

## СИНТЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ 3-ИНДОЛИЛПРОИЗВОДНЫХ ХИНОКСАЛИНА И ПИРИДО[2,3-*b*]ПИРАЗИНА РЕАКЦИЕЙ 2-(2-ОКСО-1,2-ДИГИДРО-3*H*-ИНДОЛ-3-ИЛИДЕН)АЦЕТАТОВ С 1,2-ДИАМИНОЦИКЛОГЕКСАНОМ И 2,3-ДИАМИНОПИРИДИНОМ

Эфиры 2-(2-оксо-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-илиден)уксусных кислот взаимодействуют с 1,2-диаминоциклогексаном или 2,3-диаминопиридином, образуя с препаративным выходом 2-оксо-2,3-дигидро-1*H*-индол-3-илпроизводные октагидрохиноксалин-2(1*H*)-она и пиридо[2,3-*b*]пирозин-3(2*H*)-она, обладающие выраженной противомикробной активностью. Обсуждается строение полученных соединений, установленное с помощью методов ИК, ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии и масс-спектрометрии.

Разнообразные 3-ацилметил(иден)производные оксиндола обладают значительной противомикробной, противоопухолевой и противосудорожной активностью [1–4]. Поиск биологически активных соединений среди оксиндолов, связанных в положении 3 с фрагментами азотистых гетероциклов, является актуальным [5].

Известно, что реакция 3-(2-оксо-2-арилэтилиден)-1*H*-индол-2-онов (I: X = Ar) с 1,2-диаминобензолом (*орто*-фенилендиамином) приводит, в основном, к 1,3-дигидроспиро[1,5-бензодиазепин-2,3'-индол]-2', (1'*H*)-онам (II) [6–8], а также минорным 3-[2-(2-аминофенилимино)-2-арилэтилиден]-1,3-дигидро-2*H*-индол-2-онам (III) [6] (схема 1).

Предполагается, что соединения (II) образуются в результате присоединения аминогруппы реагента по активированной ароматическим акцептором экзоэтиленовой связи в β-положение (C<sup>3</sup> индольного кольца) с дальнейшей спиро-гетероциклизацией при участии второй функциональной *орто*-аминогруппы. При образовании продукта (III) аминогруппа *орто*-фенилендиамина первоначально атакует не электрофильный центр C<sup>3</sup> оксиндола (I), а карбонильную группу ароматического звена. Возможно также, что индолины (II) образуются при гетероциклизации интермедиата (III) присоединением свободной аминогруппы по C<sup>3</sup> звену экзоэтиленовой связи. Отметим, что у соединений

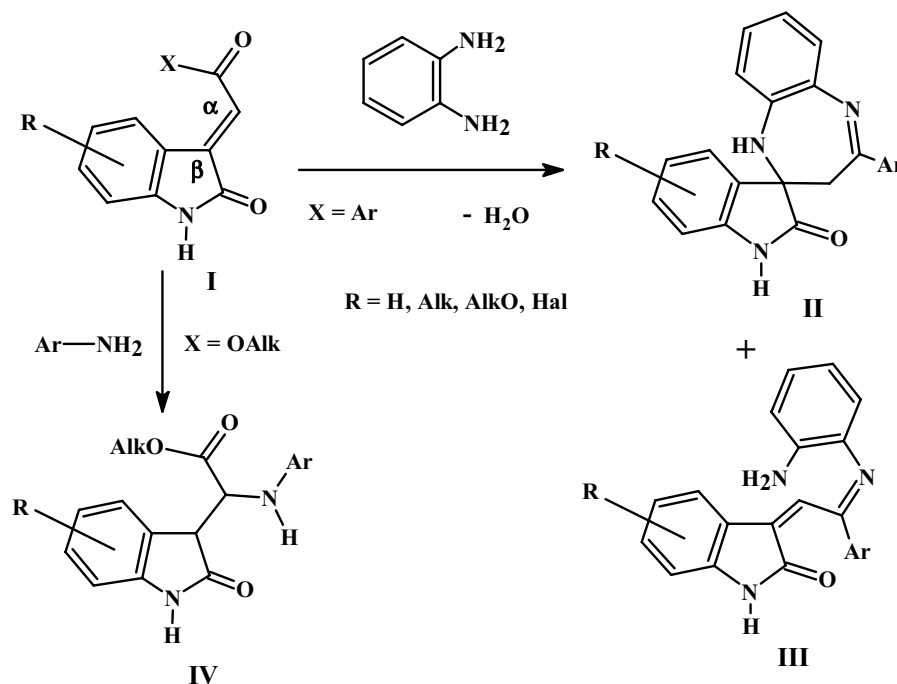


Схема 1. Взаимодействие 3-(2-оксо-2-арилэтилиден)-1*H*-индол-2-онов с ароматическими аминами

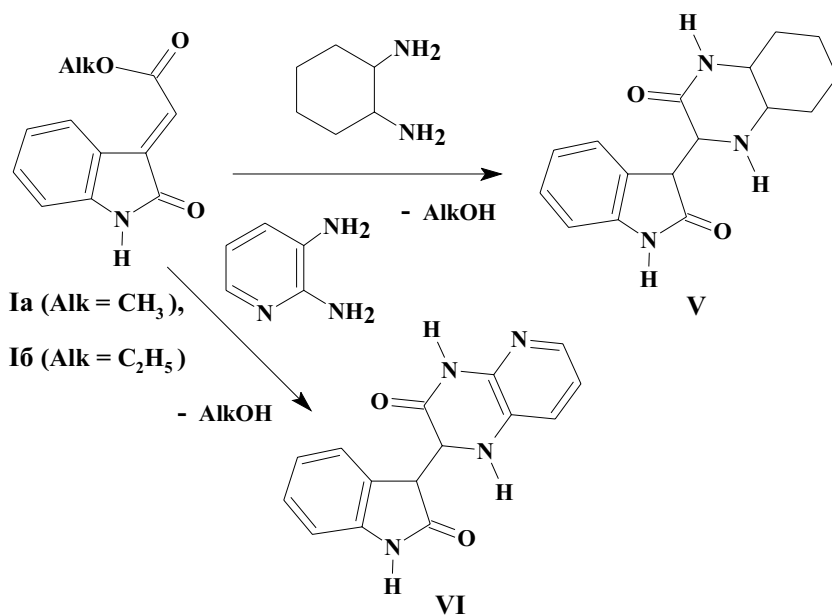


Схема 2. Взаимодействие эфиров 2-(2-оксо-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-илиден)уксусной кислоты с 1,2-диаминоциклогексаном и 2,3-диаминопиридином

(II) была обнаружена заметная противомикробная активность [7, 8], и это указывает на практическую значимость изучаемых превращений оксиндолов.

Недавно нами было показано, что в отличие от ароильных производных или деноксиндолов (I: X = Ar) близкие к ним по строению эфиры 2-(2-оксо-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-илиден)уксусных кислот (I: X = OAlk) иначе реагируют с монофункциональными ароматическими аминами.

В результате реакции соединений (I: X = OAlk) с ариламинами образуются продукты региоселективного присоединения последних по экзоэтиленовой связи субстратов в  $\alpha$ -положение по отношению к сложноэфирной группе (а не в  $\beta$ -положение как можно было предполагать *a priori*) – эфиры 2-ариламинозамещенных 2-(2-оксо-2,3-дигидро-1*H*-индол-3-ил)уксусных кислот (IV) [9, 10] (схема 1).

По нашим предварительным данным, атака как ароматических моно-*NH*-нуклеофилов, так и некоторых *SH*, *NH*-, и *NH*, *NH*-бинуклеофилов направлена преимущественно на электрофильный центр  $\alpha$ - $C^2$  оксиндолилиденацетатов (I: X = OAlk) [5, 11, 12].

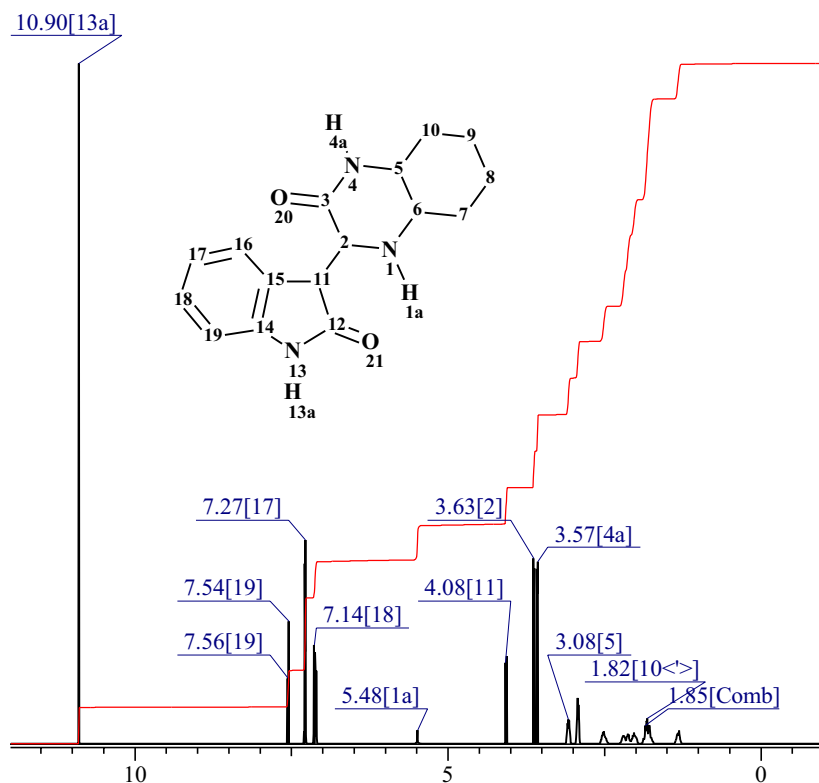
Мы впервые установили, что действие циклоалифатических или гетероциклических

1,2-диаминов (например, 1,2-диаминоциклогексана или 2,3-диаминопиридина) на эфиры 2-(2-оксо-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-илиден)уксусной кислоты (Ia, б) при кипячении смеси в этаноле приводит с препаративным выходом к образованию 2-оксо-2,3-дигидро-1*H*-индол-3-илпроизводных октагидрохиноксалин-2(1*H*)-она (V) или, соответственно, 1,4-дигидропиридо[2,3-*b*]пиазин-3(2*H*)-она (VI) (схема 2).

Соединения (V) и (VI) являются продуктами региоселективного присоединения аминогруппы диамино-реагентов по экзоэтиленовой связи субстрата (I) не в  $\beta$ - $C^3$ -, как можно было ожидать, а в  $\alpha$ - $C^2$ -положение к сложноэфирному звену, с последующей гетероциклизацией при участии последнего и свободной *орто*-аминогруппы.

Полученные соединения (V) и (VI) представляют собой желтые кристаллические вещества, не растворимые в воде, трудно растворимые в обычных органических растворителях и легко растворимые в ДМФА и ДМСО. Спектральные характеристики синтезированных веществ не противоречат их структуре.

В ИК спектрах индолилпроизводных (V) и (VI) имеются хорошо согласующиеся со структурой широкие полосы валентных



\* [Comb]:  $C^{13}H_2$ ,  $C^9H_2$

Рисунок 1. Расчетный спектр ЯМР  $^1H$  3-(2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил) октагидрохиноксалин-2(1H)-она (V) (приведены величины химических сдвигов, м.д. [номера атомов\*]; нумерация атомов произвольная)

колебаний аминогруппы 1,4-диазиновых колец 3325, 3290  $cm^{-1}$  и амидных звеньев (NHCO) гетероциклов 3215, 3210  $cm^{-1}$ , а также полосы карбонильных групп лактамов (NHCO) 1640–1690  $cm^{-1}$ . Полоса сложноэфирной карбонильной группы исходных оксиндолов (Ia, б) в спектрах конечных соединений (V) и (VI) отсутствует, что подтверждает ее участие в реакции с диаминами с образованием амидов.

В спектрах ЯМР  $^1H$  соединений (V) и (VI) присутствует набор сигналов двух взаимодействующих вицинальных метиновых протонов фрагмента  $C^3H-C^{2/3}H$ , находящихся в области от 3,59 до 4,38 м.д. При этом по расчетным спектрам, например соединения (V) (рис. 1), ожидалось, что будут заметны две пары двухдублетных сигналов с небольшой величиной константы спин-спинового взаимодействия, характерные для расщепления вицинальных протонов H $\alpha$  и H $\beta$  стандартной системы АВ.

Характер указанных сигналов должен определяться наличием, по крайней мере, двух диастереомеров, как было отмечено ранее на примере 2-ариламино-2-(2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)ацетатов (IV) [10]. Однако в реальных спектрах индолилдиазинов (V) и (VI) наблюдаются только синглеты парных протонов, что, вероятно, обусловлено высокой рабочей частотой спектрометра (мультиплетность сигналов мало заметна). Данные расчетных спектров ЯМР  $^1H$  синтезированных соединений (получены без учета влияния растворителя) согласуются с характеристиками спектров, снятых на спектрометре.

Масс-спектр индолилхиноксалола (V) достаточно информативен. В спектре имеется мало интенсивный пик молекулярного иона, а также пики осколочных ионов, соответствующие ожидаемым согласованным или чередующимся процессам масс-фрагментации. Основным направлением распада

молекулы соединения (V) под действием электронного удара является разрыв связи  $C^{3'}-C^3$  между двумя гетероциклическими звеньями с образованием максимальных по интенсивности пиков октагидро-2(1H)-оксо-3-хиноксалильного ( $m/z$  153) и 2-оксо-2,3-дигидро-1H-3-индолильного ( $m/z$  133) фрагментных ионов. Среди других направлений фрагментации отметим декарбонилирование молекулы (V) и элиминирование циклогексизоцианата. Последние пути масс-распада свидетельствуют о меньшей устойчивости насыщенного хиноксалильного звена молекулы по сравнению с оксиндольным при электронном ударе.

По-видимому, изменение региоселективности присоединения диаминов по 3-экзоэтиленовой связи в  $\alpha$ -положение (2-оксо-1,2-дигидро-3H-индол-3-илиден)ацетатов (I: X = OAlk) по сравнению с селективностью реакции 3-ацилметилена-1H-индол-2-онов (атака в  $\beta$ -положение) (I: X = Ag) обусловлено меньшим электроноакцепторным эффектом сложноэфирной группы первых субстратов по сравнению с ацильным звеном последних.

Одной из основных задач нашего исследования является поиск биологически активных соединений среди 2-(2-оксо-1,2-дигидро-3H-индол-3-илиден)производных карбоновых кислот (I: X = OAlk), конденсированных 1,4-диазинов и их аналогов, структурно близких соединений и продуктов химических превращений. В результате биологических испытаний *in vitro* полученных индолилпроизводных (V) и (VI) обнаружена выраженная противомикробная активность по отношению к эталонным штаммам золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* и кишечной палочки *Escherichia coli*.

#### Экспериментальная химическая часть

ИК спектры оксиндолов (V) и (VI) записаны на спектрофотометре Specord M-80 в пасте с вазелиновым маслом. Спектры ЯМР  $^1H$  соединений (V) и (VI) получены на приборе Bruker DRX-500 (500,13 МГц) в ДМСО- $d_6$ , внутренний стандарт – ТМС. Расчетный спектр ЯМР  $^1H$  соединения (V) построен на основе баз данных программы ACD/Labs 8.17

(4.05.2005) – <http://www.acdlabs.com>. Масс-спектр соединения (V) снят на спектрометре Finnigan MAT INCOS 50 в режиме прямого ввода (электронный удар). Индивидуальность полученных соединений подтверждена с помощью метода ТСХ на пластинках Silufol UV-254® в системе бензол – диэтиловый эфир – ацетон 10:9:1, проявление парами иода. Исходные эфиры 2-(2-оксо-1,2-дигидро-3H-индол-3-илиден)уксусной кислоты (Ia, б) получены по описанному ранее методу [13].

**Взаимодействие эфиров 2-(2-оксо-1,2-дигидро-3H-индол-3-илиден)уксусной кислоты с 1,2-диаминоциклогексаном и 2,3-диаминопиридином.** Смесь 1,01 г (0,005 моль) метилового эфира 2-(2-оксо-1,2-дигидро-3H-индол-3-илиден)уксусной кислоты (Ia) или 1,09 г (0,005 моль) этилового эфира 2-(2-оксо-1,2-дигидро-3H-индол-3-илиден)уксусной кислоты (Iб) и 0,57 г (0,005 моль) 1,2-диаминоциклогексана или 0,55 г (0,005 моль) 2,3-диаминопиридина в 50-70 мл этанола кипятят 1,5–3 часа. Осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола или хлороформа. Получают целевые соединения (V) или (VI).

**3-(2-Оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)октагидрохиноксалин-2(1H)-он (V).** Выход 0,90 г (63%) (из исходного соединения Ia), 0,80 г (56%) (из исходного соединения Iб). Т. пл. 242–243 °С (разл.) (из этанола). ИК спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3325 ( $N^4H$  амин), 3210 ( $N^1H$  амид), 1690, 1655 ( $CO$  амид). Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м.д.: 1,08–2,40 (8H, группа сигналов,  $C^5H_2$ ,  $C^6H_2$ ,  $C^7H_2$ ,  $C^8H_2$ ), 2,62 (1H, группа сигналов,  $C^4aH$ ), 2,86 (1H, группа сигналов,  $C^8aH$ ), 3,27 (1H, с,  $N^1H$ ), 3,59 (1H, с,  $C^3H$ ), 4,08 (1H, с,  $C^3'H$ ), 6,72–7,48 (4H, м,  $C_6H_4$ ), 10,10 (1H, с,  $N^1'H$ ) (нумерация атомов как в названии). Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{отн.}$ , %): 285 (5)  $[M]^+$ , 256 (2)  $[M - CO - H]^+$ , 203 (3), 172 (2), 161 (3), 160 (3)  $[M - C_6H_{11}-N=C=O]^+$ , 154 (7), 153 (100)  $[M - C_8H_6NO]^+$  или  $C_8H_{13}N_2O]^+$ , 152 (3), 145 (4)  $[C_9H_7NO]^+$ , 134 (5), 133 (28)  $[M - C_8H_{12}N_2O]^+$  или  $C_8H_7NO]^+$ , 125 (6)  $[C_6H_{11}-N=C=O]^+$ , 117 (4), 104 (9), 96 (5), 85 (5), 81 (8), 77 (4), 69 (4), 56 (5). Найдено, %: С 67,52; Н 6,94; N 14,56.  $C_{16}H_{19}N_3O_2$ . Вычислено, %: С 67,35; Н 6,71; N 14,73.  $M$  285,34.

**2-(2-Оксо-2,3-дигидро-1*H*-индол-3-ил)-1,4-дигидропиридо[2,3-*b*]пиазин-3(2*H*)-он (VI).** Выход 0,70 г (50%) (из исходного соединения Ia), 0,65 г (46%) (из исходного соединения Ib). Т. пл. 252–253 °С (разл.) (из хлороформа). ИК спектр,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 3290 (N<sup>1</sup>H<sub>амин</sub>), 3215 (N<sup>4</sup>H<sub>амид</sub>), 1682, 1640 (СО<sub>амид</sub>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H,  $\delta$ , м.д.: 3,26 (1H, с, N<sup>4</sup>H), 3,85 (1H, с, C<sup>2</sup>H), 4,38 (1H, с, C<sup>3</sup>H), 6,45–7,78 (7H, м, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>N), 9,84 (1H, уш. с, N<sup>1</sup>H), 10,73 (1H, с, N<sup>1</sup>H) (нумерация атомов как в названии). Найдено, %: С 63,97; Н 4,48; N 19,72. С<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>. Вычислено, %: С 64,28; Н 4,32; N 19,99. М 280,28.

#### Экспериментальная биологическая часть

Противомикробную активность полученных соединений (V) и (VI) по отношению к эталонным штаммам кишечной палочки *Escherichia coli* М17 и золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* Р-209 определяли стандартным методом двукратных серийных разведений в мясо-пептонном бульоне при бактериальной нагрузке от 250 тысяч до 5 млн микробных единиц в 1 мл раствора [14, 15]. За действующую дозу принимали минимальную подавляющую концентрацию (МПК) соединения – максимальное разведение, приводящее к полному подавлению развития бактериальной культуры. Бактериостатический эффект соединений сравнивали с действием применяемых в медицине современных антибактериальных препаратов группы 4-оксохиолин-3-карбоновой кислоты – флумеквина, оксолиниевой, налидиксовой кислот и норфлоксацина [15–17].

Установлено, что индолилпроизводные (V) и (VI) обладают выраженным бактериостатическим эффектом при МПК от 125 до 1000 мкг/мл, причем у них наиболее отчетливо выражено противостафилококковое действие. Эти соединения слегка уступают по противомикробной активности наиболее эффективным фторсодержащим препаратам оксохиолинового ряда (МПК 0,5 – 256 мкг/мл).

Как нами ранее было показано, 3-оксоиндиден-1*H*-индол-2-оны (I) проявляют значительное противомикробное действие (МПК до 3,9 мкг/мл) [3, 4]. Переход от соединений (I), имеющих ацилметиленовый фрагмент, к продуктам нуклеофильного присоединения по двойной экзоэтиленовой связи этих субстратов уменьшает бактериостатический эффект. Этот факт, в некоторой степени, находит подтверждение в ранее полученных нами данных о большей бактериостатической активности структурно близких 2-ацилметилден-3(2*H*)-фуранонов [18, 19] по сравнению с продуктами присоединения воды, ариламинов или гидразинов [20] по метиленовому звену этих реагентов, или по сравнению с соответствующими 2-гидрокси-2-ацилметильными производными пятичленных 3-оксогетероциклов [18]. На примере некоторого снижения активности насыщенных по связи C(3')–C(3) индолинонов (V) и (VI) мы вновь подтверждаем предположение о том, что активированная акцепторными заместителями кратная связь является профармакофорным звеном, ответственным за проявление максимального антибактериального эффекта в активированных акцепторами олефинах [3, 4].

#### Список использованной литературы:

1. Жунгиету Г.И. Оксиндол и его производные. Кишинев: изд-во «Штиинца», 1973. 196 с.
2. Da Silva J.F.M., Garden S.J., Pinto A.C. The chemistry of isatins: a review from 1975 to 1999 // J. Braz. Chem. Soc. 2001. Vol. 12. №3. P. 273-324. – [http://jbcs.sbq.org.br/jbcs/2001/vol12\\_n3/187-00.pdf](http://jbcs.sbq.org.br/jbcs/2001/vol12_n3/187-00.pdf)
3. Козьминых Е.Н., Березина Е.С., Колла В.Э., Шеленкова С.А., Воронина Э.В., Козьминых В.О. Синтез и биологическая активность замещенных 3-ацилметилден- и 3-гидрокси-2-индолонов // Химико-фармацевтический журнал. 1997. Т. 31. №2. С. 31-36.
4. Козьминых Е.Н., Али Ареф, Березина Е.С., Игидов Н.М., Козьминых В.О. Синтез биологически активных соединений на основе 3-замещенных оксиндолов // Пермская гос. фармацевтическая академия. Пермь, 1997. 20 с. Рукопись деп. в ВИНТИ 09.06.97, №1886–В97. – РЖ Химия. 1998. №2. С. 35. 2 Ж 217 Деп.
5. Ломидзе К.Ш., Козьминых Е.Н., Березин А.Н., Козьминых В.О. (2-Оксо-2,3-дигидро-1*H*-индол-3-ил)производные 2*H*-1,4-бензотиазин-3(4*H*)-она, хиноксалин-2(1*H*)-она и 1,4-дигидропиридо[2,3-*b*]пиазин-3(2*H*)-она // Избранные методы синтеза и модификации гетероциклов. Том 3. Химия синтетических индольных систем. Под ред. В.Г. Карцева. Москва: IBS PRESS, 2004. С. 547-548.
6. Vajpai S.N., Jain R., Joshi K.C. A novel synthesis of spiro[5*H*-1,4-diazepine-5,3'-[3*H*]indol]-2'-(1'*H*)-ones and spiro[2*H*-1,5-benzodiazepine-2,2'-[3*H*]indol]-2'-(1'*H*)-ones // Indian J. Chem. B. 1997. Vol. 36B. №11. P. 1005-1008. – РЖ Химия. 2000. №6. С. 39. Реф. 00.06-19Ж.263.

7. Mogilaiah K., Rao R.B. Studies in spiroheterocycles: Part II – Synthesis and antibacterial activity of some novel spiro[indole-pyrazolines], spiro[indole-pyrimidines] and spiro[indole-1,5-benzodiazepines] containing 1,8-naphthyridine moiety // *Indian J. Chem.* В. 1998. Vol. 37В. №2. P. 139-144. – РЖ Химия. 1999. №14. С. 38. Реф. 14 Ж 223.
8. Kavali J.R., Badami B.V. Synthetic utility of 4-acetyl-3-arylsydnonones: synthesis, spectral characterisation and antimicrobial activity of 3-aryl-4-[(2',3'-dihydrospiro-1',4'-benzodiazepine-5',3''-[3''H]-2''-oxindol)-(1''H)-7''-yl]sydnonones // *J. Chem. Res. Synop.* 2000. №12. P. 546-547. – РЖ Химия. 2001. №13. С. 48. Реф. 01.13-19Ж.318.
9. Козьминых Е.Н., Березин А.Н., Ломидзе К.Ш., Козьминых В.О. Эфиры ариламино- и (2-фенилгидразино)-(2-оксо-2,3-дигидро-1H-индол-3-ил)уксусной кислоты // *Избранные методы синтеза и модификации гетероциклов. Том 3. Химия синтетических индольных систем.* Под ред. В.Г. Карцева. Москва: IBS PRESS, 2004. С. 535-536.
10. Козьминых В. О., Гончаров В. И., Аксенов А. В., Козьминых Е. Н., Ломидзе К. Ш., Березин А. Н. Региоселективное присоединение ариламинов по экзоэтиленовой связи эфиров 2-(2-оксо-1,2-дигидро-3H-индол-3-илиден)уксусных кислот // *Журнал органической химии.* 2006. Т. 42. №9. С. 1373-1376.
11. Козьминых В.О., Ломидзе К.Ш., Гончаров В.И., Аксенов А.В., Козьминых Е.Н., Березин А.Н. Необычная реакция эфиров (2-оксо-1,2-дигидро-3H-индол-3-илиден)уксусной кислоты с гидразином // *Химия гетероциклических соединений.* 2005. №5 (455). С. 792-793.
12. Козьминых В.О., Гончаров В.И., Козьминых Е.Н., Ломидзе К.Ш. Взаимодействие эфиров 2-(2-оксо-1,2-дигидро-3H-индол-3-илиден)уксусной кислоты с 1,2-диаминами // *Химия гетероциклических соединений.* 2006. №1 (463). С. 133-135.
13. Козьминых Е.Н., Березина Е.С., Козьминых В.О. Взаимодействие изатиннов с ацилметилентрифенилфосфоранами // *Журнал общей химии.* 1996. Т. 66. №7. С. 1128-1133.
14. Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии. Москва, 1971. С. 100, 109-117.
15. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. Москва: изд-во ЗАО «Объединенная редакция «Боргес», 2002. 381 с.
16. Глушков Р.Г., Левшин И.Б., Марченко Н.Б., Падейская Е.Н. Антибактериальные препараты группы хинолонкарбоновой кислоты (обзор) // *Химико-фармацевтический журнал.* 1984. Т. 18. №9. С. 1048-1064.
17. Падейская Е.Н., Яковлев В.П. Фторхинолоны. Москва: изд-во «Биоформ», 1995. 208 с.
18. Kozminykh V.O., Igidov N.M., Kozminykh E.N., Semenova Z.N., Andreichikov Yu.S. Synthesis and antimicrobial activity of new 5-aryl-2-hydroxy-3(2H)-pyrrolinone derivatives // *Pharmazie.* 1992. Bd 47. H. 4. S. 261-263.
19. Kozminykh V.O., Igidov N.M., Kozminykh E.N., Aliev Z.G. Reactions of 5-aryl-furan-2,3-diones with acylmethylenetriphenylphosphoranes: Synthesis and biological activity of 3(2H)-furanone derivatives // *Pharmazie.* 1993. Bd 48. H. 2. S. 99-106.
20. Козьминых В.О., Игидов Н.М., Козьминых Е.Н., Колла В.Э., Дровосокова Л.П., Семенова З.Н., Новоселова Г.Н., Андрейчиков Ю.С. Синтез и биологическая активность 2-замещенных 5-арил-2,3-дигидро-3-фуранонов // *Химико-фармацевтический журнал.* 1992. Т. 26. №2. С. 35-38.