

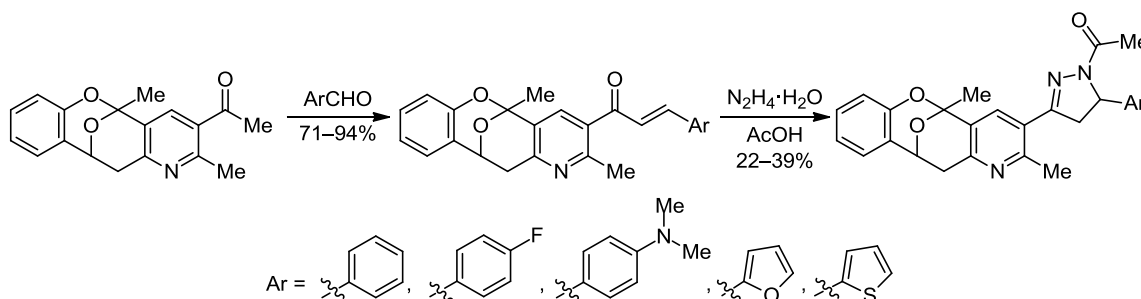
Синтез и противотуберкулезная активность производных 4,5-дигидро-1*H*-пиразола с основным эпоксибензо[7,8]оксоциновым каркасом

Алена Л. Сталинская¹, Наталья А. Денгис²,
Василий С. Власенко², Иван В. Кулаков^{1*}

¹ Школа естественных наук, Тюменский государственный университет,
ул. Переконская, 15а, Тюмень 625003, Россия; e-mail: i.v.kulakov@utmn.ru

² Омский аграрный научный центр,
пр. Королева, 26, Омск 644012, Россия; e-mail: vvs-76@list.ru

Поступило 30.10.2023
Принято 1.02.2024

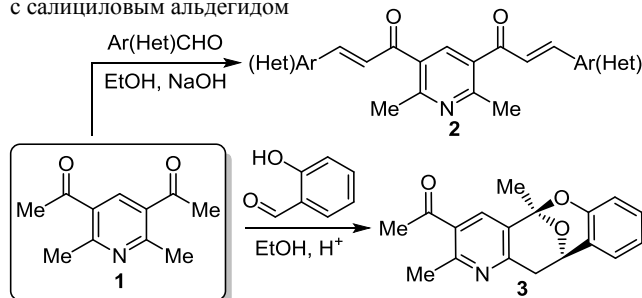


Реакцией альдольно-кетоновой конденсации ацетильного производного эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридина с ароматическими альдегидами были синтезированы соответствующие пиридилхалконы, последующая циклизация которых с гидразин-гидратом в уксусной кислоте привела к соответствующим производным 4,5-дигидро-1*H*-пиразола. Проведено биологическое исследование полученных производных на противотуберкулезную активность.

Ключевые слова: 4,5-дигидро-1*H*-пиразолы, пиридилхалконы, эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридины, противотуберкулезная активность.

Ранее¹ нами было обнаружено, что при модификации структуры 3,5-диацетил-2,6-диметилпиридина (**1**) в симметричные α,β -непредельные кетоны (бисаза-халконы) **2** реакция альдольно-кетоновой конденсации Кляйзена–Шмидта 3,5-диацетил-2,6-диметилпиридина (**1**) с салициловым альдегидом в условиях кислотного катализа (каталитические количества HCl) приводит не к стандартным α,β -непредельным кетонам типа **2**, как это было показано нами на примере основного катализа с другими ароматическими альдегидами (фурфуролом, бензальдегидом, тиофенкарбальдегидом, 4-диметиламинобензальдегидом, 3,4-диметоксибензальдегидом и 5-бром-2-гидроксибензальдегидом),² а к продукту внутримолекулярной циклизации – 1-((5*S*,11*S*)-2,5-диметил-11,12-дигидро-5*H*-5,11-эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)этан-1-ону (**3**) (схема 1), близкому структурному аналогу интегратастинов³ (рис. 1), содержащему эпоксибензо-оксоциновый фрагмент.

Схема 1. Конденсация 3,5-диацетил-2,6-диметилпиридина (**1**) с салициловым альдегидом



Тетрациклические структуры с эпоксибензо-оксоциновым фрагментом (рис. 1) вызвали интерес у исследователей в качестве многообещающих фармакофоров после выделения из грибов *Ericossum* и *Ericossum nigrum* двух новых природных соединений эпикокколида А ((2*R*,10*S*)-**3**) и эпикокконигрона А. Эти природные соединения проявили широкий спектр

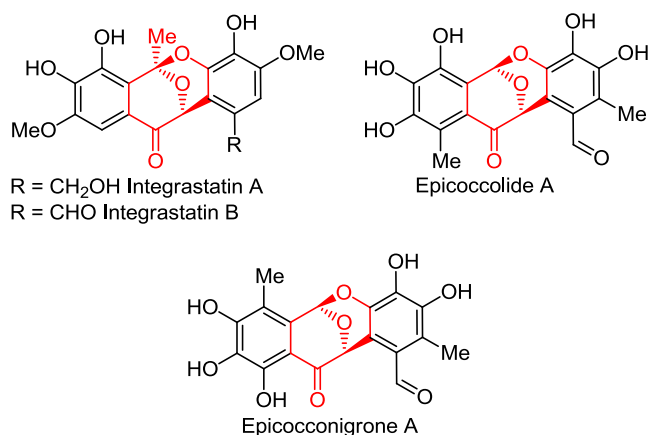


Рисунок 1. Структуры интегратастинов А, В, эпикокколида А ((2*R*,10*S*)-3) и эпикокконигрона А.

биологических свойств, в том числе противомикробную, противогрибковую, антиоксидантную, противоопухолевую и противовирусную активность.^{4–6}

Отметим, что ранее описанные методики построения тетрациклического цикла интегратастина^{7–14} многостадийны, имеют низкие выходы и требуют применения дорогостоящих и труднодоступных реагентов. В нашем случае метод получения пиридинсодержащих аналогов с каркасом интегратастина оказался простым и одностадийным.¹ Реакция образования производных 5*H*-5,11-эпоксibenзо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридина была нами подробно изучена и оптимизирована на примере образования 1-((5*S*,11*S*)-2,5-диметил-11,12-дигидро-5*H*-5,11-эпоксibenзо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)этан-1-она (**3**) из соответствующего 3,5-диацетил-2,6-диметилпиридина (**1**) и салицилового альдегида и также опробована на 20 различных производных салицилового альдегида.¹ Предполагаемый механизм циклизации между 3,5-диацетил-2,6-диметилпиридином (**1**) и салициловым альдегидом в кислой среде с привлечением квантово-химических расчетов приведен нами ранее.¹⁵ Кроме того, границы применимости метода получения эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридинов нами были расширены и опробованы на других 3-ацетил-2-метилпиридинах, содержащих как электронодонорные, так и электроноакцепторные заместители.¹⁶

Наличие активной ацетильной группы в молекуле 1-((5*S*,11*S*)-2,5-диметил-11,12-дигидро-5*H*-5,11-эпоксibenзо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)этан-1-она (**3**) позволяет проводить химические модификации по этой группе для получения библиотеки новых синтетических аналогов природных интегратастинов А, В,

перспективных для скрининга на противомикробную и противовирусную активность.

В наших опубликованных ранее работах^{17,18} среди модифицированных по положению С-3 производных эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридина **3** было выявлено несколько соединений, способных подавлять рост микобактерий и репликацию вируса SARS-CoV-2.

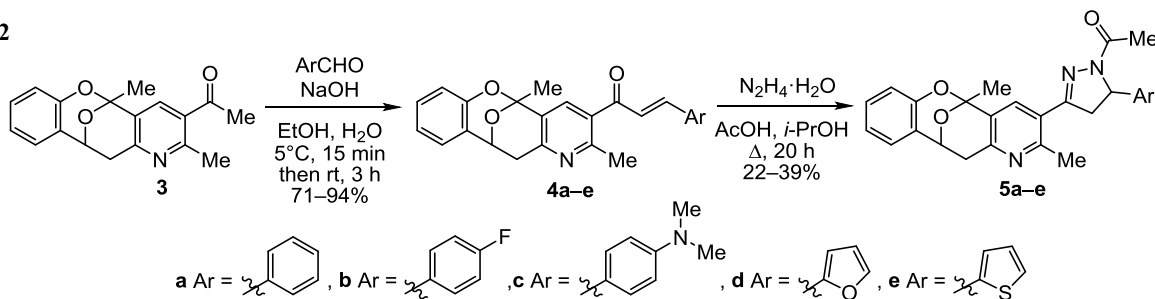
Полученные нами результаты в совокупности оправдывают стратегию введения в структуру оксоцино[4,3-*b*]пиридина **3** новых фармакофорных групп с получением новых производных и исследованием их биологической активности.

Развивающаяся устойчивость многих микробных штаммов к антибиотикам представляет собой одну из ключевых медицинских проблем, поэтому одной из актуальных тем исследований является поиск и синтез новых молекул, обладающих потенциальными антимикробными свойствами.^{19–21} Производные 4,5-дигидро-1*H*-пиразола широко используются в качестве стартовых структур при разработке противомикробных препаратов.²² Следует отметить, что пиридинсодержащие производные 4,5-дигидро-1*H*-пиразола малотоксичны, как и их фенилзамещенные аналоги, а производные, содержащие пиридиновый цикл, обладают оптимальной биодоступностью согласно правилу Липински.²³ Производные 4,5-дигидро-1*H*-пиразола обладают широким спектром биологических свойств: проявляют антипаразитарное,²⁴ антиоксидантное,²⁵ анальгетическое,²⁶ противоопухолевое,^{27–29} противовоспалительное,^{30,31} бактериостатическое,^{32–35} противовирусное³⁶ и другие действия.^{37–40}

Ранее нами были синтезированы симметричные 3,5-биспроизводные α,β-ненасыщенных кетонов и 4,5-дигидро-1*H*-пиразолов на основе 3,5-диацетил-2,6-диметилпиридина (**1**).² По данным биологических испытаний *in vitro*, синтезируемые соединения проявляют умеренно выраженную анальгетическую активность. Также на основе малоизученных 3-ацетил-2-метил-5-нитро-6-фенилпиридинов нами были получены новые потенциально биологически активные производные пиридилхалкона и 4,5-дигидро-1*H*-пиразола, содержащие в своей структуре несколько фармакофорных групп.⁴¹

Для получения пиридилхалконов **4a–e** проводили конденсацию по Кляйзену–Шмидту эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридина **3** с различными ароматическими альдегидами в щелочной водно-спиртовой среде (схема 2). Пиридилхалконы **4a–e** были выделены с хорошими выходами (71–94%) в виде мелкокристал-

Схема 2



лических осадков, выпадающих из реакционной смеси за короткое время реакции (15 мин).

Для внедрения в структуру соединений **4a–e** новой фармакофорной группы – 1*H*-пиразольного цикла – была проведена реакция гетероциклизации пиридилхалконов **4a–e** с гидразингидратом в присутствии АсОН (схема 2). Длительное кипячение в среде АсОН–*i*-PrОН в течение 20 ч привело к образованию 4,5-дигидро-1*H*-пиразолов **5a–e** с выходами 22–39%. Одно из производных – 4,5-дигидро-1*H*-пиразол **5d** – содержит в структуре ацидофобный фурановый цикл, который в жестких условиях подвержен осмолению. Тем не менее нам удалось выделить целевой продукт из реакционной смеси с выходом 22% путем колоночной хроматографии на силикагеле. Достаточно низкий выход (29%) 4,5-дигидро-1*H*-пиразола **5c**, вероятнее всего, связан с пониженной активностью связи С=C халкона **4c** из-за донорного влияния диметиламинофенильного заместителя. Пиридилхалконы **4a,b,e** имеют в структуре более устойчивые заместители, поэтому выходы конечных продуктов выше (33% для соединения **5a**, 39% для соединения **5b**, 36% для соединения **5e**).

Согласно спектрам ЯМР продуктов реакции, установлено, что реакция синтеза пиразолинов **5a–e** идет достаточно стереоселективно с образованием только одного стереоизомера (или смеси энантиомеров) и, несмотря на возникновение третьего хирального центра, не образуется смесь различающихся по свойствам диастереомеров, как это описано нами ранее.¹⁶

Опираясь на описанные в литературе^{32–35} исследования бактериостатической активности производных халкона и 4,5-дигидро-1*H*-пиразола, мы оценили *in vitro* ингибирующую активность синтезированных производных на основе эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридина в отношении эталонного штамма 14 тест-

культуры *Mycobacterium bovis*.⁴² Способность снижать рост микобактерий оценивали при различных концентрациях соединений, приводящих к частичному (+/-) или полному (0) подавлению роста микобактерий туберкулеза (МБТ) в жидкой среде (табл. 1).

Как видно по табл. 1, пиридилхалконы **4d,e** способны полностью подавлять рост микобактерий *M. bovis* при концентрации 1.56 и 12.5 мкг/мл соответственно, уступая препарату сравнения – гидразиду изоникотиновой кислоты (ГИНК). При дальнейшем разбавлении растворов данных образцов сохранялась умеренная ингибирующая активность с частичным подавлением роста микобактерий (0.195 мкг/мл, 1–9 колоний МБТ на 100 полей зрения). Пиридилхалконы **4b,c** частично подавляют рост микобактерий *M. bovis* (25 и 50 мкг/мл соответственно). Пиридилхалкон **4a** слабо подавляет рост микобактерий *M. bovis* (100 мкг/мл, 1–9 колоний МБТ на 100 полей зрения). Из всех тестируемых производных 4,5-дигидро-1*H*-пиразола, только соединения **5c,d** способны подавлять рост микобактерий *M. bovis*, их ингибирующая концентрация составила 100 и 50 мкг/мл соответственно (полное подавление роста колоний МБТ на 100 полей зрения).

Таким образом, на основе 1-((5*S*,11*S*)-2,5-диметил-11,12-дигидро-5*H*-5,11-эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)этан-1-она были получены новые производные пиридилхалкона и 4,5-дигидро-1*H*-пиразола. Было показано, что наличие электроноакцепторного атома фтора в пиридилхалконе в некоторой степени облегчает его циклизацию в соответствующий 4,5-дигидро-1*H*-пиразол с выходом 39%. Электронодонорная *N*-диметиламиногруппа, напротив, затрудняет циклизацию пиридилхалкона в 4,5-дигидро-1*H*-пиразол, снижая его выход до 29%. Наличие фурильного цикла в пиридилхалконе существенно снижает выход 4,5-дигидро-1*H*-пиразола до 22% и затрудняет его последующее выде-

Таблица 1. Влияние различных концентраций производных эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридина **4a–e**, **5a–e** на выживаемость *Mycobacterium bovis**

Соединение	Концентрация, мкг/мл										Контроль	
	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.195		
4a	+/-	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4b	+/-	+/-	+/-	+	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++
4c	0	+/-	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4d	0	0	0	0	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+++
4e	0	0	0	0	0	0	0	+/-	+/-	+/-	+/-	+++
5a	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5b	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5c	0	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5d	0	0	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5e	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ГИНК**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+++

* Условные обозначения: 0 – отсутствие колоний МБТ на 100 полей зрения; +/- – 1–9 колоний МБТ на 100 полей зрения; + – от 10 до 100 колоний МБТ на 100 полей зрения; ++ – от 1 до 9 колоний МБТ в одном поле зрения; +++ – от 10 и более колоний МБТ в одном поле зрения, образование "кос".

** Препарат сравнения – гидразид изоникотиновой кислоты (ГИНК).

ление из реакционной смеси. В результате проведенных биологических испытаний было выявлено, что из всех тестируемых соединений только 4 соединения обладают умеренной противотуберкулезной активностью в отношении *Mycobacterium bovis*.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C записаны на приборах Bruker DRX400 (400 и 100 МГц соответственно), Bruker Avance 500 (500 и 125 МГц соответственно) и Magritek spinsolve 80 Carbon Ultra (81 и 20 МГц соответственно) в CDCl_3 . Внутренний стандарт – остаточные сигналы растворителя (7.26 м. д. для ядер ^1H и 77.0 м. д. для ядер ^{13}C). Хромато-масс-спектрометрические исследования проведены на хроматографе Хроматэк–Кристалл 5000 с масс-селективным детектором в режиме ионизации ЭУ (70 эВ) на кварцевой капиллярной колонке длиной 30 м, внутренним диаметром 0.25 мм, с толщиной пленки неподвижной фазы 0.25 мкм. Использован режим с делением потока. Расход газа-носителя 20 мл/мин. Скорость газа-носителя (H_2) 2 мл/мин. Температура испарителя 250°C, температура переходной камеры 250°C, температура источника ионов 200°C. Программа изменения температуры термостата колонки: от 100 (задержка 5 мин) до 250°C (задержка 10 мин) со скоростью 30°C/мин, до 320°C (задержка 15 мин) со скоростью 30°C/мин. Общее время анализа 37 мин. Объем вводимой пробы 2 мкл. Хроматограммы записаны в режиме ПС. Диапазон массового сканирования 40–650 а. е. м. Элементный анализ выполнен на автоматическом CHN-анализаторе Carlo Erba EA 1106. Контроль за ходом реакций и чистотой полученных соединений осуществлен методом ТСХ на пластинах Sorbfil АФ-А-УФ, проявление в парах иода и УФ свете.

1-((5*S*,11*S*)-2,5-Диметил-11,12-дигидро-5*H*-5,11-эпоксibenzo[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)этан-1-он (3) синтезирован из 3,5-диацетил-2,6-диметилпиридина (1) по описанной методике.¹

Синтез пиридилхалконов 4а–е (общая методика). К охлажденному до 5°C раствору 163 мг (4.0 ммоль) NaOH в 10 мл EtOH и 2 мл H_2O добавляют 1.0 г (3.0 ммоль) 1-((5*S*,11*S*)-2,5-диметил-11,12-дигидро-5*H*-5,11-эпоксibenzo[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)этан-1-она (3). Затем при постоянном перемешивании добавляют по каплям 4.0 ммоль соответствующего альдегида. Через 15 мин выпадает осадок пиридилхалкона 4а–е, после чего смесь перемешивают при комнатной температуре еще 3 ч. Осадок отфильтровывают, промывают смесью EtOH– H_2O и сушат на воздухе. Сырой продукт очищают перекристаллизацией из *i*-PrOH.

(E)-1-(2,5-Диметил-11,12-дигидро-5*H*-5,11-эпоксibenzo[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)-3-фенилпроп-2-ен-1-он (4а). Выход 0.9 г (77%), белый мелкокристаллический порошок, т. пл. 164–166°C (*i*-PrOH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц), δ , м. д. (*J*, Гц): 1.95 (3H, с, 5- CH_3); 2.58 (3H, с, 2- CH_3 Py); 3.09 (1H, д, $^2J = 18.3$, 12- CH_2); 3.68 (1H, д, д, $^2J = 16.8$, $^3J = 6.1$, 12- CH_2); 5.43 (1H, д, $^3J = 4.6$, 11-CH); 6.75 (1H, д, *J* = 7.6, H-7); 6.90 (1H, т, *J* = 7.6, H-9); 7.06–7.15 (3H, м, 2-CH=, H-8, H-4' Ph);

7.42–7.45 (4H, м, 3-CH=, H-10, H-3',5' Ph); 7.55 (2H, д, *J* = 7.6, H-2',6' Ph); 7.82 (1H, с, H-4 Py). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц), δ , м. д.: 23.5 (CH_3); 26.2 (CH_3); 39.5 (CH_2); 69.7; 96.6; 116.9; 121.3; 123.2; 125.8; 125.9; 128.7 (2C); 129.0; 129.2 (3C); 131.3; 133.2; 133.6; 134.3; 146.9; 150.9; 154.2; 157.1; 194.5 (C=O). Масс-спектр, *m/z* ($I_{\text{отн}}$, %): 383 [$\text{M}]^+$ (94), 340 (68), 207 (52), 91 (36), 43 (100). Найдено, %: C 78.54; H 5.30; N 3.82. $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{NO}_3$. Вычислено, %: C 78.31; H 5.52; N 3.65.

(E)-1-(2,5-Диметил-11,12-дигидро-5*H*-5,11-эпоксibenzo[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)-3-(4-фторфенил)проп-2-ен-1-он (4b). Выход 1.0 г (86%), белый мелкокристаллический порошок, т. пл. 183–185°C (*i*-PrOH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц), δ , м. д. (*J*, Гц): 1.95 (3H, с, 5- CH_3); 2.57 (3H, с, 2- CH_3 Py); 3.08 (1H, д, $^2J = 18.3$, 12- CH_2); 3.68 (1H, д, д, $^2J = 16.8$, $^3J = 6.1$, 12- CH_2); 5.43 (1H, д, $^3J = 6.1$, 11-CH); 6.74 (1H, д, *J* = 7.6, H-7); 6.90 (1H, т, *J* = 6.9, H-9); 7.00 (1H, д, *J* = 16.8, 2-CH=); 7.06–7.13 (4H, м, H-8,10, H-3',5' Ar); 7.41 (1H, д, *J* = 15.3, 3-CH=); 7.53–7.56 (2H, м, H-2',6' Ar); 7.81 (1H, с, H-4 Py). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц), δ , м. д. (*J*, Гц): 23.6 (CH_3); 26.3 (CH_3); 39.5 (CH_2); 69.7; 96.6; 116.5 (д, $^2J_{\text{CF}} = 22.1$); 116.9; 121.3; 123.2; 125.5; 125.8; 129.0; 129.3; 130.5 (2C); 130.6 (д, $^3J_{\text{CF}} = 8.6$); 130.7; 133.2; 133.6; 145.5; 150.9; 154.3; 157.1; 164.5 (д, $^1J_{\text{CF}} = 253.1$); 194.2 (C=O). Масс-спектр, *m/z* ($I_{\text{отн}}$, %): 401 [$\text{M}]^+$ (51), 358 (39), 207 (54), 43 (100). Найдено, %: C 74.68; H 5.24; N 3.27. $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{FNO}_3$. Вычислено, %: C 74.80; H 5.02; N 3.49.

(E)-1-(2,5-Диметил-11,12-дигидро-5*H*-5,11-эпоксibenzo[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)-3-[4-(диметиламино)фенил]проп-2-ен-1-он (4с). Выход 1.0 г (79%), оранжевый мелкокристаллический порошок, т. пл. 173–175°C (*i*-PrOH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц), δ , м. д. (*J*, Гц): 1.94 (3H, с, 5- CH_3); 2.55 (с, 3H, 2- CH_3 Py); 3.04 (6H, с, 2NCH₃); 3.10 (1H, д, *J* = 16.8, 12- CH_2); 3.67 (1H, д, д, $^2J = 16.8$, $^3J = 4.6$, 12- CH_2); 5.42 (1H, д, *J* = 6.1, 11-CH); 6.67 (2H, д, *J* = 7.6, H-3',5' Ar); 6.74 (1H, д, *J* = 9.2, H-7); 6.84 (1H, д, *J* = 15.3, 2-CH=); 6.91 (1H, д, *J* = 7.6, H-9); 7.06 (1H, д, *J* = 7.6, H-10); 7.12 (1H, т, *J* = 7.6, H-8); 7.32 (1H, д, *J* = 16.7, 3-CH=); 7.42 (2H, д, *J* = 9.0, H-2',6' Ar); 7.76 (1H, с, H-4 Py). Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц), δ , м. д.: 23.3 (CH_3); 26.2 (CH_3); 39.5 (CH_2); 40.2 (2C, NCH₃); 69.7; 96.6; 111.9 (2C); 116.9; 120.9; 121.2; 121.7; 123.2; 125.8; 128.9; 129.0; 130.8 (2C); 133.4; 134.1; 148.4; 151.0; 152.5; 153.3; 156.7; 194.9 (C=O). Масс-спектр, *m/z* ($I_{\text{отн}}$, %): 426 [$\text{M}]^+$ (12), 281 (14), 207 (45), 73 (21), 43 (100). Найдено, %: C 76.23; H 6.30; N 6.39. $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$. Вычислено, %: C 76.03; H 6.14; N 6.57.

(E)-1-(2,5-Диметил-11,12-дигидро-5*H*-5,11-эпоксibenzo[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)-3-(фуран-2-ил)проп-2-ен-1-он (4d). Выход 0.8 г (71%), желтые иглы, т. пл. 145–147°C (*i*-PrOH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц), δ , м. д. (*J*, Гц): 1.92 (3H, с, 5- CH_3); 2.55 (3H, с, 2- CH_3 Py); 3.04 (1H, д, *J* = 16.8, 12- CH_2); 3.63 (1H, д, д, $^2J = 16.8$, $^3J = 4.6$, 12- CH_2); 5.38 (1H, д, $^3J = 4.6$, 11-CH); 6.48 (1H, уш. с, H-4 фуран); 6.67 (1H, д, *J* = 4.6, H-3 фуран); 6.71 (1H, д, *J* = 7.6, H-7); 6.86 (1H, т, *J* = 7.6, H-9); 6.96 (1H, д, *J* = 15.3, 2-CH=); 7.02 (1H, д, *J* = 9.2, H-10); 7.08 (1H, т, *J* = 7.6, H-8); 7.22 (1H, д, *J* = 15.2, 3-CH=); 7.51 (1H,

уш. с, Н-5 фуран); 7.80 (1H, с, Н-4 Py). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц), δ , м. д.: 23.6 (CH_3); 26.2 (CH_3); 39.5 (CH_2); 69.7; 96.6; 113.0; 116.9; 117.4; 121.3; 122.7; 123.1; 125.8; 128.9; 129.2; 132.1; 133.3; 133.6; 145.8; 150.9; 151.0; 154.1; 157.3; 193.4 ($\text{C}=\text{O}$). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 373 [M] $^+$ (100), 358 (12), 344 (23), 330 (67). Найдено, %: С 73.74; Н 5.31; N 3.90. $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}_4$. Вычислено, %: С 73.98; Н 5.13; N 3.75.

(E)-1-(2,5-Диметил-11,12-дигидро-5H-5,11-эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)-3-(тиофен-2-ил)проп-2-ен-1-он (4e). Выход 1.1 г (94%), желтый мелкокристаллический порошок, т. пл. 172–174°C (*i*-PrOH). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц) δ , м. д. (J , Гц): 1.95 (3H, с, 5- CH_3); 2.57 (3H, с, 2- CH_3 Py); 3.08 (1H, д, $^2J = 17.1$, 12- CH_2); 3.67 (1H, д, д, $^2J = 17.4$, $^3J = 5.8$, 12- CH_2); 5.42 (1H, д, $^3J = 5.5$, 11-CH); 6.75 (1H, д, $J = 8.0$, Н-7); 6.86 (1H, д, $J = 15.2$, 2-CH=); 6.91 (1H, т, $J = 8.0$, Н-9); 7.05–7.12 (3H, м, Н-8,10, Н-4 тиофен); 7.30 (1H, д, $J = 3.7$, Н-3 тиофен); 7.47 (1H, д, $J = 4.8$, Н-5 тиофен); 7.57 (1H, д, $J = 15.6$, 3-CH=); 7.80 (1H, с, Н-4 Py). Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц), δ , м. д.: 23.5 (CH_3); 26.3 (CH_3); 39.5 (CH_2); 69.7; 96.6; 116.9; 121.3; 123.2; 124.6; 125.8; 128.7; 129.0; 129.3; 130.1; 132.8; 133.3; 133.5; 139.1; 139.7; 150.9; 154.2; 157.1; 193.8 ($\text{C}=\text{O}$). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 389 [M] $^+$ (100), 346 (59), 137 (18), 109 (20), 43 (33). Найдено, %: С 70.77; Н 4.72; N 3.45. $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}_3\text{S}$. Вычислено, %: С 70.93; Н 4.92; N 3.60.

Синтез 4,5-дигидро-1H-пиразолов 5a–e (общая методика). К раствору 0.5 мл (10.0 ммоль) $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ в *i*-PrOH при постоянном перемешивании добавляют по каплям раствор 1.0 ммоль пиридилхалкона 4a–e в AcOH. Смесь кипятят в колбе с обратным холодильником в течение 20 ч, затем охлаждают и выливают на лед. Полученный осадок отфильтровывают и промывают H_2O .

1-[3-(2,5-Диметил-11,12-дигидро-5H-5,11-эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)-5-фенил-4,5-дигидро-1H-пиразол-1-ил]этан-1-он (5a). Выход 145 мг (33%), желтые иглы, т. пл. 235–238°C (*i*-PrOH). Спектр ЯМР ^1H (81 МГц), δ , м. д. (J , Гц): 1.90 (3H, с, 5- CH_3); 2.38 (3H, с, 2- CH_3 Py); 2.81 (3H, с, COCH_3); 3.07 (1H, д, д, $^2J = 17.5$, $^3J = 4.7$, 4- CH_2 пиразол); 3.10 (1H, д, $^2J = 17.2$, 12- CH_2); 3.59 (1H, д, д, $^2J = 16.8$, $^3J = 5.3$, 12- CH_2); 3.86 (1H, д, д, $^2J = 17.4$, $^3J = 11.4$, 4- CH_2 пиразол); 5.39 (1H, д, $^3J = 5.8$, 11-CH); 5.55 (1H, д, д, $^3J = 11.7$, $^3J = 5.1$, Н-5 пиразол); 6.53–7.29 (9H, м, Н Ar); 7.61 (1H, с, Н-4 Py). Спектр ЯМР ^{13}C (20 МГц), δ , м. д.: 22.1 (CH_3); 25.4 (CH_3); 26.2 (CH_3); 39.3 (CH_2); 44.3 (CH_2); 59.4; 69.6; 96.5; 116.8; 121.2; 123.1; 124.9; 125.5 (2C); 125.7; 127.9; 128.8; 129.1 (2C); 129.6; 133.5; 141.6; 150.8; 152.4 (2C); 158.0; 169.1 ($\text{C}=\text{O}$). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 439 [M] $^+$ (60), 396 (40), 354 (12), 207 (16), 91 (20), 43 (100). Найдено, %: С 73.95; Н 5.91; N 9.40. $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3$. Вычислено, %: С 73.79; Н 5.73; N 9.56.

1-[3-(2,5-Диметил-11,12-дигидро-5H-5,11-эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)-5-(4-фторфенил)-4,5-дигидро-1H-пиразол-1-ил]этан-1-он (5b). Выход 178 мг (39%), белые иглы, т. пл. 226–228°C (*i*-PrOH). Спектр ЯМР ^1H (500 МГц), δ , м. д. (J , Гц):

1.93 (3H, с, 5- CH_3); 2.38 (3H, с, 2- CH_3 Py); 2.87 (3H, с, COCH_3); 3.16 (1H, д, $^2J = 17.6$, 12- CH_2); 3.17 (1H, д, д, $^2J = 17.6$, $^3J = 4.6$, 4- CH_2 пиразол); 3.69 (1H, д, д, $^2J = 17.5$, $^3J = 5.6$, 12- CH_2); 3.83 (1H, д, д, $^2J = 17.5$, $^3J = 11.9$, 4- CH_2 пиразол); 5.41 (1H, д, $^3J = 5.5$, 11-CH); 5.55 (1H, д, д, $^3J = 12.0$, $^3J = 5.0$, Н-5 пиразол); 6.71 (1H, т, $J = 7.8$, Н Ar); 6.88 (1H, т, $J = 7.5$, Н Ar); 6.99–7.10 (4H, м, Н Ar); 7.14–7.23 (2H, м, Н Ar); 7.66 (1H, с, Н-4 Py). Спектр ЯМР ^{13}C (126 МГц), δ , м. д. (J , Гц): 22.0 (CH_3); 25.3 (CH_3); 26.1 (CH_3); 38.6 (CH_2); 44.0 (CH_2); 58.7; 69.2; 96.1; 115.9 (2C, д, $^2J_{\text{CF}} = 21.8$); 116.7; 121.3; 122.8; 125.3; 125.7; 127.2 (2C, д, $^3J_{\text{CF}} = 8.2$); 128.8; 130.2; 134.1; 137.2; 150.5; 151.5; 152.0; 157.5; 162.2 (д, $^1J_{\text{CF}} = 246.6$); 169.0 ($\text{C}=\text{O}$). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 457 [M] $^+$ (23), 414 (25), 281 (10), 207 (25), 73 (12), 43 (100). Найдено, %: С 70.70; Н 5.43; N 9.35. $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{FN}_3\text{O}_3$. Вычислено, %: С 70.88; Н 5.29; N 9.18.

1-[3-(2,5-Диметил-11,12-дигидро-5H-5,11-эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)-5-[4-(диметиламино)фенил-4,5-дигидро-1H-пиразол-1-ил]этан-1-он (5c). Выход 140 мг (29%), бежевые иглы, т. пл. 205–207°C (SiO_2 , EtOAc–гексан, 1:3). Спектр ЯМР ^1H (81 МГц), δ , м. д. (J , Гц): 1.91 (3H, с, 5- CH_3); 2.36 (3H, с, 2- CH_3 Py); 2.81 (3H, с, COCH_3); 2.91 (6H, с, 4- $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2.99–3.37 (2H, м, 12- CH_2 , 4- CH_2 пиразол); 3.67 (2H, д, д, $^2J = 16.8$, $^3J = 5.0$, 12- CH_2 , 4- CH_2 пиразол); 5.41 (1H, д, $^3J = 5.0$, 11-CH); 5.48 (1H, д, д, $^3J = 11.8$, $^3J = 5.5$, Н-5 пиразол); 6.49–7.21 (8H, м, Н Ar); 7.63 (1H, с, Н-4 Py). Спектр ЯМР ^{13}C (20 МГц), δ , м. д.: 22.0 (CH_3); 25.3 (CH_3); 26.3 (CH_3); 39.2 (CH_2); 40.5 (2C, NCH_3); 44.1 (CH_2); 58.8; 69.; 96.4; 112.7 (2C); 116.7; 121.1; 123.1; 124.9; 125.1; 125.6; 126.4 (2C); 128.7; 129.3; 133.3; 148.4; 150.1; 150.7; 152.2; 157.8; 168.8 ($\text{C}=\text{O}$). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 482 [M] $^+$ (3), 207 (23), 73 (14), 43 (100). Найдено, %: С 72.34; Н 6.52; N 11.38. $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_3$. Вычислено, %: С 72.18; Н 6.27; N 11.61.

1-[3-(2,5-Диметил-11,12-дигидро-5H-5,11-эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)-5-(фуран-2-ил)-4,5-дигидро-1H-пиразол-1-ил]этан-1-он (5d). Выход 94 мг (22%), желтые иглы, т. пл. 189–191°C (SiO_2 , EtOAc–гексан, 1:3). Спектр ЯМР ^1H (81 МГц), δ , м. д. (J , Гц): 2.03 (3H, с, 5- CH_3); 2.42 (3H, с, 2- CH_3 Py); 2.86 (3H, с, COCH_3); 3.12 (1H, д, $^2J = 17.0$, 12- CH_2); 3.53–3.90 (1H, д, д, $^2J = 17.4$, $^3J = 6.5$, 4- CH_2 пиразол) и (1H, д, д, $^2J = 17.4$, $^3J = 11.5$, 4- CH_2 пиразол) и (1H, д, д, $^2J = 17.0$, $^3J = 5.5$, 12- CH_2); 5.48 (1H, д, $^3J = 5.1$, 11-CH); 5.71 (1H, д, д, $^3J = 10.3$, $^3J = 6.3$, Н-5 пиразол); 6.43 (2H, уш. с, Н-3,4 фуран); 6.76–6.94 (2H, м, Н-7,9 оксоцин); 7.01–7.20 (2H, м, Н-8,10 оксоцин); 7.40 (1H, уш. с, Н-5 фуран); 7.75 (1H, с, Н-4 Py). Спектр ЯМР ^{13}C (20 МГц), δ , м. д.: 22.1 (CH_3); 26.2 (CH_3); 39.3 (CH_2); 40.1 (CH_2); 52.8; 60.4; 69.6; 96.5; 107.9; 110.7; 116.8; 121.2; 123.2; 124.9; 125.7; 128.8; 129.5; 133.5; 142.1; 150.8; 151.8; 152.5 (2C); 157.9; 169.1 ($\text{C}=\text{O}$). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 429 [M] $^+$ (100), 386 (79), 344 (14), 43 (79). Найдено, %: С 69.77; Н 5.59; N 9.91. $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_4$. Вычислено, %: С 69.92; Н 5.40; N 9.78.

1-[3-(2,5-Диметил-11,12-дигидро-5H-5,11-эпоксибензо[7,8]оксоцино[4,3-*b*]пиридин-3-ил)-5-(тиофен-2-ил)-

4,5-дигидро-1H-пиразол-1-ил]этан-1-он (5e). Выход 160 мг (36%), белые иглы, т. пл. 190–192°C (SiO₂, EtOAc–гексан, 1:3). Спектр ЯМР ¹H (81 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 1.94 (3H, с, 5-CH₃); 2.37 (3H, с, 2-CH₃Py); 2.79 (3H, с, СОСН₃); 3.07 (1H, д, ²J = 17.4, 12-CH₂); 3.20–4.09 (1H, д, д, ²J = 17.5, ³J = 4.5, 12-CH₂) и (1H, д, д, ²J = 17.5, ³J = 4.5, 4-CH₂ пиразол) и (1H, д, д, ²J = 17.5, ²J = 11.2, 4-CH₂ пиразол); 5.41 (1H, д, ³J = 4.3, 11-CH); 5.88 (1H, д, д, ³J = 11.1, ³J = 4.4, Н-5 пиразол); 6.72 (1H, д, д, ³J = 8.2, ⁴J = 1.6, Н-7 оксоцин); 6.81–7.05 (4H, м, Н-3,4 тиофен, Н-8,9 оксоцин); 7.09–7.26 (2H, Н-5 тиофен, Н-10 оксоцин); 7.65 (1H, с, Н-4 Py). Спектр ЯМР ¹³C (20 МГц), δ, м. д.: 22.1 (CH₃); 26.3 (2C, CH₃); 39.4 (CH₂); 44.1 (CH₂); 54.9; 69.7; 96.5; 116.9; 121.3; 123.2; 124.9 (3C); 125.8; 127.0; 128.9; 129.6; 133.4; 144.1; 150.8; 152.3; 152.6; 158.0; 169.1 (C=O). Масс-спектр, m/z (I_{отн}, %): 445 [M]⁺ (82), 402 (68), 360 (18), 43 (100). Найдено, %: С 67.59; Н 5.42; N 9.21. C₂₅H₂₃N₃O₃S. Вычислено, %: С 67.40; Н 5.20; N 9.43.

Исследование противотуберкулезной активности in vitro соединений 4, 5 а–е проведено в отношении 14–21-дневной культуры эталонного штамма 14 *Mycobacterium bovis* биоресурсной коллекции "Омского аграрного научного центра", выращенной на плотной яичной среде Левенштейна–Йенсена. Для выявления бактериостатической активности применен метод серийных разведений (от 100 до 0.195 мкг/мл) в пробирках с культуральной средой Школьниковой: КН₂РО₄, Na₂НРО₄, сульфат магния, цитрат натрия, цитрат аммония–железа, L-аспарагин, глицерин, Н₂О. Во все пробирки разливают по 2 мл среды, затем в первую опытную наливают 4 мл исходного рабочего разведения (10 мг изучаемого соединения растворяют в 10 мл ДМСО, из полученного разведения берут 1 мл и добавляют 9 мл среды Школьниковой, тем самым доводят концентрацию до 100 мкг/мл). Ряд серийных разведений получают, перенося последовательно из каждой пробирки в следующую по 2 мл жидкости. Из последней, 10-й, пробирки 2 мл жидкости удаляют. В каждом опытном ряду также используют по 2 контрольные пробирки, содержащие среду без соединения. Из культуры микобактерий готовят гомогенную смесь, содержащую 500 млн микробных тел в 1 мл стерильного физиологического раствора по оптическому стандарту. После засева бактериальной суспензии во все пробирки каждого опытного ряда с разными концентрациями изучаемых соединений их закрывают силиконовыми пробками и инкубируют в термостате при 37°C в течение 14 сут. По истечении срока инкубации из осадка на дне пробирки готовят мазки и окрашивают по Цилю–Нильсену. Результаты оценивают по количеству микобактерий в полях зрения и интенсивности "косообразования" при микроскопии мазков по следующей схеме: 0 – отсутствие колоний МБТ на 100 полей зрения; ± – 1–9 колоний МБТ на 100 полей зрения; + – от 10 до 100 колоний МБТ на 100 полей зрения; ++ – от 1 до 9 колоний МБТ в одном поле зрения; +++ – от 10 и более колоний МБТ в одном поле зрения, образование "кос"⁴².

Файл сопроводительных материалов, содержащий спектры ЯМР ¹H, ¹³C и масс-спектры всех синтезированных соединений, доступен на сайте журнала <http://hgs.osi.lv>.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант 22-23-01015, <https://rscf.ru/project/22-23-01015/>).

Список литературы

- Kulakov, I. V.; Stalinskaya, A. L.; Chikunov, S. Y.; Gatilov, Yu. V. *New J. Chem.* **2021**, *45*, 3559.
- Oleshchuk, A. L.; Karbainova, A. A.; Krivoruchko, T. N.; Shulgau, Z. T.; Seilkhanov, T. M.; Kulakov, I. V. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2019**, *55*, 47.
- Singh, S. B.; Zink, D. L.; Quamina, D. S.; Pelaez, F.; Teran, A.; Felock, P.; Hazuda, D. J. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2351.
- Talontsi, F. M.; Dittrich, B.; Schuffler, A.; Sun, H.; Laatsch, H. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 3174.
- El Amrani, M.; Lai, D.; Debbab, A.; Aly, A. H.; Siems, K.; Seidel, C.; Schnekenburger, M.; Gaigneaux, A.; Diederich, M.; Feger, D.; Lin, W.; Proksch, P. *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 49.
- Oumzil, H.; Ghoulami, S.; Rhajaoui, M.; Ildrissi, A.; Fkih-Tetouani, S.; Faïd, M.; Benjouad, A. *Phytother. Res.* **2002**, *16*, 727.
- Foot, J. S.; Giblin, G. M.; Taylor, R. J. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4441.
- Foot, J. S.; Giblin, G. M.; Whitwood, A. C.; Taylor, R. J. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 756.
- Ramana, C. V.; Nageswara, Reddy C.; Gonnade, R. G. *Chem. Commun.* **2008**, 3151.
- More, A. A.; Ramana, C. V. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 612.
- More, A. A.; Ramana, C. V. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 1458.
- Tadross, P. M.; Bugga, P.; Stoltz, B. M. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 5354.
- Jeong, J. Y.; Sperry, J.; Brimble, M. A. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 11935.
- Yamagiwa, Y.; Haruna, N.; Kawakami, H.; Matsumoto, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2020**, *93*(8), 1036.
- Stalinskaya, A. L.; Chikunov, S. Y.; Pustolaikina, I. A.; Kulakov, I. V. *Russ. J. Gen. Chem.* **2022**, *92*, 914.
- Stalinskaya, A. L.; Chikunov, S. Y.; Pustolaikina, I. A.; Gatilov, Yu. V.; Kulakov, I. V. *Synthesis* **2024**, 329.
- Stalinskaya, A. L.; Martynenko, N. V.; Shulgau, Z. T.; Shustov, A. V.; Keyer, V. V.; Kulakov, I. V. *Molecules* **2022**, *27*, 3701.
- Stalinskaya, A. L.; Martynenko, N. V.; Alkhimova, L. E.; Dilbaryan, D. S.; Vasilchenko, A. S.; Dengis, N. A.; Vlasenko, V. S.; Kulakov, I. V. *J. Mol. Struct.* **2023**, *1275*, 134689.
- Sayed, M.; El-Dean, A. M. K.; Ahmed, M.; Hassanien, R. *J. Heterocycl. Chem.* **2018**, *55*, 1166.
- Allaka, T. R.; Katari, N. K. *Recent Developments in the Synthesis and Applications of Pyridines*; Elsevier, 2023, p. 605.
- Marinescu, M.; Popa, C.-V. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 5659.
- Jain, S. K.; Singhal, R. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2020**, *12*(6), 15.
- Lone, I. H.; Khan, K. Z.; Fozdar, B. I. *Med. Chem. Res.* **2014**, *23*, 363.
- Morais, C. S.; Mengarda, A. C.; Miguel, F. B.; Enes, K. B.; Rodrigues, V. C.; Espírito-Santo, M. C. C.; Siyatpanah, A.; Wilairatana, P.; Couri, M. R. C.; de Moraes, J. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 23437.

25. ElBordiny, H. S.; El-Miligy, M. M.; Kassab, S. E.; Daabees, H.; Ali, W. A. M.; El-Hawash, S. A. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 145, 594.
25. Abdel-Latif, N. A.; Sabry, N. M.; Mohamed, A. M.; Abdulla, M. M. *Monatsh. Chem.* **2007**, 138, 715.
26. Zhang, Y.; Xia, A.; Zhang, S.; Lin, G.; Liu, J.; Chen, P.; Mu, B.; Jiao, Y.; Xu, W.; Chen, M.; Li, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2021**, 41, 127988.
27. Tok, F.; Erdoğan, Ö.; Çevik, Ö.; Koçyiğit-Kaymakçioğlu, B. *Acta Chim. Slov.* **2022**, 69(2), 293.
28. Dilek Altıntop, M.; Ozdemir, A.; Ilgin, S.; Atli, O. *Lett. Drug Des. Discovery* **2014**, 11, 833.
29. Dong, L.; Fang, L.; Dai, X.; Zhang, J.; Wang, J.; Xu, P. *Drug Dev. Res.* **2022**, 83, 131.
30. Sondhi, S. M.; Kumar, S.; Kumar, N.; Roy, P. *Med. Chem. Res.* **2012**, 21, 3043.
31. Lee, C. S.; Allwine, D. A.; Barbachyn, M. R.; Grega, K. C.; Dolak, L. A.; Ford, C. W.; Jensen, R. M.; Seest, E. P.; Hamel, J. C.; Schaadt, R. D.; Stapert, D.; Yagi, B. H.; Zurenko, G. E.; Genin, M. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 3243.
32. Wong, K. T.; Osman, H.; Parumasivam, T.; Supratman, U.; Che Omar, M. T.; Azmi, M. N. *Molecules* **2021**, 26, 2081.
33. Sridhar, R.; Perumal, P. T.; Etti, S.; Shanmugam, G.; Ponnuswamy, M. N.; Prabavathy, V. R.; Mathivanan, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 6035.
34. Soliman, R.; Habib, N. S.; Ashour, F. A.; el-Taiebi, M. *Boll. Chim. Farm.* **2001**, 140, 140.
35. el-Sabbagh, O. I.; Baraka, M. M.; Ibrahim, S. M.; Pannecouque, C.; Andrei, G.; Snoeck, R.; Balzarini, J.; Rashad, A. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 3746.
36. Sharma, S.; Ansari, M. H. R.; Sharma, K.; Singh, R. K.; Ali, S.; Alam, M. M.; Zaman, S. M.; Alam, P.; Akhter, M. *Future Med. Chem.* **2023**, 15, 9.
37. Ali, S. A.; Awad, S. M.; Said, A. M.; Mahgoub, S.; Taha, H.; Ahmed, N. M. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2020**, 35, 847.
39. Bhutani, R.; Pathak, D. P.; Husain, A.; Kapoor, G.; Kant, R. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2015**, 6, 4113.
40. Karrouchi, K.; Radi, S.; Ramli, Y.; Taoufik, J.; Mabkhot, Y. N.; Al-aizari, F. A.; Ansar, M'h. *Molecules* **2018**, 23, 134.
41. Stalinskaya, A. L.; Weber, D. F.; Seilkhanov, T. M.; Kulakov, I. V. *Monatsh. Chem.* **2021**, 152, 337.
42. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*; Миронов, А. Н., Ред.; Гриф и К: Москва, 2012, ч. 1, с. 566.