

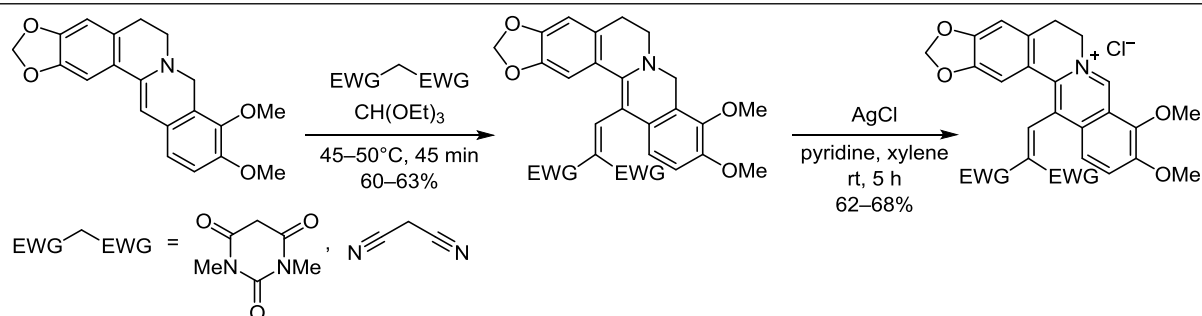
Первые 13-винилпроизводные берберина: синтез и антимикробная активность

Олег Д. Демехин¹, Александр Д. Загребаев¹, Олег Н. Буров^{1*},
Михаил Е. Клецкий¹, Наталья В. Павлович², Елена А. Березняк²,
Марина В. Цимбалистова², Сергей В. Курбатов¹

¹ Южный федеральный университет,
ул. Зорге, 7, Ростов-на-Дону 344090, Россия; e-mail: bbole@gmail.com

² Федеральное казенное учреждение здравоохранения
Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,
ул. М. Горького, 117/40, Ростов-на-Дону 344002, Россия; e-mail: labbiobez@mail.ru

Поступило 16.07.2019
Принято после доработки 26.09.2019



Разработан метод синтеза 13-винилпроизводных берберина, заключающийся в первоначальном взаимодействии триэтилортоформиата с СН-кислотами в присутствии каталитических количеств *para*-толуолсульфокислоты с последующей реакцией электрофильных этоксиэтиленов с дигидроберберинном. 13-Винилдигидроберберины устойчивы к самопроизвольному окислению или диспропорционированию и могут быть окислены до соответствующих 13-замещенных ионных форм хлоридом серебра. Установлено, что синтезированные винилберберины подавляют развитие ряда особо опасных микроорганизмов.

Ключевые слова: активированные этилены, берберин, дигидроберберин, антимикробная активность, электрофильное замещение.

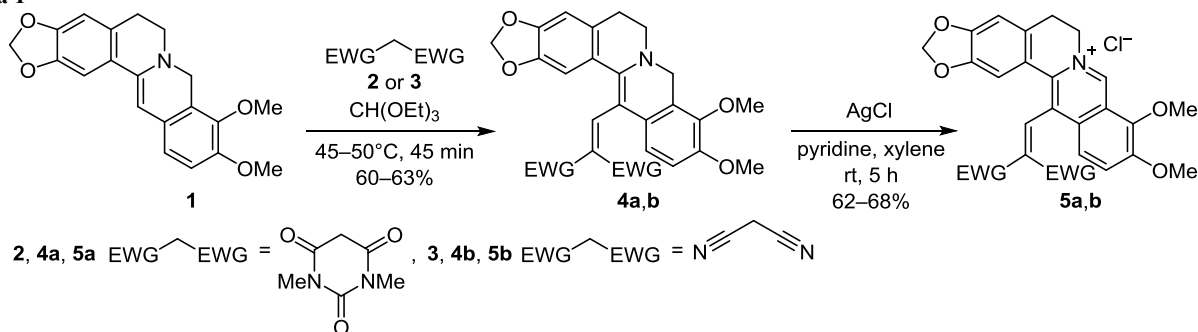
Синтез соединений, способных воздействовать на бактерии путем влияния на ключевые механизмы лекарственной резистентности, является чрезвычайно актуальной задачей медицинской химии.^{1–4} Такие структуры целесообразно искать среди производных берберина, который обладает достаточно высоким антибактериальным действием, хорошо координируется с клеточными стенками^{1–3} и потому широко исследован в качестве антибиотика для широкого ряда инфекций.^{4–7}

Известно, что при введении заместителей в положение С-13 предварительно восстановленного берберина (дигидроберберина (**1**), схема 1) удастся получить производные с антибактериальной активностью.⁸ Ранее нами был предложен метод введения в положение С-13 восстановленных форм берберина нитроарильных фрагментов с образованием новых связей С(13)–С(Ar).^{9,10} Если эти заместители являются электроноакцептор-

ными, то целевые продукты обладают высокой устойчивостью в восстановленных формах. Мы сообщаем о первом применении в качестве С(sp²)-электрофила этилена, содержащего электроноакцепторные группы и этоксигруппу в качестве нуклеофуга. При взаимодействии триэтилортоформиата с диметилбарбитуровой кислотой или малондинитрилом в присутствии каталитических количеств *para*-толуолсульфокислоты нами были получены электрофильные этилены **2**, **3**, соответствующие ранее описанным.^{11,12}

Взаимодействие этоксиэтиленов **2**, **3** с дигидроберберинном (**1**) проводилось в среде триэтилортоформиата без катализатора при температуре 45–50 °С в течение 45 мин (схема 1). Особенностью 13-винилбербериннов **4a,b** является их структурная устойчивость – самопроизвольного окисления на воздухе таких систем не наблюдается. Для получения водорастворимых катионных форм **5a,b** мы провели окисление 13-винил-

Схема 1



дигидроберберинов **4a,b** мягким окислителем AgCl. Использование жестких окислителей, таких как галогены и галогенсукцинимиды, для производных **4a,b** неприемлемо, поскольку приводит к деструкции и образованию галогенида берберина.

Проведена оценка антибактериальной активности 13-винилберберинов **5a,b** на чистых культурах как традиционно используемых *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*, так и особо опасных микроорганизмов *Vibrio cholerae* и *Brucella abortus*. Выбранные микроорганизмы относятся как к грамположительным, так и к грамотрицательным, что позволяет оценить терапевтический потенциал синтезированных соединений в качестве antimicrobных препаратов. Метод серийных разведений в агаре Мюллер–Хинтона основан на прямом определении основного количественного показателя, характеризующего антибактериальную активность препарата – значение его минимальной подавляющей концентрации.¹³ Как видно по табл. 1, соединения **5a,b** проявили умеренную активность по отношению к возбудителю бруцеллеза и холерному вибриону. По антимикробной активности полученные соединения не уступают исходному берберину.^{14–18} Производные **5a,b** могут представлять интерес как составная часть комплексных препаратов для борьбы с особо опасными патогенными микроорганизмами.¹⁹

Таким образом, нами впервые разработан метод получения 13-винилпроизводных дигидроберберина, в которых алкалоидный каркас сопряжен с электроноакцепторной группой. Показано, что электронейтральные 13-винилдигидроберберины самопроизвольно не диспропорционируются и не окисляются на воздухе. Для получения 13-винилберберин соответствующие дигидроформы целесообразно окислить хлоридом серебра.

Таблица 1. Минимальная подавляющая концентрация 13-винилберберинов **5a,b**, мкг/мл

Микроорганизм	Соединение	
	5a	5b
<i>Escherichia coli</i>	>256	>256
<i>Staphylococcus aureus</i>	>256	256
<i>Vibrio cholerae</i>	256	128
<i>Brucella abortus</i>	64	128

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C зарегистрированы на спектрометре Bruker DPX-250 (250 и 63 МГц соответственно) в CDCl₃, внутренний стандарт ТМС. Для спектров ЯМР ¹³C характерно перекрытие ряда сигналов, поэтому их фактическое число меньше теоретического. Масс-спектры высокого разрешения записаны на приборе Bruker UHR-TOF Maxis™ Impact и на приборе Bruker micrOTOF II (ионизация электрораспылением) с регистрацией положительных ионов (напряжение на капилляре 4500 В). Диапазон сканирования масс 50–3000 Да. Температуры плавления определены в стеклянных капиллярах на приборе ПТП. Для колоночной хроматографии использован силикагель Merck Silicagel 60 (70–230 мкм).

В синтезах использованы коммерчески доступные гидрат хлорида берберина (Alfa Aesar), *N,N*-диметилбарбитуровая кислота (Alfa Aesar) и триэтилортоформиат (Fluka).

Синтез дигидроберберинов 4a,b (общая методика). К раствору 1 ммоль соответствующего этоксиэтилена **2, 3** в 5 мл триэтилортоформиата добавляют 372 мг (1 ммоль) дигидроберберина (**1**),⁸ перемешивают в течение 45 мин при температуре 45–50 °С в атмосфере аргона. Реакционную смесь разделяют методом колоночной хроматографии на силикагеле, колонка 2 × 20 см, элюент CH₂Cl₂–EtOH, 100:1. Собирают окрашенную фракцию с R_f 0.6–0.7. Продукты перекристаллизовывают из тетрахлорэтилена.

5-[(7,8-Дигидроберберин-13-ил)метилен]-1,3-диметилпиримидин-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-трион (4a). Выход 316 мг (63%), фиолетовые игольчатые кристаллы, т. пл. 163–164 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 3.03–3.29 (8*H*, м, 2*N*Me, 5-CH₂); 3.74–3.77 (2*H*, м, 6-CH₂); 3.84 (3*H*, с, 9-OCH₃); 3.85 (3*H*, с, 10-OCH₃); 4.81 (2*H*, с, 8-CH₂); 5.97 (2*H*, с, OCH₂O); 6.66 (1*H*, с, CH=); 6.96 (1*H*, д, *J* = 8.6, *H*-12); 7.14 (1*H*, с *H*-1); 7.49 (1*H*, д, *J* = 8.6, *H*-11); 8.13 (1*H*, с, *H*-4). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 170.0; 153.0; 152.1; 150.0; 146.9; 144.1; 142.4; 132.9; 130.1; 121.6; 120.8; 117.5; 113.5; 110.8; 110.1; 107.6; 102.1; 93.9; 61.1; 56.2; 50.8; 49.2; 27.8. Найдено, *m/z*: 502.1522 [M–H]⁺. C₂₇H₂₄N₃O₇. Вычислено, *m/z*: 502.1609.

[(7,8-Дигидроберберин-13-ил)метилен]малонитрил (4b). Выход 247 мг (60%), оранжевые игольчатые кристаллы, т. пл. 167–168 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 2.99 (2*H*, т, *J* = 6.5, 5-CH₂); 3.81 (5*H*, с,

6-CH₂, 9-OCH₃); 3.85 (3H, с, 10-OCH₃); 4.81 (2H, с, 8-CH₂); 6.20 (2H, с, OCH₂O); 7.05 (1H, с, CH=); 7.10 (2H, д, $J = 8.6$, H Ar); 7.25 (2H, т, $J = 4.3$, H Ar). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 162.4; 152.0; 150.9; 147.5; 147.0; 143.8; 136.6; 124.9; 122.6; 119.8; 118.3; 112.0; 110.7; 109.2; 107.2; 102.8; 61.1; 56.4; 50.0; 49.7; 48.4; 27.6. Найдено, m/z : 412.1284 [M-H]⁺. C₂₄H₁₈N₃O₄. Вычислено, m/z : 412.1292.

Синтез 13-винилберберинов 5a,b окислением дигидроберберинов 4a,b (общая методика). В 10 мл смеси ксилол–пиридин, 5:1 растворяют 1 ммоль соответствующего дигидроберберина **4a,b**, добавляют 2 ммоль AgCl. Перемешивают в течение 5 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь отфильтровывают, маточный раствор упаривают в токе воздуха при комнатной температуре и разделяют методом колоночной хроматографии на силикагеле, колонка 2 × 20 см, элюент смесь CH₂Cl₂–EtOH, 10:1. Собирают вторую фракцию оранжевого цвета с R_f 0.2. Продукты перекристаллизовывают из *i*-PrOH.

Хлорид 13-[(1,3-диметил-2,4,6-триоксотетрагидропиримидин-5(2H)-илиден)метил]берберина (5a). Выход 341 мг (68%), бледно-желтые игольчатые кристаллы, т. пл. 164–165 °С (с разл.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д.: 3.13 (6H, с, 2NCH₃); 3.24–3.29 (1H, м, 5-CH₂); 3.65–3.73 (1H, м, 5-CH₂); 4.04 (3H, с, 9-OCH₃); 4.14 (3H, с, 10-OCH₃); 4.94 (2H, с, 6-CH₂); 6.07 (2H, с, OCH₂O); 6.74 (1H, с, H-4); 7.27 (1H, с, H-1); 7.64–7.81 (2H, м, H-11,12); 8.18 (1H, с, CH=); 9.69 (1H, с, H-8). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 152.5; 150.9; 150.8; 150.2; 148.5; 144.9; 144.6; 138.0; 133.3; 129.9; 126.5; 122.6; 121.9; 120.3; 120.1; 108.4; 105.3; 102.4; 101.2; 62.2; 57.1; 56.1; 27.8; 27.5. Найдено, m/z : 502.1609 [M-Cl]⁺. C₂₇H₂₄N₃O₇. Вычислено, m/z : 502.1609.

Хлорид 13-(2,2-дицианоэтен-1-ил)берберина (5b). Выход 255 мг (62%), желто-оранжевые игольчатые кристаллы, т. пл. 182–183 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J , Гц): 3.32 (2H, с, 5-CH₂); 4.10 (3H, с, 9-OCH₃); 4.36 (3H, с, 10-OCH₃); 5.30 (2H, д, $J = 8.6$, 6-CH₂); 6.12 (2H, с, OCH₂O); 6.86 (1H, с, H-4); 7.37 (1H, с, H-1); 7.77–7.89 (2H, м, H-11,12); 8.22 (1H, с, CH=); 10.47 (1H, с, H-8). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 150.9; 150.6; 148.4; 145.1; 144.2; 138.1; 133.6; 130.6; 127.0; 123.3; 122.0; 120.5; 108.3; 105.2; 102.6; 61.8; 56.8; 56.0; 26.6. Найдено, m/z : 412.1297 [M-Cl]⁺. C₂₄H₁₈N₃O₄. Вычислено, m/z : 412.1292.

Исследование выполнено за счет средств Южного федерального университета.

Список литературы

1. Нечепуренко, И. В.; Салахутдинов, Н. Ф.; Толстиков, Г. А. *Химия в интересах устойчивого развития* **2010**, *18*, 1.
2. Grycová, L.; Dostál, J.; Marek, R. *Phytochemistry* **2007**, *68*, 150.
3. Nazarov, P. A.; Osterman, I. A.; Tokarchuk, A. V.; Karakozova, M. V.; Korshunova, G. A.; Lyamzaev, K. G.; Skulachev, M. V.; Kotova, E. A.; Skulachev, V. P.; Antonenko, Y. N. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1394.
4. Chu, M.; Xiao, R.-x.; Yin, Y.-n.; Wang, X.; Chu, Z.-y.; Zhang, M.-b.; Ding, R. Wang, Y.-d. *Clin. Microbiol.: Open Access* **2014**, *3*, 150.
5. Chen, L.; Bu, Q.; Xu, H.; Liu, Y.; She, P.; Tan, R.; Wu, Y. *Microbiol. Res.* **2016**, *186–187*, 44.
6. Rana, T.; Singh, S.; Kaur, N.; Pathania, K.; Gaur, U. F. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **2014**, *26*, 101.
7. Minbiole, K. P. C.; Jennings, M. C.; Ator, L. E.; Black, J. W.; Grenier, M. C.; LaDow, J. E.; Caran, K. L.; Seifert, K.; Wuest, W. M. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 3559.
8. Liu, Y.-X.; Xiao, C.-L.; Wang, Y.-X.; Li, Y.-H.; Yang, Y.-H.; Li, Y.-B.; Bi, C.-W.; Gao, L.-M.; Jiang, J.-D.; Song, D.-Q. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *52*, 151.
9. Burov, O. N.; Kurbatov, S. V.; Morozov, P. G.; Kletskii, M. E.; Tatarov, A. V. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2015**, *51*, 772. [*Химия гетероцикл. соединений* **2015**, *51*, 772.]
10. Burov, O. N.; Kurbatov, S. V.; Kletskii, M. E.; Zagrebaev, A. D.; Mikhailov, I. E. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2017**, *53*, 335. [*Химия гетероцикл. соединений* **2017**, *53*, 335.]
11. Diels, O.; Gartner, H.; Kaack, R. *Ber. Dtsch. Chem. Ges. B* **1922**, *55*, 3439.
12. Clark-Lewis, J. W.; Thompson, M. J. *J. Chem. Soc.* **1959**, 2401.
13. Семина, Н. А.; Сидоренко, С. В.; Резван, С. П.; Грудинина, С. А.; Страчунский, Л. С.; Стецок, О. У.; Козлов, Р. С.; Эдельштейн, М. В.; Ведьмина, Е. А.; Столярова, Л. Г.; Власова, И. В.; Серeda, З. С. *Клин. микробиол. антимикроб. химиотер.* **2004**, *6*, 306.
14. Bandyopadhyay, S.; Patra, P. H.; Mahanti, A.; Mondal, D. K.; Dandapat, P.; Bandyopadhyay, S.; Samanta, I.; Lodh, C.; Bera, A. K.; Bhattacharyya, D.; Sarkar, M.; Baruah, K. K. *Asian Pac. J. Trop. Med.* **2013**, *6*, 315.
15. Endo, E. H.; Dias Filho, B. P. *Austin J. Trop. Med. Hyg.* **2015**, *1*, 1005.
16. Chu, M.; Zhang, M.-b.; Liu, Y.-c.; Kang, J.-r.; Chu, Z.-y.; Yin, K.-l.; Ding, L.-y.; Ding, R.; Xiao, R.-x.; Yin, Y.-n.; Liu, X.-y.; Wang, Y.-d. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 24748.
17. Kong, W.-J.; Xing, X.-Y.; Xiao, X.-H.; Zhao, Y.-L.; Wei, J.-H.; Wang, J.-B.; Yang, R.-C.; Yang, M.-H. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, *96*, 503.
18. Amin, A. H.; Subbaiah, T. V.; Abbasi, K. M. *Can. J. Microbiol.* **1969**, *15*, 1067.
19. Čerňáková, M.; Koš'álová, D. *Folia Microbiol.* **2002**, *47*, 375.