

Н. М. Чернов, А. С. Кошевенко, И. П. Яковлев, Е. П. Ананьева,  
Г. В. Ксенофонтова, А. Е. Щеголев

## СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 4-ГИДРОКСИ-2-[5-НИТРОФУРАН(ТИОФЕН)-2-ИЛ]-6Н-1,3-ОКСАЗИН-6-ОНОВ

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, Россия, 197376,  
ул. проф. Попова, 14, лит. А, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: nikita.chernov@pharminnotech.com

Получены новые 4-гидрокси-6Н-оксазин-6-оны, содержащие в положении 2 нитрофурильный и нитротииофеновый фрагменты. Взаимодействием этих оксазинов с моно- (этанол) и бинуклеофильными (фенилгидразин) реагентами синтезированы новые производные нитрофурана и тииофена. Показано, что синтезированные соединения обладают выраженным бактерицидным эффектом в отношении золотистого стафилококка и, в ряде случаев, кишечной палочки.

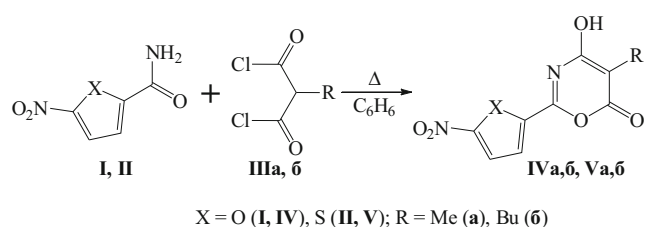
**Ключевые слова:** 1,3-оксазин; малонамовая кислота; 1,2,4-триазол; нитрофуран; нитротииофен; противомикробная активность.

Производные нитрофурана представляют собой класс химиотерапевтических препаратов с широким спектром антибактериального действия [1]. Современные исследования противомикробных соединений ряда нитрофурана основаны на введении 5-нитрофуран-2-ильного заместителя в структуру арилгидразонов, азотсодержащих гетероциклических соединений [2 – 5] и модификации, таким образом, их биологической активности. Несомненный интерес представляют и S-аналоги нитрофуранов — производные нитротииофена, многие из которых также обладают антибактериальной активностью [6 – 8].

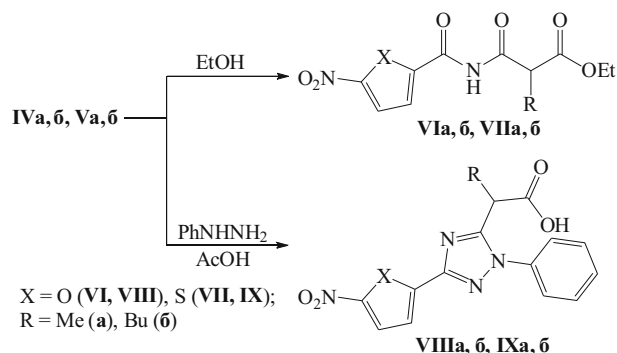
Ранее нами показано [9 – 11], что 2,5-замещенные 4-гидрокси-1,3-оксазин-6-оны являются полифункциональными электронодефицитными системами, которые при взаимодействии с нуклеофильными реагентами приводят к образованию различных ациклических и гетероциклических систем. В продолжение данных исследований мы синтезировали ряд производных 4-гидрокси-1,3-оксазин-6-онов, содержащих в положении 2 гетероцикла нитрофурильный и нитротииофенильный заместитель, и изучили их антимикробную активность.

Синтез целевых 4-гидрокси-1,3-оксазин-6-онов **IVa, б, Va, б** осуществляли взаимодействием 5-нитрофуран(ттиофен)-2-карбамидов **I, II** с метил(бутил)малонилхлоридами **IIIa, б**. Выход оксазинов **IVa, б, Va, б** составил 71 – 93 %. Состав и строение соединений **IVa, б, Va, б** подтвержден данными элементного анализа и спектроскопии ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C (табл. 1 и 2).

Так, в спектре ЯМР <sup>1</sup>H соединения **IVa** обнаруживаются синглет протонов метильной группы ( $\delta$  1,78 м.д.) и дублеты протонов нитрофуранового цикла ( $\delta$  7,66 и 7,84 м.д., J 4,0 Гц). Гидроксигруппа в положении 4 оксазина представлена уширенным синглетом ( $\delta$  12,97 м.д.). В спектре ЯМР <sup>13</sup>C характеристичными являются сигналы атомов углерода C<sup>5</sup> ( $\delta$ <sub>C</sub> 89,7 м.д.), C<sup>2</sup>, C<sup>4</sup>, C<sup>6</sup> ( $\delta$ <sub>C</sub> 153,9, 161,5 и 165,9 м.д.) оксазинового цикла.



Далее нами исследованы реакции синтезированных оксазинов **IVa, б, Va, б** с нуклеофильными реагентами, в качестве которых использованы этанол и фенилгидразин. Взаимодействие оксазинов **IVa, б, Va, б** и этанола протекает с раскрытием цикла по связи C<sup>6</sup>-O и с выходом 86 – 94 % приводит к этиловым эфирам N-ацилмалонамовых кислот **VIa, б, VIIa, б**.



Реакция фенилгидразина с оксазинами **IVa, б, Va, б** сопровождалась расщеплением оксазинового цикла по связи C<sup>2</sup>-O с последующим замыканием триазольного цикла, в качестве продуктов реакции с выходами 58 – 71 % выделены производные 1,2,4-триазола **VIIIa, б** и **IXa, б**. Состав и строение продуктов взаимодействия оксазинов **IVa, б, Va, б** с нуклеофильными реагентами доказаны данными элементного анализа и спектроскопии ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C (табл. 1 и 2).

В спектрах ЯМР <sup>1</sup>H соединений **VIa** и **IXa** помимо сигналов ароматических протонов характеристичными сигналами являются дублет ( $\delta$  1,31 – 1,54 м.д.) и квартет ( $\delta$  4,05 – 4,08 м.д.) группы CH<sub>3</sub>CH, которым в углеродных спектрах соответствуют сигналы с хими-

## Характеристики соединений IV – IXa, б

Соединение	X	R	Выход, %	$T_{пл}$ , °C	Брутто-формула
IVa	O	Me	85	219 – 220	$C_9H_6N_2O_6$
IVб	O	Bu	71	201 – 203	$C_{12}H_{12}N_2O_6$
Va	S	Me	93	241 – 242	$C_9H_6N_2O_5S$
Vб	S	Bu	79	233 – 235	$C_{12}H_{12}N_2O_5S$
VIa	O	Me	89	109 – 111	$C_9H_8N_2O_7$
VIб	O	Bu	86	98 – 99	$C_{12}H_{14}N_2O_7$
VIIa	S	Me	94	115 – 117	$C_9H_8N_2O_6S$
VIIб	S	Bu	91	102 – 103	$C_{12}H_{14}N_2O_6S$
VIIIa	O	Me	58	106 – 108	$C_{15}H_{14}N_4O_6$
VIIIб	O	Bu	65	97 – 98	$C_{18}H_{20}N_4O_6$
IXa	S	Me	64	93 – 95	$C_{15}H_{14}N_4O_5S$
IXб	S	Bu	71	89 – 90	$C_{18}H_{20}N_4O_5S$

ческими сдвигами  $\delta_C$  14,4 – 16,1 и 48,1 – 49,1 м.д. В слабом поле спектра ЯМР  $^{13}C$  соединения VIa наблюдается 3 сигнала карбонильных атомов углерода ( $\delta_C$  155,5, 169,7 и 170,7 м.д.). В спектре ЯМР  $^{13}C$  триазолоуксусной кислоты IXa характерными являются

сигналы атомов углерода триазольного цикла ( $\delta_C$  155,4 и 157,3 м.д.).

## Экспериментальная химическая часть

Спектры ЯМР  $^1H$  и  $^{13}C$  растворов синтезированных соединений в ДМСО- $d_6$  зарегистрированы на спектрометре Bruker Advance III ( $^1H$  — 400 МГц,  $^{13}C$  — 100 МГц) с использованием остаточного сигнала недеутерированного растворителя как внутреннего стандарта. Элементный анализ выполнен на приборе LECO CHNS-932. Данные элементного анализа соответствуют вычисленным. Температуры плавления соединений определяли капиллярным методом и не корректировали. Тонкослойную хроматографию (ТСХ) для доказательства индивидуальности соединений и полноты прохождения реакции выполняли на пластинках Silicagel 60 F254 (Merck), этилацетат как элюент, проявление в УФ свете. Растворители очищали и сушили обычными методами.

**4-Гидрокси-5-метил-2-(5-нитро-2-фурил)-6H-1,3-оксазин-6-он (IVa).** Смесь 3,1 г (20 ммоль) 5-нитро-

Таблица 2

Спектры ЯМР  $^1H$  и  $^{13}C$  (ДМСО- $d_6$ ) соединений IV – IXa, б

Соединение	Спектр ЯМР $^1H$ , $\delta$ , м.д., J, Гц	Спектр ЯМР $^{13}C$ , $\delta_C$ , м.д.
IVa	1,78 (с, 3H, $CH_3$ ), 7,66 (д, 1H, J 4,0 Гц, Het), 7,84 (д, 1H, J 4,0 Гц, Het), 12,97 (уш. с, 1H)	8,7, 89,7, 113,7, 118,5, 144,1, 148,6, 153,9, 161,5, 165,9
IVб	0,87 (т, 3H, J 6,8 Гц, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 1,30 (м, 4H, $CH_3(CH_2)_2CH_2$ ), 2,30 (т, 2H, J 7,3 Гц, $CH_3(CH_2)_2CH_2$ ), 7,65 (д, 1H, J 4,0 Гц, Het), 7,86 (д, 1H, J 4,0 Гц, Het), 12,90 (уш. с, 1H)	14,1, 22,2, 29,1, 30,2, 90,0, 113,6, 118,4, 144,3, 148,8, 153,9, 161,6, 165,9
Va	1,80 (с, 3H, $CH_3$ ), 7,83 (д, 1H, J 3,5 Гц, Het), 8,14 (д, 1H, J 3,5 Гц, Het), 12,67 (уш. с, 1H)	8,7, 92,0, 130,7, 131,4, 139,3, 154,5, 156,1, 161,2, 165,2
Vб	0,87 (т, 3H, J 7,0 Гц, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 1,26 – 1,42 (м, 4H, $CH_3(CH_2)_2CH_2$ ), 2,26 (т, 2H, J 7,3 Гц, $CH_3(CH_2)_2CH_2$ ), 7,80 (д, 1H, J 4,3 Гц, Het), 8,12 (д, 1H, J 4,3 Гц, Het), 12,57 (уш. с, 1H)	14,2, 22,4, 22,9, 29,8, 96,5, 130,6, 131,4, 139,3, 154,5, 156,3, 160,8, 165,2
VIa	1,18 (т, 3H, J 7,0 Гц, $\overline{CH_3CH_2}$ ), 1,31 (д, 3H, $\overline{CH_3CH}$ ), 4,03 – 4,11 (м, 3H, $\overline{CH_3CH_2}$ , $\overline{CH_3CH}$ ), 7,76 (м, 2H, Het), 11,63 (с, 1H)	13,7, 14,4, 48,1, 61,2, 113,7, 119,3, 146,4, 153,0, 155,5, 169,7, 170,7
VIб	0,87 (т, 3H, J 6,5 Гц, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 1,18 (т, 3H, J 7,0 Гц, $\overline{CH_3CH_2}$ ), 1,30 (м, 4H, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 1,82 (м, 2H, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 4,11 (м, 3H, $\overline{CH_3CH_2}$ , $\overline{CH}$ ), 7,80 (м, 2H, Het), 11,59 (с, 1H)	14,2, 14,4, 22,4, 28,2, 29,5, 53,4, 61,2, 113,5, 119,4, 146,2, 153,0, 155,8, 169,6, 170,6
VIIa	1,17 (т, 3H, J 7,0 Гц, $\overline{CH_3CH_2}$ ), 1,34 (д, 3H, $\overline{CH_3CH}$ ), 4,04 – 4,14 (м, 3H, $\overline{CH_3CH_2}$ , $\overline{CH_3CH}$ ), 8,16 (м, 2H, Het), 11,68 (с, 1H)	13,7, 14,4, 48,1, 61,2, 130,4, 131,3, 143,9, 155,4, 160,1, 170,5, 171,5
VIIб	0,86 (т, 3H, J 6,3 Гц, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 1,16 (т, 3H, J 7,0 Гц, $\overline{CH_3CH_2}$ ), 1,30 (м, 4H, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 2,06 (м, 2H, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 4,10 (м, 3H, $\overline{CH_3CH_2}$ , $\overline{CH}$ ), 8,14 (м, 2H, Het), 11,67 (с, 1H)	14,1, 14,4, 22,4, 28,2, 29,5, 53,4, 61,2, 130,3, 131,3, 143,9, 155,3, 160,0, 169,6, 170,6
VIIIa	1,54 (т, 3H, J 7,0 Гц, $\overline{CH_3CH}$ ), 4,08 (кв, 1H, J 7,0 Гц, $\overline{CH_3CH}$ ), 7,40 (д, 1H, J 3,8 Гц, Het), 7,64 (м, 5H, Ph), 7,87 (д, 1H, J 3,8 Гц, Het), 13,00 (уш. с, 1H)	16,1, 49,1, 113,1, 115,1, 126,0, 130,2, 130,4, 136,8, 148,2, 152,1, 152,4, 157,2, 172,1
VIIIб	0,79 (т, 3H, J 6,9 Гц, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 1,17 (м, 4H, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 2,01 (м, 2H, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 3,89 (дд, 1H, J 6,3, 8,5 Гц, CH), 7,40 (д, 1H, J 4,0 Гц, Het), 7,63 (м, 5H, Ph), 7,86 (д, 1H, J 4,0 Гц, Het), 13,07 (уш. с, 1H)	14,1, 22,2, 29,1, 30,2, 43,0, 113,1, 115,1, 126,2, 130,3, 130,5, 136,6, 148,2, 152,2, 152,6, 156,4, 171,3
IXa	1,53 (т, 3H, J 7,3 Гц, $\overline{CH_3CH}$ ), 4,04 (кв, 1H, J 7,3 Гц, $\overline{CH_3CH}$ ), 7,62 (м, 5H, Ph), 7,70 (д, 1H, J 4,3 Гц, Het), 8,15 (д, 1H, J 4,3 Гц, Het), 13,02 (уш. с, 1H)	16,1, 49,2, 126,0, 126,2, 130,2, 130,3, 131,3, 136,8, 140,7, 151,0, 155,4, 157,3, 172,1
IXб	0,92 (т, 3H, J 6,8 Гц, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 1,36 (м, 4H, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 1,88 (м, 2H, $\overline{CH_3(CH_2)_2CH_2}$ ), 3,85 (т, 1H, J 7,3 Гц, CH), 7,64 (м, 5H, Ph), 7,74 (д, 1H, J 4,2 Гц, Het), 8,14 (д, 1H, J 4,2 Гц, Het), 13,01 (уш. с, 1H)	14,1, 22,1, 29,2, 30,2, 43,3, 125,9, 126,3, 130,1, 130,3, 131,4, 136,8, 140,8, 151,3, 155,1, 157,2, 172,0

фуран-2-карбамида **I** и 3,9 г (25 ммоль) метилмалонилхлорида **IIIa** в 20 мл бензола кипятят в течение 2–3 ч. После охлаждения реакционной массы желтые кристаллы продукта отфильтровывают, промывают бензолом и сушат на воздухе. Выход оксазина **IVa** 4,0 г (85 %).

Оксазины **IVb** и **Va, б** получают аналогично.

**Этил-2-метил-3-[(5-нитро-2-фурил)амино]-3-оксопропаноат (VIa)**. Раствор 2,4 г (10 ммоль) оксазина **IVa** в 10 мл этанола кипятят в течение 1–2 ч. Окончательные реакции контролируют с помощью ТСХ. Выпавший осадок продукта отфильтровывают, промывают холодным этанолом и сушат на воздухе. Выход эфира **VIa** 2,3 г (89 %).

Этиловые эфиры **VIb** и **VIIa, б** получают аналогично.

**2-[3-(5-Нитрофуран-2-ил)-1-фенил-1H-1,2,4-триазол-5-ил]пропановая кислота (VIIIa)**. Смесь 1,2 г (5 ммоль) оксазина **IVa** и 0,7 г (6 ммоль) фенилгидразина в 10 мл метанола перемешивают при температуре 18–20 °С в течение 24 ч. Контроль хода реакции осуществляют по ТСХ. Желтые призмы продукта отфильтровывают, промывают метанолом и сушат на воздухе. Выход триазола **VIIIa** 1,0 г (58 %).

Триазолы **VIIIb** и **IXa, б** получают аналогично.

#### Экспериментальная биологическая часть

Исследования противомикробной активности проводили на 3 тест-микроорганизмах: *St. aureus* ATCC 6538-P, *E. coli* ATCC, *C. albicans* NCTC 885–653. Для определения минимальных ингибирующих концентраций (МИК) использовали метод двукратных серийных разведений в жидких питательных средах (мясопептонном бульоне для бактерий и среде Сабуро для грибов) [12]. Микробная нагрузка соответствовала 10<sup>4</sup> микробных клеток в 1 мл. Исходные растворы для проведения экспериментов готовили в 50 % водном диметилсульфоксиде из-за их ограниченной растворимости в воде. Посевы культивировали в течение 24 ч при 37 °С. Минимальные бактерицидные или фунги-

цидные концентрации определяли путем высева на соответствующие плотные питательные среды. Препаратом сравнения выступал фуразидин [13].

#### Результаты и их обсуждение

Противомикробная активность синтезированных производных нитрофурана и нитроотиофена **IV – IXa, б** была проверена на тест-микроорганизмах *St. aureus*, *E. coli* и *C. albicans*, в качестве препарата сравнения выступал фуразидин (табл. 3).

Все исследованные соединения обладают бактерицидным и фунгицидным действием. Из полученных данных следует, что оксазины **IV – Va, б** проявляют выраженное противомикробное действие в отношении стафилококка (МИК 4–8 мкг/мл), в то же время они оказались менее активными в отношении кишечной палочки (МИК > 16 мкг/мл). К снижению антибактериального эффекта привело раскрытие оксазинового цикла. МИК производных малонамовых кислот **VI – VIIa, б** в отношении как *St. aureus*, так и *E. coli* превышает 16 мкг/мл. В то же время соединение **VIb**, содержащее липофильный бутильный заместитель, обладает выраженным антифунгальным действием в отношении *C. albicans*. Наиболее выраженный антимикробный эффект в отношении стафилококка проявили синтезированные производные 1,2,4-триазола **VIII – IXa, б** (МИК 2 мкг/мл). При этом активным в отношении кишечной палочки оказался лишь триазол с нитрофурильным заместителем **VIIIa**. Замена нитрофуранового цикла нитроотиофеном привела к потере противомикробного действия в отношении *E. coli*.

Таким образом, синтезирован ряд новых производных нитрофуранов и нитроотиофенов, обладающих выраженным противомикробным действием в отношении золотистого стафилококка, но не проявляющих значительного эффекта в отношении кишечной палочки. Возможно, данная селективность антибактериального действия потенциально может позволить использовать полученные соединения в терапии инфекцион-

Таблица 3

#### Противомикробная активность соединений **IV – IXa, б**

Соединение	МИК, мкг/мл		
	<i>St. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
<b>IVa</b>	8	16	64
<b>IVb</b>	8	16	125
<b>Va</b>	8	64	125
<b>Vb</b>	4	125	64
<b>VIa</b>	4	8	125
<b>VIb</b>	16	16	32
<b>VIIa</b>	16	125	250
<b>VIIb</b>	16	125	250
<b>VIIIa</b>	2	8	64
<b>VIIIb</b>	2	64	125
<b>IXa</b>	2	250	125
<b>IXb</b>	2	250	64
Фуразидин	4	2	> 250

ных заболеваний без негативного воздействия на грамотрицательные бактерии — представителей нормобиоты кишечника.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Н. Падейская, *Инфекции и антимикроб. тер.*, **6**(1), 23 – 29 (2004).
2. S. Rollas and S. G. Küçüküzgel, *Molecules*, **12**, 1910 – 1939 (2007).
3. R. R. Zorzi, S. D. Jorge, F. Palace-Berl, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **22**, 2844 – 2854 (2014).
4. A. Kamal, S. M. A. Hussaini, S. Faazil, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **23**, 6842 – 6846 (2013).
5. Rakesh, D. Bruhn, D. B. Madhura, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **20**, 6063 – 6072 (2012).
6. N. S. Rai, B. Kalluraya, B. Lingappa, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **43**, 1715 – 1720 (2008).
7. J. Camacho, A. Barazarte, N. Gamboa, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 2023 – 2029 (2011).
8. J. O. Morley and T. P. Matthews, *Org. Biomol. Chem.*, **4**, 359 – 366 (2006).
9. Б. Ю. Лаласев, И. П. Яковлев, Н. Н. Кузьмич и др., *Ж. общей химии*, **80**(10), 1734 – 1738 (2010).
10. А. В. Комаров, И. П. Яковлев, Д. В. Новиков и др., *Ж. общей химии*, **73**(12), 815 – 819 (2003).
11. Н. М. Чернов, И. П. Яковлев, В. Э. Захс и др., *Ж. общей химии*, **85**(11), 1837 – 1841 (2015).
12. А. Н. Миронов, *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Гриф и К, Москва (2012), сс. 509 – 525.
13. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая волна, Москва (2005), с. 856.

Поступила 20.04.16

## SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF 4-HYDROXY-2-[5-NITROFURAN(THIOPHEN)-2-YL]-6H-1,3-OXAZIN-6-ONE DERIVATIVES

N. M. Chernov, A. S. Koshevenko, I. P. Yakovlev, E. P. Anan'eva, G. V. Ksenofontova, and A. E. Shchegolev

St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy, St. Petersburg, 197376 Russia

\* e-mail: nikita.chernov@pharminnotech.com

A series of new 4-hydroxy-6H-1,3-oxazin-6-ones with 5-nitrofuryl and 5-nitrothienyl substituents in position 2 were obtained. The interaction of these oxazines with mono- (ethanol) and binucleophilic (phenylhydrazine) reagents lead to the formation of new nitrofuran and nitrothiophene derivatives. It is established that the synthesized compounds possess significant bactericidal activity against *St. aureus* and in some cases against *E. coli* strains.

**Keywords:** 1,3-oxazine; malonic acid; 1,2,4-triazole; nitrofuran; nitrothiophene, antimicrobial activity.