

УДК 547.587.11

**НОВЫЕ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИЕ ПРОИЗВОДНЫЕ АЛКАЛОИДА АНАБАЗИНА И ИХ АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА****<sup>1</sup>Бакирова Р.Е., <sup>2</sup>Фазылов С.Д., <sup>2</sup>Нуркенов О.А., <sup>1</sup>Муравлева Л.Е., <sup>3</sup>Кулаков И.В.,  
<sup>1</sup>Ахметова С.Б., <sup>2</sup>Сатпаева Ж.Б.**<sup>1</sup>*Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда;*<sup>2</sup>*Институт органического синтеза и углекислотной химии Республики Казахстан, Караганда;*<sup>3</sup>*Омский государственный университет, Омск, e-mail: iosu8990@mail.ru*

В статье приведены данные по изучению реакции синтеза и антибактериальной активности новых тиомочевинных, тиазолиновых и тиазиновых производных алкалоида анабазина. Показано, что получаемые N-тиокарбамидные производные анабазина в зависимости от структуры получаемых субстратов и условий реакции могут подвергаться внутримолекулярной гетероциклизации. 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:** анабазин, тиомочевины, тиазолины, тиазины, антимикробная активность

**NEW HETEROCYCLIC DERIVATIVES OF ALKALOID ANABAZINE AND THEIR ANTIMICROBIC PROPERTIES****<sup>1</sup>Bakirova R.E., <sup>2</sup>Fazylov S.D., <sup>2</sup>Nurkenov O.A., <sup>1</sup>Muravleva L.E., <sup>3</sup>Kulakov I.B.,  
<sup>1</sup>Achmetova S.B., <sup>2</sup>Satpaeva Z.B.**<sup>1</sup>*Karaganda State Medical University, Karaganda;*<sup>2</sup>*Institute of organic synthesis and coal chemistry of the Republic of Kazakhstan, Karaganda;*<sup>3</sup>*Omsk State University, Omsk, e-mail: iosu8990@mail.ru*

The article presents data on studying the reaction of synthesis and antibacterial activity of new thiourea, thiazoline and thiazine derivatives of alkaloid anabazine. It is shown that the obtained N-tiokarbamides derivatives of anabazine, depending on the structure of the obtained substrates and the reaction conditions can undergo the intramolecular heterocyclization. As a result of the carried-out bioscreening on antibacterial properties it is found that almost all studied compounds in the conditions of *in vitro* exhibit either moderately expressed, or expressed antimicrobial and antifungal activity.

**Keywords:** anabasine, thiourea, thiazoline, thiazine, antimicrobial activity

Интерес ученых к химической трансформации природных алкалоидов, углеводов и др. не ослабевает и по сегодняшний день. Это обусловлено прежде всего их высокой биологической активностью. Вмешиваясь в структуру природных соединений, синтезированных самой природой, 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 поиска новых биологически активных веществ является известный алкалоид – анабазин, который обладает сильными инсектицидными и противотуберкулезными свойствами и все еще полностью не раскрытыми потенциальными перспективами [6]. Поиск новых его синтетических производных с потенциально антибактериальной активностью возможен путем введе-

ния в его структуру таких фармакофорных фрагментов, как тиомочевинный, фурановый, тиазолиновый и др., которые являются структурными звеньями многих антибактериальных препаратов, используемых в медицинской практике [3,5].

Для синтеза соединений с базовым тиазольным, тиазолиновым или тиазолидиновым кольцом помимо прямого введения реакцией алкилирования галогенацетильными замещенными производными тиазолов, довольно часто применяются изотиоцианатные, тиоамидные и тиомочевинные производные [8], которые не только являются удобными синтонами для их получения, но и в зависимости от других реагентов и условий, позволяют подробно изучить механизмы возможной гетероциклизации.

**Цель исследования.** Осуществление реакции синтеза новых тиомочевинных, тиазолиновых и тиазиновых производных алкалоида анабазина, изучение их строения и биологических свойств на наличие антибактериальной и противогрибковой активности.

### Материалы и методы исследования

ИК-спектры сняты на спектрометре с Фурье-преобразователем AVATAR-320 в таблетках с KBr, спектры ЯМР <sup>1</sup>H записаны на спектрометре Bruker DRX 500 (500 МГц) в растворе DMSO-d<sub>6</sub> относительно внутреннего стандарта ТМС. Рентгеноструктурный анализ проведен на четырехкружном автоматическом дифрактометре Xcalibur.

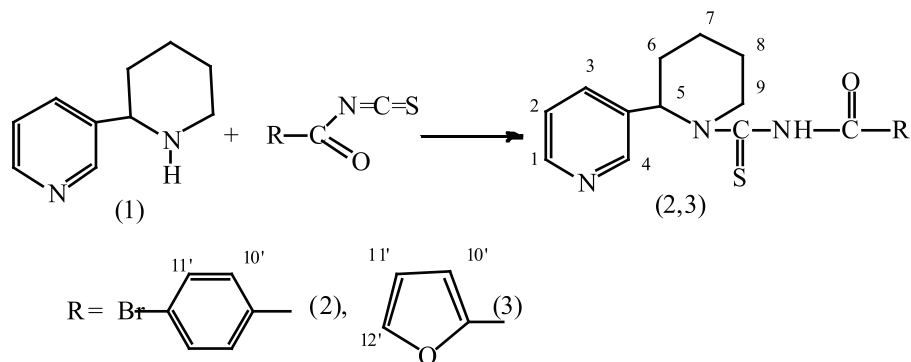
Изучение антибактериальной и противогрибковой активности вышеуказанных образцов проводились по отношению к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, к грамотрицательным штаммам *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и к дрожжевому грибку *Candida albicans*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

### Результаты исследования и их обсуждение

Изучение синтеза тиомочевинных производных анабазина осуществляли следующим образом. Вначале провели синтез исходных изотиоцианатов из соответствующих хлорангидридов п-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:

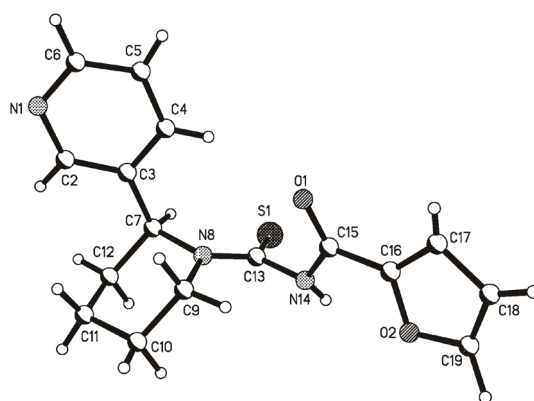


Образующиеся целевые продукты (2,3) (61 и 45% соответственно), представляют собой хорошо кристаллизующиеся белые кристаллические вещества с умеренной растворимостью в органических растворителях.

В ИК- спектрах синтезированных соединений (2,3) имеется полоса поглощения в области 1545-1535см<sup>-1</sup>, характерная для C=S группы, полосы поглощения амидной группы C(O)NH проявляются в области 1687-1689 см<sup>-1</sup>. При анализе спектров ЯМР <sup>1</sup>H соединений (2,3) наблюдаются характерные сигналы протонов для алкалоидной части (рис. 1). Так, например, в спектре соединения (3) сигналы протонов пиридинового кольца анабазина прописываются в области слабых полей: синглет протона Н<sub>4</sub> при 8,68 м.д., дублеты протонов Н<sub>1</sub> и Н<sub>3</sub> при 8,51 м.д. и 7,51 м.д. и дублет дублетов протона Н<sub>2</sub> при 7,44 м.д. Сигналы шести

метиленовых протонов Н<sub>6</sub>, Н<sub>7</sub>, Н<sub>8</sub> проявляются в виде сложного мультиплета в области 1,32-2,00 м.д. Метиленовые протоны Н<sub>9</sub> и протон метинной группы Н<sub>5</sub> 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<sub>10'</sub>, Н<sub>11'</sub> и Н<sub>12'</sub> 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 N-H проявляется синглетом при 10,79 м.д. Соотношение интегральных интенсивностей отвечает структуре (3).

С целью подтверждения пространственного строения были выращены кристаллы молекулы N-(анабазино-1-карбонотиоил)фуран-2-карбоксамид (3) и проведено его рентгеноструктурное исследование [1]. Общий вид молекулы 2.39 приведен на рисунке.

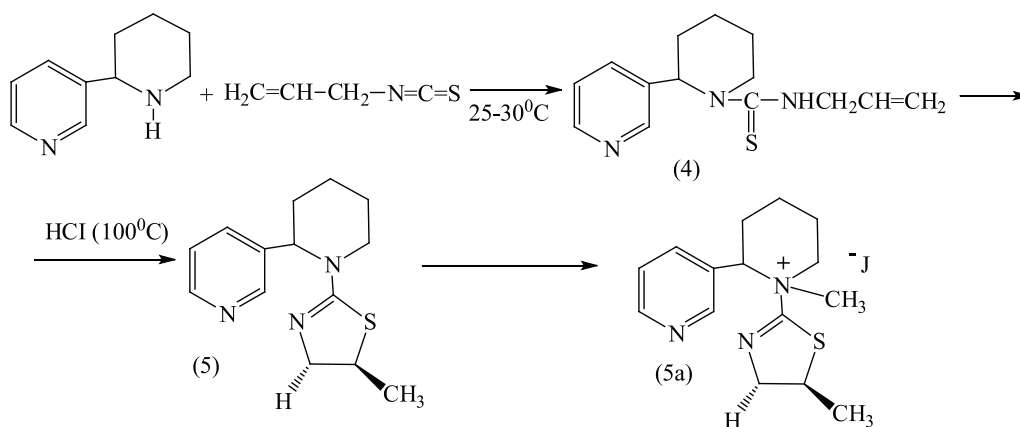


Кристаллическая структура *N*-(анабазино-1-карбонотиол)-фуран-2-карбоксоамида (3)

В ряду соединений, в том числе и природных, таких как витамин В1, пенициллин, содержащих тиазольное и тиазолиновые фрагменты, найдены средства с высокой антибактериальной активностью, а также гербициды, пестициды и стимуляторы роста растений [7, 8].

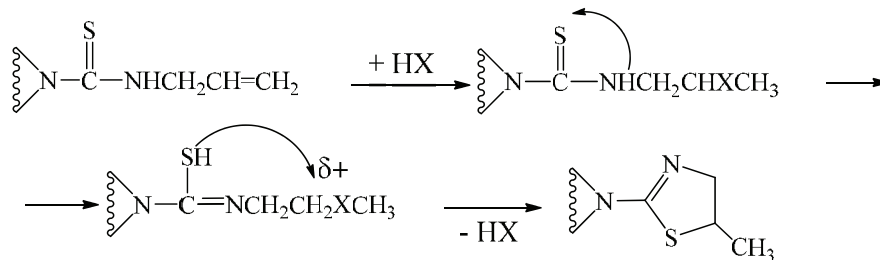
В работе [4] описывается метод получения тиазолиновых гетероциклических производных из соответствующих аллилсо-

держащих тиомочевин под действием различных реагентов – растворов галогеноводородов и галогенов. Нами установлено, что синтезированное *N*-аллилтиокарбамидное производное алкалоида анабазина (4) при нагревании на кипящей водяной бане в запаянной стеклянной ампуле, в растворе концентрированной соляной кислоты может претерпевать внутримолекулярную гетероциклизацию по схеме:



Установлено, что в результате проведенного кислотного взаимодействия образуется с хорошим выходом (50%) производное анабазина с серосодержащим пятичленным гетероциклом – 2-*N*-анабазино-5-метил-1,3-тиазолин (5), растворимое во многих органических растворителях. Для получения водорастворимой формы получили его йодметилат (5a).

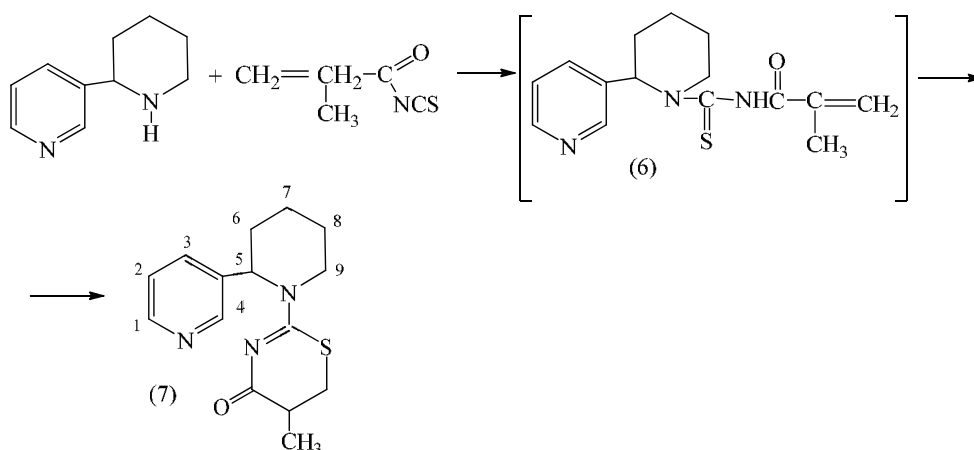
Механизм данной реакции на первой стадии включает в себя присоединение галогеноводорода по двойной связи аллильного фрагмента тиомочевин по правилу Марковникова. Затем происходит нуклеофильная атака атома серы (в тиольной форме тиомочевин) вторичного углеродного атома С-Х с частичным положительным зарядом с последующей внутримолекулярной циклизацией в 1,3-тиазолиновое производное:



В спектре ЯМР<sup>1</sup>H-соединения (5) сигнал 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 слабополюсной части спектра. Метиновый протон пиперидинового кольца проявляется в виде триплета, каждый пик которого дополнительно рас-

щеплен дублетами с расстоянием около 3,3 Гц, свидетельствующего о влиянии на него вращения пиридинового и тиазолинового колец относительно пиперидинового.

Интересным также оказалось также изучение реакции взаимодействия молекулы анабазина с метакрилоилизотиоцианатом, приводящее к внутримолекулярной гетероциклизации промежуточного продукта (6) в 5-метил-2-(N-анабазинил)-5,6-дигидро-1,3-тиазин-4-она (7).



Реакция проходит в довольно мягких условиях при температуре 25-30 °С в среде ацетона. Выход и чистота полученного продукта (7) варьировались в зависимости от скорости и порядка прибавления исходных реагентов. При этом, наиболее высокий выход целевого продукта (7) (41 %) был получен при медленном прикапывании свежеприготовленного ацетонового раствора метакрилоилизотиоцианата к интенсивно перемешиваемому раствору анабазина.

Протекание процесса внутримолекулярной гетероциклизации (6) с образованием 5-метил-2-(N-анабазинил)-5,6-дигидро-1,3-тиазин-4-она (7) в ходе данной реакции, по всей видимости, объясняется тем, что анабазин, находящийся в реакционном растворе в избытке, является довольно сильным основанием и способствует заметному увеличению скоро-

сти внутримолекулярной гетероциклизации с образованием (7). Соседство в α-положении у пиперидинового цикла объемного электрононасыщенного пиридинового цикла, вращение вокруг С-С-связи, возможно также оказывает свое влияние на пространственную доступность реакционного центра.

Образование циклического 5-метил-2-(N-анабазинил)-5,6-дигидро-1,3-тиазин-4-она (7) однозначно было доказано отсутствием в спектре ЯМР<sup>1</sup>H метиленовых протонов =CH<sub>2</sub>, 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 спектрах ЯМР <sup>1</sup>H соединения (7), происходит расщепление метильных протонов CH<sub>3</sub> 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 соединений (7) по вышеописанной схеме циклизации.

Физико-химические константы и данные элементного анализа соединений (2-7) представлены в таблице.

Физико-химические константы и данные элементного анализа соединений (2-7)

№ соед.	Выход, %	Т.пл. °С	Найдено, %		Брутто-формула		
			С	N		С	N
2	61	82-85	53,71	10,68	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> BrN <sub>3</sub> OS	53,47	10,39
3	45	173-174	61,12	13,57	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> OS	60,93	13,32
4	92	Масло	-	-	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> S	64,33	16,08
5a	50	100-101	64,77	16,44	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> S	64,33	16,08
7	41	121-123	62,53	14,88	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> OS	62,25	14,52

Синтезированные соединения прошли скрининговые испытания на антимикробную активность в отношении бактериальных и грибковых культур в соответствии с методическими указаниями по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [2]. Исследования антимикробной активности были проведены на следующих соединениях: 4-бром-N-(анабазино-1-карбонотиоил)бензамид (2), N-(анабазино-1-карбонотиоил)фуран-2-карбоксамид (3), 2-N-анабазино-5-метил-1,3-тиазолин (5), йодметилат 2-N-анабазино-5-метил-1,3-тиазолина (5a), йодметилат 2-(N-анабазино)-5-метил-5,6-дигидро-1,3-тиазин-4-она (7).

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*).

## Выводы

Изучены реакции взаимодействия алкалоида анабазина с изотиоцианатами различной структуры. Показано, что получаемые N-тиокарбамидные производные анабазина в зависимости от структуры получаемых субстратов и условий реакции могут подвергаться внутримолекулярной гетероциклизации. По результатам проведенных биоиспытаний на антимикробную активность новых серосодержащих производных анабазина установлено, что данные соединения могут быть рекомендованы для дальнейших углубленных исследований с целью изучения возможностей внедрения их в медицинскую практику.

## Список литературы

- Кулаков И.В., Нуркенов О.А., Турдыбеков Д.М., Ибрагимов Б.Т., Талипов С.А., Жамбеков З.М., Айнабаев А.А., Турдыбеков К.М. Синтез тиомочевинных производных алкалоида анабазина и кристаллическая структура N-(анабазино-1-карбонотиоил)фуран-2-карбоксамида // Химия природ. соединений. – 2009. – №2. – С.183-185.
- Семина Н.А., Сидоренко С.В., Резван С.П. и др. Методические рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам // Клинич. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2004. – №6(4). – С. 306-359.
- Солдатенков А.Т., Колядина Н.М., Шендрик И.В. Основы органической химии лекарственных веществ. – М.: Химия, 2001. – 192 с.
- Соколов В.Б., Аксиненко А.Ю., Пушин А.Н., Мартынов И.В. Внутримолекулярная циклизация 1-аллил- и 1-метилаллил-6-амино-2-тиоурацилов // Изв. АН РФ. – 2005. – №7. – С.1694.
- Пинигина Н.М., Самойлова Т.И., Недоля Н.А., Папшева Н.П., Герасимова В.В. Синтез и иммуномодулирующая активность N-(2-винилоксиэтил)-тиомочевин // Хим.-фарм. ж. – 1989. – №3. – С.163-165.
- Орехов А.П. Химия алкалоидов. – М.: изд-во АН СССР, 1955. – 865 с.
- Liu H.-L., Li Z., Anthonson T. Synthesis and Fungicidal Activity of 2-Imino-3-(4-arylthiazol-2-yl)-thiazolidin-4-ones and Their 5-Arylidene Derivatives // Molecules. – 2003. – №8. – P. 472-479.
- Sutariya B., Raziya S.K., Mohan S. & Sambasiva Rao S.V. Synthesis and antimicrobial activity of some new 2-substituted aminothiazoles // Ind. Journal of Chem. Sect. B. – 2007. – Vol.46, № 5. – P. 884-887.