-дигидро-2-пиридинил)фенил]-карбамат (IX). Смесь 0,97 г (5 ммоль) метил-N-(4-ацетилфенил)карбамата, 0,3 г (5 ммоль) малонитрила, 1,24 г (40 ммоль) безводного ацетата аммония и 1,21 г (5 ммоль) альдегида I в 10 мл 1-бутанола кипятят 5 ч, осуществляя контроль за ходом реакции методом ТСХ. Выпавший в ходе реакции осадок отфильтровывают после охлаждения реакционной массы, сушат на воздухе и перекристаллизовывают из этанола. Получают 2,1 г (86 %), кристаллы желтого цвета, т. пл. 135 – 137 °С. C₂₇H₂₁N₅O₄.

Таблица 2

Противомикробная активность производных 4-формилфенил-N-фенилкарбаматов IV – X и сульфата гентамицина

Соединение	ДЗЗР, мм									
	<i>St. aureus</i> 209-P	<i>Td</i>	<i>St. pneumo-niae</i>	<i>Td</i>	<i>E. coli</i> O18	<i>Td</i>	<i>Ps. aeruginosa</i> 165	<i>Td</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Td</i>
IV	25 ± 0,2*	10,2	31 ± 1,3*	8,9	17 ± 1,7*	7,2	27 ± 2,4**	1,6	19 ± 2,4*	8,0
V	44 ± 0,5**	2,4	43 ± 3,2***	4,1	32 ± 1,4***	6,4	37 ± 2,4***	2,4	27 ± 2,6**	5,0
VI	37 ± 0,5*	2,5	44 ± 0,9***	4,5	27 ± 2,4**	4,1	34 ± 1,7	0	18 ± 3,1*	7,8
VII	16 ± 2,7*	2,3	15 ± 2,4*	9,7	15 ± 0,8*	7,6	18 ± 0,8*	5,9	19 ± 2,3*	8,1
VIII	37 ± 0,5*	2,4	42 ± 0,9***	2,2	22 ± 2,8**	0	19 ± 2,1*	6,3	14 ± 2,7	8,4
IX	14 ± 2,4*	9,4	17 ± 2,6*	6,9	10 ± 1,8*	9,8	16 ± 2,1*	7,2	10 ± 1,5*	12,9
X	10 ± 0,2*	20,4	29 ± 0,5*	9,9	11 ± 1,1*	8,7	15 ± 2,7*	3,3	0	
Гентамицина сульфат	42 ± 1,4		40 ± 0,7		22 ± 0,4		34 ± 0,6		37 ± 0,9	

* Достоверно ниже активности стандартного антибиотика ($Td > 7,4$);
 ** недостоверно отличается от стандартного антибиотика ($Td < 2,2$);
 *** достоверно превышает по активности стандартный антибиотик ($Td > 4,3$).

Минимальные ингибирующие концентрации производных 4-формилфенил-*N*-фенилкарбаматов IV – VIII (мкг/мл) и сульфата гентамицина

Соединение	МИК, мкг/мл							
	<i>St. aureus</i> 209-P	Td	<i>St. pneumoniae</i>	Td	<i>E. coli</i> O18	Td	<i>Ps. aeruginosa</i> 165	Td
IV	15,6 ± 1,5*	17	15,6 ± 1,3*	16,2	31,2 ± 0,7	32,5	15,6 ± 0,5*	13,0
V	3,9 ± 0,8*	2,2	3,9 ± 0,3*	1,7	7,8 ± 0,2*	13,1	7,8 ± 0,3*	7,2
VI	7,8 ± 0,1	21,0	7,8 ± 0,2	10,3	7,8 ± 0,1	9,1	31,2 ± 0,8*	25,1
VII	31,2 ± 0,8	27,6	62,4 ± 1,2	57,7	31,2 ± 1,1	25,9	124,8 ± 0,15	39,9
VIII	7,8 ± 0,8	3,1	7,8 ± 0,2	10,2	7,8 ± 0,7	10,4	31,2 ± 0,5	27,4
Гентамицина сульфат	4,9 ± 0,1		4,9 ± 0,2		4,9 ± 0,1		4,9 ± 0,3	

* МИК соединения недостоверно отличается от стандартного антибиотика.

Метил-*N*-[4-(4-{4-[(анилинокарбонил)окси]фенил}-6-оксо-5-циано-1,6-дигидро-2-пиридинил)фенил]-карбамат (X) получают по приведенной выше методике взаимодействием 0,97 г (5 ммоль) метил-*N*-(4-ацетилфенил)карбамата, 0,58 мл (5 ммоль) этилцианоацетата, 1,24 г (40 ммоль) безводного ацетата аммония и 1,21 г (5 ммоль) альдегида I в 10 мл 1-бутанола. Выход 1,2 г (85 %), кристаллы светло-желтого цвета, т. пл. 145 – 147 °С (из этанола). C₂₇H₂₀N₄O₅.

Экспериментальная биологическая часть

Противомикробную активность соединений IV – X изучали в отношении музейных штаммов грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* 209-P, *Streptococcus pneumoniae*, грамотрицательных бактерий *E. coli* O18, *Pseudomonas aeruginosa* 165, а также культур *Micrococcus*, выделенных из организма человека [15]. Наличие антибактериальных свойств определяли *in vitro* методом прямой диффузии в питательную среду — мясопептонный агар, предварительно засеянную тест-культурой с содержанием микробных тел 10⁵ в 1 мл изотонического раствора. Исследуемые соединения вносили в лунки питательной среды по 25 мкл в концентрациях 1 мг/мл в диметилсульфоксиде (ДМСО). После внесения растворов соединений микроорганизмы культивировали при (37 ± 1) °С. Оценку результатов чувствительности к соединениям осуществляли измерением диаметра зоны задержки роста (ДЗР) микроорганизмов вокруг лунки (с точностью ± 1 мм) [16]. Препаратом сравнения служил раствор гентамицина сульфата в ДМСО в дозе активности 40 мг/мл. Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) соединений в мкг/мл определяли методом двукратных серийных разведений в растворе ДМСО, при котором каждое последующее разведение уменьшало дозу активного вещества в 2 раза [17]. Результаты подвергались статистической обработке. Установлено, что все исследуемые соединения IV – X проявляют противомикробное действие, выраженное в различной степени (табл. 2).

Данные, представленные в табл. 2, приведены с учетом вычитания результатов противомикробной активности раствора ДМСО (растворитель). Наибольшей активностью по отношению к штаммам музейных тест-культур обладают соединения IV – VII, которые имеют активность, подобную тест-антибиотику (V — в отношении *St. aureus* 209-P; V, VI, VIII — в отношении *E. coli* O18, *St. pneumoniae*; V, VI — в отношении *Ps. aeruginosa* 165). У соединений, имеющих изоксазольный и изоникотилгидразидный фрагмент, МИК составляет 3,9 – 15,6 мкг/мл, что сравнимо с уровнем активности гентамицина сульфата — 4,9 мкг/мл или немного уступает ему (табл. 3).

ЛИТЕРАТУРА

1. G. Bobowski, J. Shavel, *J. Org. Chem.*, **32**(4), 953 – 959 (1967).
2. D. Habibi, M. A. Zolfigol, M. Safae, *J. Chem.*, 1 – 6, Article ID 4959821 (2013).
3. A. V. Velikorodov, L. T. Sukhenko, *Khim.-farm. Zh.*, **37**(1), 24 – 26 (2003).
4. T. Naqvi, K. K. Kapoor, R. L. Sharma, *Indian J. Chem.*, **49B**(9), 1282 – 1289.
5. V. L. Giranda, G. R. Russo, P. J. Felock, et al., *Acta Crystallogr.*, **D51**, 496 – 503 (1995).
6. R. Honna, K. Ogawa, M. Tanaka, et al., *Jpn. Kokai.*, **14**, 968 – 975 (1979).
7. Y. Dürüst, C. Altuğ, M. Kaiser, et al., *Monatsh. Chem.*, **144**, 707 – 716 (2013).
8. A. V. Velikorodov and V. B. Mochalin, *Rus. J. Org. Chem.*, **37**(1), 83 – 86 (2001).
9. B. A. Anderson, L. M. Becke, R. N. Booher, et al., *J. Org. Chem.*, **62**(25), 8634 – 8639 (1997).
10. T. Govindasami I, A. Pandey, N. Palanivelu, A. Pandey, *IJOCC*, **1**, 71 – 77 (2011).
11. M. Singh, N. Raghav, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, **3**(4), 26 – 32 (2011).
12. E. Pahontu, V. Fala, A. Gulea, et al., *Molecules*, **18**, 8812 – 8836 (2013).

13. R. Narang, B. Narasimhan, S. Sharma, et al., *Med. Chem. Res.*, **21**(8), 1557 – 1576 (2012).
14. А. В. Великородов, В. А. Ионова, С. И. Темирбулатова и др., *Изв. вузов. Химия и хим. технол.*, **56**(2), 26 – 29 (2013).
15. И. Н. Белянин, С.Г. Сафонова, *Пробл. туберкул.*, № 2, 48 – 49 (1999).
16. А. С. Лабинская, *Микробиология с техникой микробиологических исследований*, Медицина, Москва (1972).
17. А. Г. Хоменко, *Пробл. туберкул.*, № 8, 53 – 57 (1988).

Поступила 18.01.15

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF 4-FORMYLPHENYL-N-PHENYLCARBAMATE DERIVATIVES

A. V. Velikorodov¹, V. A. Ionova¹, E. A. Shustova¹, and A. A. Starikova²

¹ Astrakhan State University, Astrakhan, 414056 Russia

² Astrakhan State Medical University, Astrakhan, 414024 Russia

We have used the reactions of [3+2]-cycloaddition and condensation involving 4-formylphenyl-N-phenylcarbamate derivatives to obtain new phenylcarbamates with isoxazole, nitrofurans, thiosemicarbazones, isonicotinoylhydrazide and pyridine moieties. The synthesized compounds were studied for their antimicrobial activity against Gram-positive bacterial museum strains of *Staphylococcus aureus* 209-P and *Streptococcus pneumoniae*, Gram-negative bacteria *E. coli* O18 and *Pseudomonas aeruginosa* 165, as well as cultures of *Micrococcus* isolated from the human organism. The most active among these compounds were the isoxazole derivatives and those containing nitrofurans and isonicotinoylhydrazide fragments.

Keywords: cycloaddition reaction; condensation reaction; spiro compounds; 4-formyl-N-phenylcarbamate derivatives; isoxazole; nitrofurans; isonicotinoylhydrazide; thiosemicarbazones; pyridine; antimicrobial activity.