

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ЭЛЕМЕНТООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
им. А.Н.НЕСМЕЯНОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

КУЛИКОВ ВИКТОР НИКОЛАЕВИЧ

**РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ СИНТЕЗА И АНТИМИКОБАКТЕРИАЛЬНАЯ
АКТИВНОСТЬ ФЕРРОЦЕНСОДЕРЖАЩИХ СТРУКТУРНЫХ АНАЛОГОВ И
ПРОИЗВОДНЫХ ИЗОНИАЗИДА**

1.4.8 - Химия элементоорганических соединений

1.4.3 - Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва 2024

Работа выполнена в лаборатории Механизмов реакций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН).

Научные руководители:

Белоусов Юрий Анатольевич, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов реакций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук.

Родионов Алексей Николаевич, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории механизмов реакций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Шаповалов Сергей Сергеевич, кандидат химических наук, заведующий лабораторией химии обменных кластеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук.

Аверин Алексей Дмитриевич, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник кафедры органической химии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук, г. Москва.

Защита диссертации состоится «18» июня 2024 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета 24.1.161.01 по присуждению ученой степени кандидата химических наук при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН по адресу: 119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 28, стр. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ИНЭОС РАН (www.ineos.ac.ru).

Автореферат разослан « » апреля 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.161.01
кандидат химических наук

Ольшевская В.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Туберкулёз – это инфекционное заболевание, носящее характер пандемии. По данным Всемирной организации здравоохранения, носителями возбудителя туберкулёза – представителей группы *Mycobacterium tuberculosis complex* – является четверть населения Земли. До появления COVID19 туберкулёз был основной инфекционной причиной смерти в мире. В последние годы химиотерапия микобактерий всё больше осложняется из-за распространения устойчивых к применяемым препаратам штаммов возбудителя, что приводит к необходимости разработки новых антимикобактериальных средств. При этом за последние 20 лет в клиническую практику было введено только одно новое действующее вещество – бедаквидин и потребность в новых препаратах со временем всё больше возрастает. Разработку новых действующих веществ возможно проводить, в том числе, путём модификации известных соединений с высоким уровнем активности или получением их структурных аналогов и биоизостеров. Одним из самых активных противотуберкулёзных препаратов является изониазид (гидразид изоникотиновой кислоты, INH). Это пролекарство, активируемое микобактериальным ферментом каталаза-пероксидаза KatG с образованием изоникотиноилированного никотинамидадениндинуклеотида (NAD⁺), ингибирующего микобактериальную еноил-АПБ-редуктазу InhA. Ингибирование InhA блокирует синтез миколовых кислот – обязательных компонентов клеточной стенки микобактерий. Изоникотиноильный фрагмент выбран в данном исследовании в качестве одного из структурных мотивов из-за выделяющего изониазид среди прочих противотуберкулёзных препаратов сочетания высокой активности в отношении чувствительных штаммов возбудителя с селективностью антимикобактериального действия. Основной причиной развития устойчивости микобактерий к изониазиду является набор мутаций в гене *katG*, приводящих к невозможности активации изониазида соответствующей каталазой-пероксидазой. Преодолеть такой вид устойчивости можно модификацией изониазида или созданием его структурных аналогов, которые будут способны активироваться мутантными вариантами KatG либо параметаболически – без участия ферментов.

Хорошо изучена модификация изониазида замещением атомов водорода при

N'-азоте с получением алкилированных производных и оснований Шиффа. Среди них обнаружено множество соединений, обладающих выраженной активностью в отношении устойчивых к изониазиду штаммов микобактерий либо большей терапевтической широтой. При этом *N*-ацилированные гидразоны изониазида и их антимикобактериальные свойства в литературе практически не описаны, поэтому получение *N*-ацил-*N*-изоникотиноилгидразонов представляет интерес как для изучения их физико-химических свойств, так и для оценки их противотуберкулёзного потенциала. Перспективным направлением модификации этих соединений представляется получение производных ферроцена благодаря набору его свойств, могущих способствовать распределению действующего вещества в организме и прохождению гидрофобных микобактериальных оболочек микобактерий. Это существенно различающаяся липофильность восстановленной (ферроцен) и окисленной (соли феррициния) форм при способности к лёгкому и обратимому редокс-переходу, малой токсичности для человека и животных, достаточной стабильности комплекса в водных средах и доступности большого числа производных. Сочетание этих свойств ферроцена с противотуберкулёзным потенциалом изоникотиноильного фрагмента либо близких к нему структур позволяет рассматривать получаемые гибриды как перспективные потенциальные антимикобактериальные средства.

Степень разработанности темы исследования. Накоплен обширный материал по химии и свойствам ферроцена, а также по антимикобактериальной активности производных изоникотиновой кислоты в виде публикаций, научных (диссертационных) работ и обзоров в научных журналах. Известно, что структурная модификация изониазида может существенно влиять на антимикобактериальные свойства получаемых соединений. Опубликовано несколько десятков работ, посвящённых антимикобактериальным свойствам производных ферроцена, но при этом всего несколько из описанных соединений являются ферроценсодержащими производными изониазида. Поэтому приоритетная задача данного исследования состоит в разработке препаративных методов синтеза ферроценсодержащих производных и структурных аналогов изониазида для расширения спектра доступных для исследования этих групп соединений.

Цель работы. Целью настоящей работы является разработка препаративных

методов синтеза новых ферроценсодержащих производных и структурных аналогов изониазида, изучение их физико-химических свойств и антимикобактериальной активности.

В соответствии с этим в работе необходимо решить следующие задачи.

— Разработка методов синтеза ферроценкарбоновой кислоты, её гидразида и гидразонов.

— Разработка методов получения *N*-ферроценоилизоникотиноилкарбогидразонов.

— Разработка подходов к получению сложных эфиров и гидразидов ферроценилпиразолкарбоновых кислот.

— Идентификация и доказательство строения синтезированных соединений с помощью современных физико-химических методов анализа.

— Исследования биологической активности полученных соединений *in vitro*.

Научная новизна состоит в получении следующих результатов:

— Разработан препаративный и масштабируемый метод синтеза ферроценкарбоновой кислоты карбоксилированием ферроцена углекислым газом при катализе безводным хлористым алюминием, позволяющий в мягких условиях получать ферроценкарбоновую кислоту из коммерчески доступных реагентов.

— Предложен препаративный метод синтеза 1,3-дикарбонильных производных ферроцена: этиловых эфиров ферроценоилуксусной и ферроценоилпировиноградной кислот.

— Впервые получен ряд ферроценсодержащих производных пиразола: этиловых эфиров и гидразидов 1-(гет)арил-5-ферроценил-1*H*-пиразол-3-карбоновых кислот и 1-(гет)арил-5-ферроценил-1*H*-пиразол-4-карбоновых кислот.

— Впервые получены две серии 3,5-замещённых 1-изоникотиноил- и 1-никотиноилферроценил-1*H*-пиразолов в виде смесей продуктов ацилирования таутомерных форм 3-замещённых 5-ферроценил-1*H*-пиразолов.

— Разработана препаративная методика получения ферроценкарбогидразонов путём микроволновой инициации взаимодействия ферроценкарбогидразида с алифатическими и ароматическими карбонильными

соединениями, обеспечивающая высокую скорость процесса и простоту выделения продукта.

— Получена серия *N*-ферроценоил-*N*-изоникотиноил гидразонов – представителей не описанного ранее класса производных изониазида, в опытах *in vitro* показана их высокая активность в отношении устойчивого к изониазиду штамма микобактерий и селективность антимикобактериального действия.

Теоретическая и практическая значимость работы определяется развитием представлений о свойствах и реакционной способности неизвестных ранее ферроценсодержащих производных и структурных аналогов изониазида и потенциалом их практического использования в качестве антимикобактериальных средств.

Предложены эффективные методы получения важных промежуточных продуктов в синтезе производных ферроцена: ферроценкарбоновой кислоты карбоксилированием ферроцена диоксидом углерода при катализе безводным хлористым алюминием в среде толуола; этиловых эфиров ферроценоилуксусной и ферроценоилпировиноградной кислот взаимодействием ацетилферроцена со сложными эфирами угольной и щавелевой кислоты при катализе трет-бутилатом калия в среде гексана.

— Предложен препаративный метод синтеза ферроценкарбогидразонов посредством микроволновой инициации взаимодействия гидразида ферроценкарбоновой кислоты с ароматическими и алифатическими карбонильными соединениями.

— Предложен способ получения эфиров 1-(гет)арил-5-ферроценил-1*H*-пиразолкарбоновых кислот из, в том числе, и термолабильных (гет)арилгидразинов взаимодействием ферроценсодержащих 1,3-дикарбонильных соединений с (гет)арилгидразинами при термической либо микроволновой инициации реакции в содержащей ДМФА спиртовой среде.

— Показано превосходящее изониазид антимикобактериальное действие *N*-ферроценоил-*N*-изоникотиноил гидразонов с алифатическим и *p*-замещённым ароматическим остатком в *N'*-илиденовом фрагменте в отношении как чувствительных, так и устойчивых к изониазиду штаммов микобактерий *in vitro*.

— Показана селективность антимикобактериального действия *N*-ферроценоил-*N*-изоникотиноил гидразонов *in vitro*.

— В настоящей работе выявлена структура *N*-ферроценоил-*N*-изоникотиноил гидразонов, являющихся перспективными лидерами для разработки нового класса антимикобактериальных средств.

Совокупность результатов исследования вносит фундаментальный и практический вклад в решение актуальной проблемы поиска новых антимикобактериальных средств, эффективных в отношении устойчивых к изониазиду штаммов возбудителя туберкулёза.

Методология и методы диссертационного исследования основаны на анализе литературных данных и направленном синтезе соединений с потенциальной антимикобактериальной активностью, сочетающих в своей структуре ферроценовый фрагмент и остаток изоникотиновой кислоты либо структурно схожий с ней фрагмент. В настоящем исследовании использовались такие синтетические методы, как карбоксилирование, получение хлорангидридов карбоновых кислот и оснований Шиффа, нуклеофильное замещение. Синтезированные соединения охарактеризованы комплексом физико-химических методов: ИК-спектроскопия, ЯМР-спектроскопия на ядрах ^1H и ^{13}C , масс-спектрометрия, элементный анализ. Микробиологическое исследование полученных соединений проведено дискодиффузионным методом и методом последовательных разведений.

Основные положения, выносимые на защиту.

- Синтез ряда новых конъюгатов ферроцена и изоникотиноильного либо структурно близких к нему фрагментов: *N*-ферроценоил-*N*-изоникотиноилгидразонов, этиловых эфиров и гидразидов 1-(гет)арил-5-ферроценил-1*H*-пиразол-3-карбоновых кислот и 1-(гет)арил-5-ферроценил-1*H*-пиразол-4-карбоновых кислот.

- Изучение физико-химических свойств полученных соединений с применением методов циклической вольтамперометрии, ИК- и ЯМР- спектроскопии, масс-спектрометрии и рентгеноструктурного анализа.

- Расчёт параметров исследуемых соединений в рамках теории функционала плотности (DFT).

- Результаты исследований *in vitro* антибактериальной и антимикобактериальной

активности синтезированных *N*-ферроценоил-*N*-изоникотиноилгидразонов.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования: формулировка концепции исследования, анализ литературных данных, постановка задач, разработка методов синтеза, выполнение синтетической работы, интерпретация полученных результатов и их публикация.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность соавторам, коллективу лаборатории Механизмов реакций ИНЭОС РАН и коллективу Отдела физико-химических методов исследования ИНЭОС РАН.

Достоверность полученных результатов обеспечена использованием совокупности современных физико-химических методов установления строения и исследования свойств полученных соединений (ИК-, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия) на сертифицированном оборудовании. Достоверность биологических исследований обеспечена использованием актуальных методик определения а также сходимостью и воспроизводимостью полученных результатов в повторяемых опытах.

Апробация работы. По материалам диссертации опубликовано 3 статьи в научных изданиях, рекомендованных ВАК и индексируемых в международных базах Scopus и Web of Science, и 17 тезисов докладов. Основные результаты данной работы прошли апробацию на всероссийских и международных конференциях: International Interdisciplinary Scientific Conference «Biologically Active Substances And Materials: Fundamental and Applied Problems» (AR Crimea, Ukraine, 2013); International symposium «Modern trends in organometallic chemistry and catalysis» (Moscow, 2013); VI Молодежная конференция ИОХ РАН (Москва, 2014); «Химия Элементоорганических Соединений и Полимеров 2014» (Москва, 2014); International conference “Organometallic and Coordination Chemistry: Achievements and Challenges. VI Razuvaev lectures” (N. Novgorod, Russia, 2015); «IV Всероссийская конференция по органической химии» (Москва, 2015); International Symposium on Bioorganometallic Chemistry ISBOMC 2016, (Moscow, 2016); «XII Конференция молодых ученых по общей и неорганической химии» (Москва, 2022); 4th International symposium «Modern trends in organometallic chemistry and catalysis» (Moscow, 2023); Всероссийская научная конференции с международным участием, посвященной 65-летию со дня основания НИОХ СО РАН «Современные проблемы органической химии»

(Новосибирск, 2023).

Публикации. Основное содержание работы отражено в 20 публикациях, а именно: 3 – в научных журналах, рекомендованных ВАК, 17 – в сборниках тезисов докладов научных конференций.

Объем и структура работы. Материал диссертации изложен на 136 страницах, состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части и заключения и содержит 24 таблицы, 62 схемы, 11 рисунков. Список литературы включает 116 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Литературный обзор посвящён производным ферроцена, для которых каким-либо способом определён уровень антимикробактериального действия. Полученные автором экспериментальные результаты по синтезу ферроценосодержащих производных (**1**, **2**) и структурных аналогов (**3**) изониазида **4** (Рисунок 1) и их обсуждение представлены в приведенных ниже разделах.

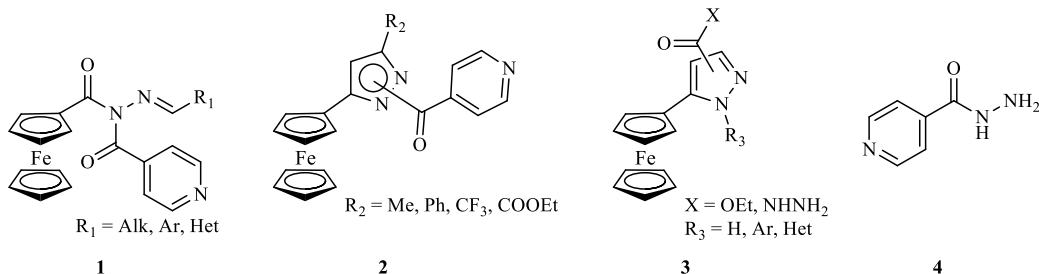


Рисунок 1 – Структуры полученных ферроценосодержащих производных и структурных аналогов изониазида **4**.

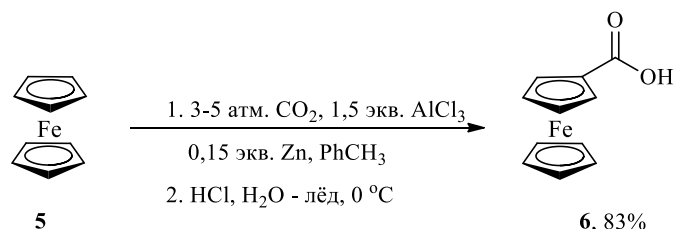
1. Синтез *N*-изоникотиноилферроценкарбогидразонов

1.1. Синтез ферроценкарбоновой кислоты

В литературе описан синтез ферроценкарбоновой кислоты **6** карбоксилированием ферроцена **5** диоксидом углерода в присутствии AlCl₃ (Схема 1), (Ito T. *et.al.* // *Nippon Kagaku Kaishi* (Japanese). - 1976 . - № 2. - P. 353 -355). При этом ферроценкарбоновая кислота **6** получена в количестве 4,9 ммоль с выходом 44%. Изучение влияния условий проведения реакции на конверсию ферроцена и их оптимизация, а также подбор условий выделения позволили разработать препаративный метод синтеза, в котором выход ферроценкарбоновой кислоты

достигает 83% при масштабировании загрузки до 1,2 моль по ферроцену (223,2 г). Оптимизированные условия приведены в схеме 1.

Схема 1

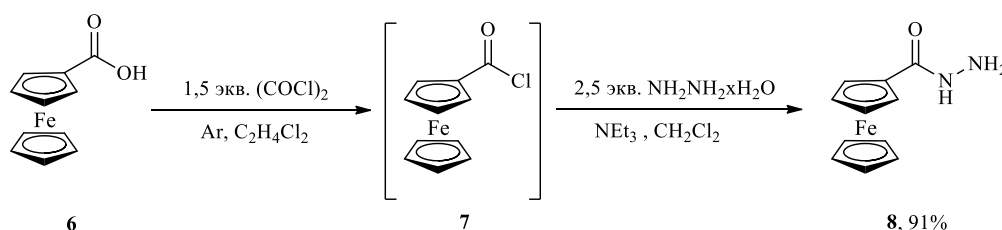


Образования 1,1'-ферроцендикарбоновой кислоты в описанных условиях не наблюдается. Таким образом, разработанный метод позволяет селективно и препаративно получать ферроценкарбоновую кислоту **6**, являющуюся важным промежуточным продуктом в химии производных ферроцена. Причём такой вариант получения не осложнён необходимостью литирования ферроцена в специальных условиях и очистки от 1,1'-ферроцендикарбоновой кислоты, как при получении **6** карбоксилированием ферроцениллития. Предложенный одностадийный процесс также эффективнее получения **6** разложением трет-бутилатом калия предварительно синтезированного (2-хлорбензоил)ферроцена как по выходу целевого продукта, так и критерию «атом-экономичности».

1.2. Синтез ферроценкарбогидразида

Гидразид **8** синтезирован из ферроценкарбоновой кислоты **6** через её хлорангидрид **7** без предварительного выделения хлорангидрида (Схема 2). Выход гидразида **8** после выделения составил 91% в расчёте на ферроценкарбоновую кислоту **6**.

Схема 2



1.3. Синтез ферроценоилгидразонов

Ферроценоилгидразоны **9** получены при микроволновом облучении смеси тонко

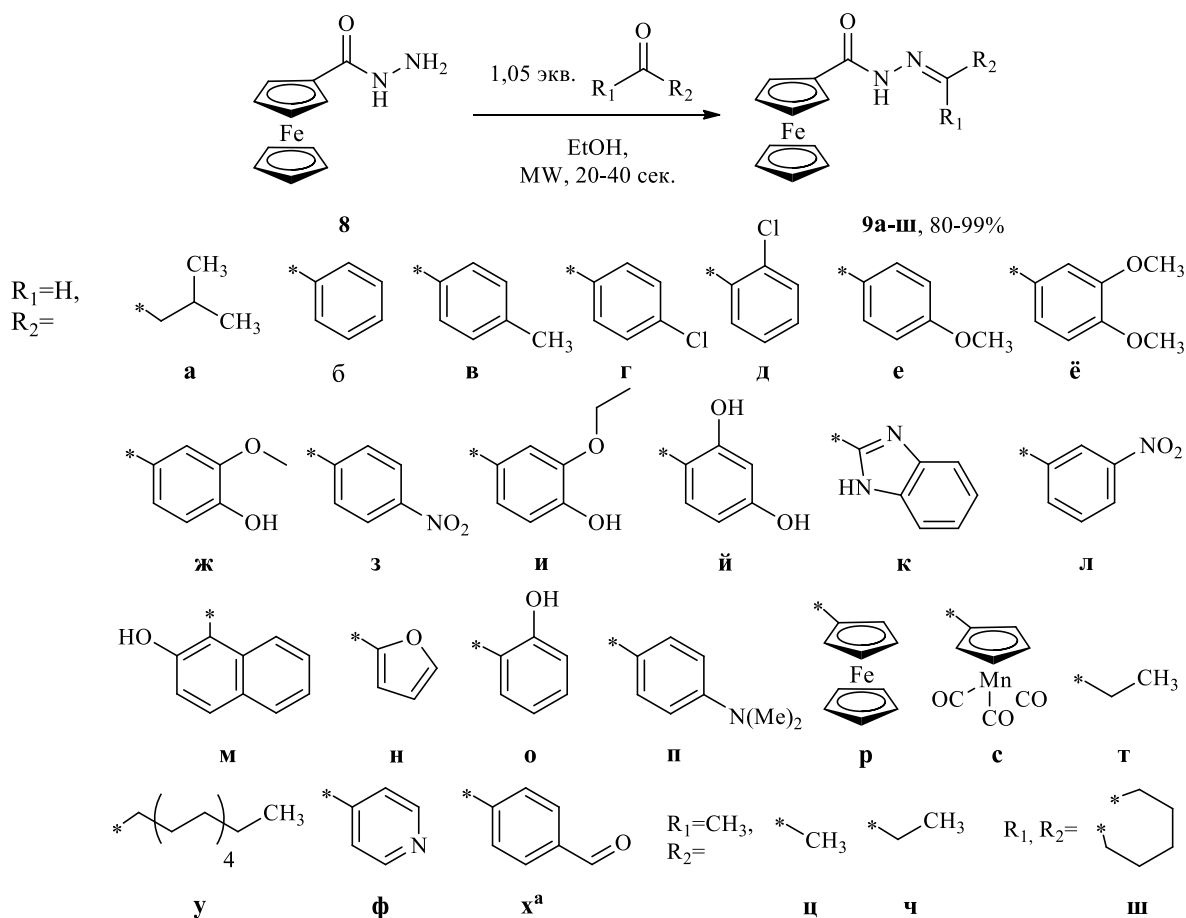
измельчённого порошка ферроценкарбогидразида **8** и соответствующего карбонильного соединения в среде EtOH (Схема 3).

1.4. Восстановление ферроценоилгидразонов

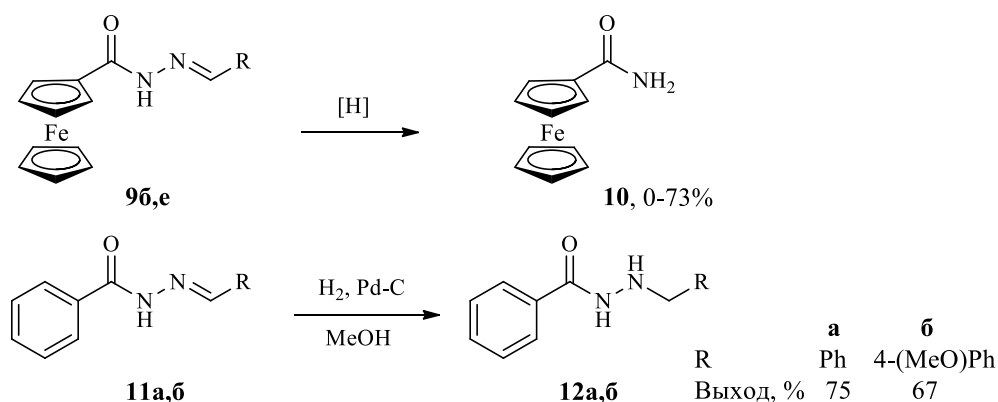
При обработке ферроценоилгидразонов **9б,е** восстанавливающими агентами (NaBH₄, NaBH₃CN, H₂/Pd) в зависимости от условий либо выделяется исходный гидразон **9**, либо образуется амид ферроценкарбоновой кислоты **10**. Тогда как проведённое для сравнения восстановление аналогичных бензоилгидразонов **11а,б** приводит к ожидаемым бензоилгидразинам **12а,б** (Схема 4).

На лабильность связи N-N в гидразонах **9** указывает высокая интенсивность осколочного иона [FcCONH]⁺ в масс-спектрах с ионизацией электронами. Однако

Схема 3



^а Реагенты и условия реакции: 2 экв. 1,4-(CHO)₂C₆H₄, Et₂O:MeOH = 10:1, 5 °C, выход 80%.



сравнение полученных методом РСА структур ферроценильных и фенильных гидразонов **9e** и **10b** (Рисунок 2) показывает отсутствие существенных различий в строении гидразидных групп. Это позволяет предположить различие в реакционной способности не исходных гидразонов **9**, а нестабильность в условиях синтеза продуктов их восстановления и их распад до амида ферроценкарбоновой кислоты **10**.

1.5. Изоникотиноилирование ферроценоилгидразонов

Введение изоникотиноильной группы осуществлено ацилированием гидразонов **9a-з** гидрохлоридом изоникотиноилхлорида. Реакция проходит при небольшом нагревании в среде хлороформа или пиридина за 15-45 мин. (Схема 5). Пиридин использован в случаях низкой растворимости исходного гидразона в хлороформе.

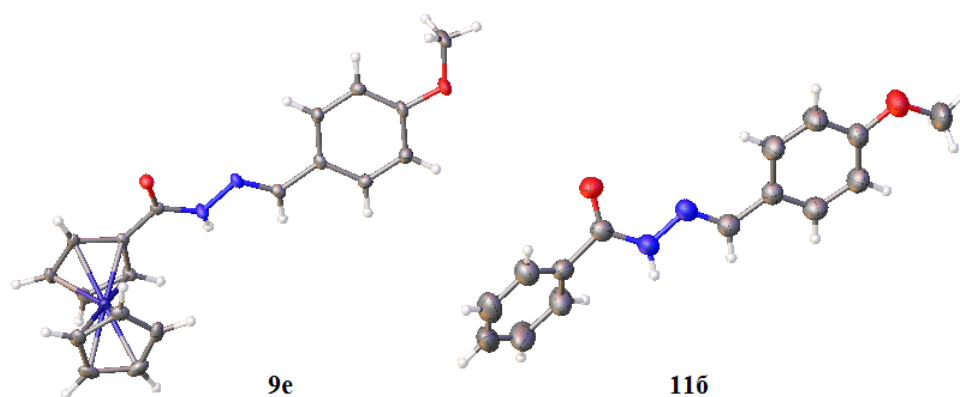
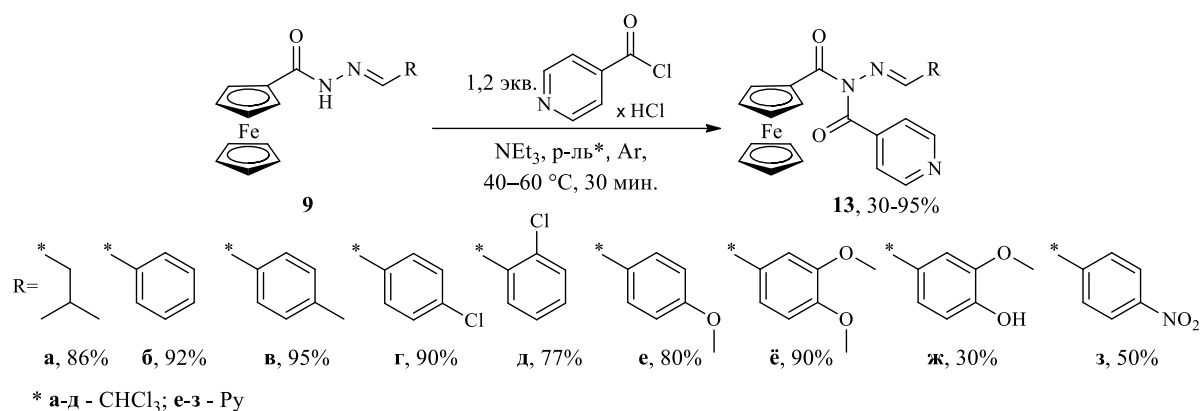


Рисунок 2 – Молекулярная структура гидразонов **9e** и **11b**.



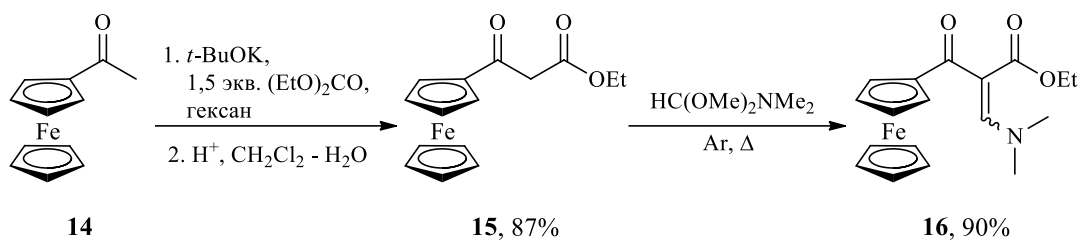
2. Синтез эфиров ферроцилпиразолкарбоновых кислот

Выбор пиразольного цикла для построения производных (2) и структурных аналогов (3) изониазида обусловлен рядом факторов: пиразолы очень мало распространены в живой природе, что может сократить число возможных дополнительных биологических эффектов соединения; способны к солеобразованию по основному атому азота и проявляют некоторую амфифильность при наличии кислого протона, что может улучшить биодоступность и показатели распределения вещества в организме; уже проявили себя как элемент структуры многих биологически активных соединений и, при этом, синтетически доступны.

2.1. Синтез этил 1-(гет)арил-5-ферроцил-1*H*-пиразол-4-карбоксилатов

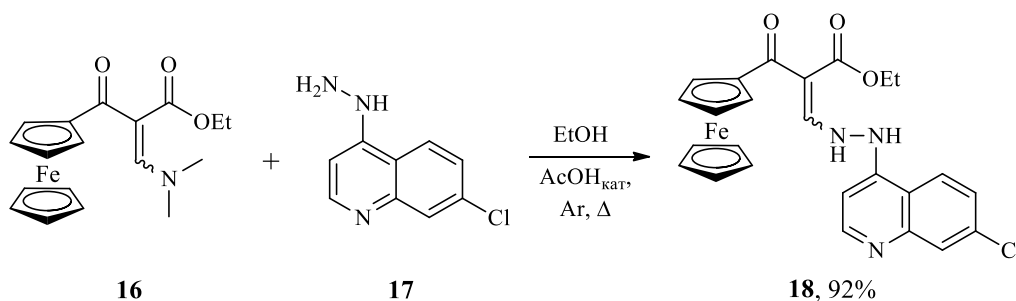
Эфиры 1-(гет)арил-5-ферроцил-1*H*-пиразол-4-карбоновых кислот синтезированы из этил 3-(*N,N*-диметиламино)-2-ферроценоилакрилата, полученного конденсацией Кляйзена ацетилферроцена **14** с диэтилкарбонатом и последующим введением *N,N*-диметиламинометиленовой группы в ферроценоилуксусный эфир **15** под действием диметилацеталя *N,N*-диметилформамида (Схема 6). Суспензирование смеси тонко измельчённых **14** и *t*-BuOK в растворе диэтилкарбоната в гексане позволяет упростить выделение и увеличить выход **15** по сравнению с предложенным в литературе проведением синтеза в толуоле.

Схема 6



При кипячении **16** с 4-гидразинил-7-хлорхинолином **17** в этаноле при кислотном катализе происходит образование основания Шиффа **18** (Схема 7) вместо ожидаемой циклизации в пиразол.

Схема 7



При проведении синтезов с менее стерически затруднёнными гидразинами также наблюдается первоначальное образование промежуточных соединений, медленно превращающихся в пиразолы **19** (Схема 8). Обнаружено, что **18** в течение нескольких секунд превращается в целевой пиразол **19г** при растворении в ДМФА уже при комнатной температуре, поэтому получение **19** осуществлялось в смеси этанол – ДМФА в соотношении 3:1, позволяющей получать целевые пиразолы без выделения оснований Шиффа.

Конденсация этил 3-(*N,N*-диметиламино)-2-ферроценоилакрилата **16** с монозамещёнными (гет)арилгидразинами приводит к образованию только одного из двух возможных изомеров этил ферроценил-1*H*-пиразолкарбоксилата **19** (Схема 8). Реакции протекают с выходами 47-90%. Строение продуктов подтверждено результатами масс-спектрометрии, спектрами ЯМР ^1H , ^{13}C и двухмерными HSQC, HMBC, NOESY. Рентгеноструктурное исследование соединения **19г** подтверждает предполагаемое строение образующихся в таких условиях эфиров (Рисунок 3).

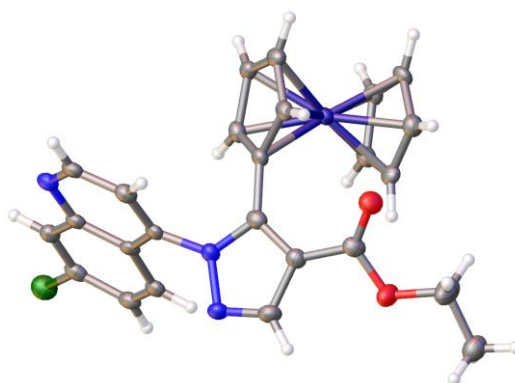
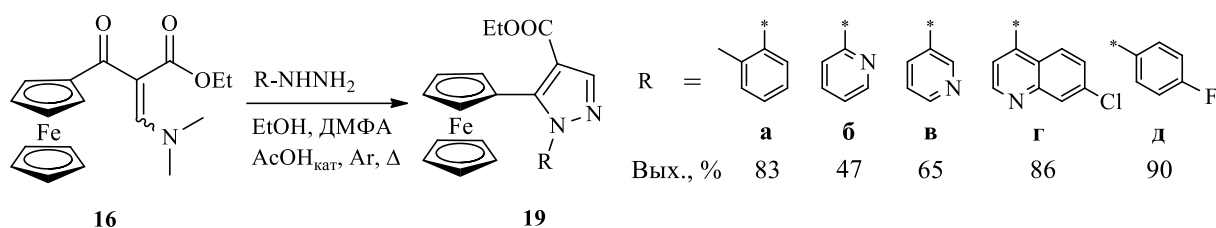


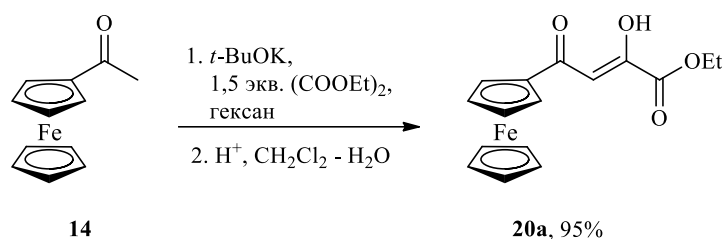
Рисунок 3 – Молекулярная структура 19г.

При проведении реакции в минимальном необходимом для растворения енамина **16** количестве смеси этанол – ДМФА = 3:1 и кипячении в атмосфере аргона, выход продукта **19б** составляет 47%. Проведение этой реакции в условиях микроволновой инициации позволяет сократить продолжительность синтеза с 40 мин. до 15 секунд при увеличении выхода до 72%, что указывает на большее ускорение целевого процесса по сравнению с побочной термодеструкцией исходного 2-пиридилилгидразина, чем при термоактивации, и показывает рациональность применения микроволновой инициации в случае термолабильных исходных гидразинов.

2.2. Синтез этил 1-(гет)арил-5-ферроценил-1*H*-пиразол-3-карбоксилатов

Эфиры 1-(гет)арил-5-ферроценил-1*H*-пиразол-3-карбоновых кислот синтезированы из этил 3-ферроценоилпирувата, полученного конденсацией Кляйзена ацетилферроцена **14** с диэтилоксалатом (Схема 9). Как и при синтезе ферроценоилуксусного эфира **15**, суспензирование смеси тонко измельчённых **14** и *t*-BuOK в растворе диэтилоксалата в гексане позволяет упростить выделение и обеспечивает высокий выход **20а**.

Схема 9



Как и в случае с **16**, конденсация ферроценоилпировиноградного эфира **20a** с монозамещёнными (гет)арилгидразинами приводит к образованию только одного из возможных изомеров – серии этиловых эфиров 1-(гет)арил-5-ферроценил-1*H*-пиразол-3-карбоновых кислот **21** (Схема 10). Рентгеноструктурный анализ соединения **21a** подтверждает структуру образующихся в рассматриваемых условиях эфиров ферроценилпиразолкарбоновых кислот (Рисунок 4).

Схема 10

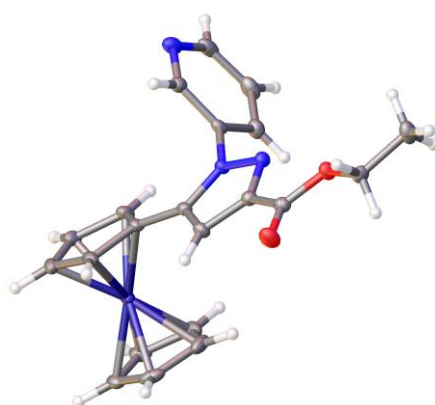
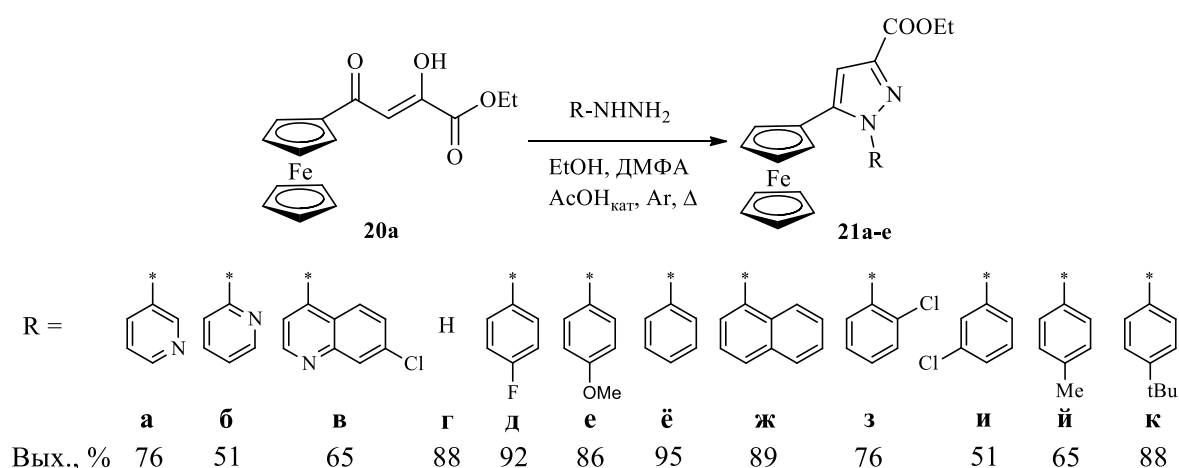


Рисунок 4 – Молекулярная структура **21a**.

3. Циклическая вольтамперометрия изомеров **19** и **21**

Циклическая вольтамперометрия (1 mM, растворы в MeCN, 0.05M Bu₄NBF₄,

скорость сканирования $0.1 \text{ V} \times \text{s}^{-1}$, Pt, vs. $\text{H}_2 / 2\text{H}^+$) для изомерных серий **19** и **21** демонстрирует одноэлектронный квазиобратимый процесс в окислительной области потенциалов. Введение ароматических заместителей в первое положение пиразольного кольца увеличивает потенциал полуволны для окисления ферроценового фрагмента на 60-110 мВ по сравнению с незамещёнными пиразолами **19г** и **21г**. Варьирование заместителя при атоме азота практически не оказывает влияния на потенциал окисления молекулы. Это можно объяснить отсутствием сопряжения между ароматическим заместителем и пиразольным кольцом. При переходе от эфиров пиразол-3- к эфирам пиразол-4-карбоновых кислот потенциал окисления ферроценового фрагмента сдвигается на 35-50 мВ в сторону катодной области.

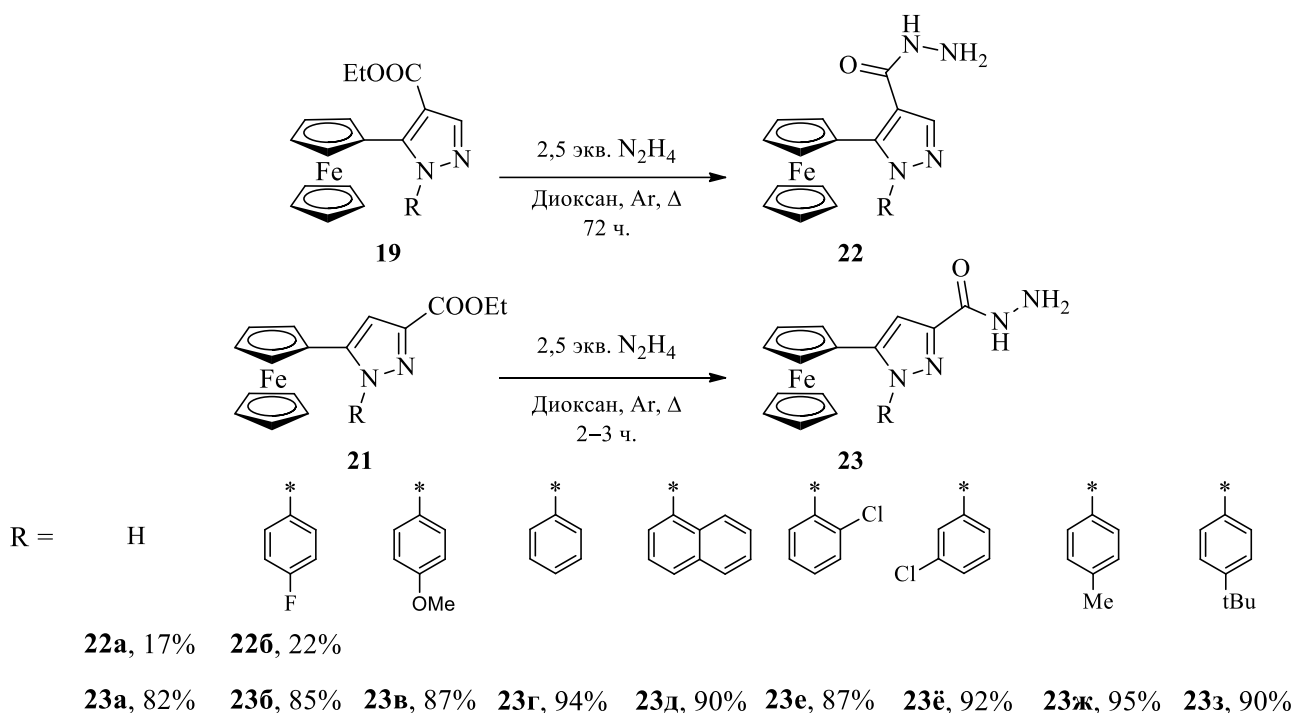
Для объяснения наблюдаемого облегчения окисления пиразолов **19** по сравнению с **21** проведены DFT-расчёты строения нейтральных молекул **19** и **21** и образующихся при окислении катион-радикалов методом B3LYP (RB3LYP для нейтральных молекул и UB3LYP для катион-радикалов) с базисным набором 6-31G*. Расстояния между атомом кислорода карбонильной группы и атомом железа, полученные в результате расчётов, близки к результатам рентгеноструктурного анализа для нейтральных молекул. Также зависимость между рассчитанными для газовой фазы адиабатическими потенциалами ионизации и экспериментальными величинами потенциалов окисления в растворе для замещённых пиразолов **19в,д** и **21в,д** аппроксимируется линейной функцией, что указывает на корректность выбора метода расчётов и базисного набора. Показано, что для пиразолов **19** расстояние между атомом железа и карбонильным кислородом сложноэфирной группы составляет 3.64-3.77 Å. В расчётных структурах соответствующих катион-радикалов соединений **19** наблюдается ещё большее сближение атомов железа и кислорода – расстояние между ними уменьшается на $\sim 0,2$ Å. Наличие данного короткого контакта делает возможной компенсацию положительного заряда атома железа феррициниевого фрагмента электронной плотностью атома кислорода карбоксильной группы, что может стабилизировать образующийся феррициниевый комплекс и приводить к снижению потенциала окисления. Для соединений **21** такая стабилизация невозможна из-за большого расстояния между атомами железа ферроцена и

кислородами сложноэфирной группы (6.33-6.59 Å).

4. Синтез гидразидов ферроценилпиразолкарбоновых кислот

Кипячение изомерных эфиров **19** и **21** с избытком гидрата гидразина в этаноле приводит к образованию соответствующих гидразидов 5-ферроценил-1*H*-пиразолкарбоновых кислот (Схема 11).

Схема 11

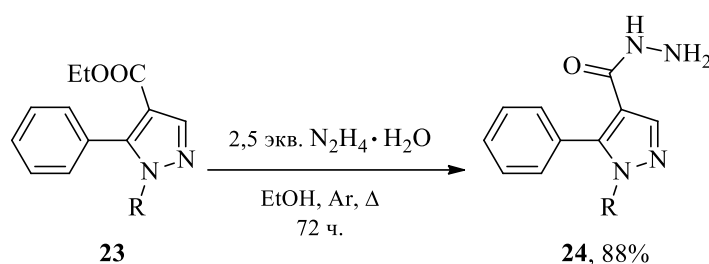


Оказалось, что эфиры 1*H*-пиразол-4-карбоновых кислот **19** реагируют существенно медленнее эфиров 1*H*-пиразол-3-карбоновых кислот **21**. Получение гидразидов **22** осложнено тем, что они нестабильны в условиях синтеза и при увеличении продолжительности процесса не наблюдается накопление целевого продукта. Так при проведении реакции с **19г** и **19д** за 72ч достигается 45% и 52% конверсии исходного соединения при выходах продукта после выделения (в расчёте на прореагировавшее исходное соединение) 17% и 22% соответственно. При этом для эфиров **21** количественная конверсия достигается за 3ч проведения реакции. Различие в реакционной способности изомерных эфиров **19** и **21** можно объяснить влиянием близости ферроценового ядра к сложноэфирной группе для эфиров **19**, обсуждавшейся выше, что может как снижать реакционную способность сложноэфирной группы изомеров **19**, так и снижать стабильность ферроценового

комплекса для образовавшихся гидразидов **22**.

В пользу снижения реакционной способности сложноэфирной группы из-за близости с ферроценовым ядром говорит то, что для органического аналога эфира **19** – этилового эфира 1,5-дифенил-1*H*-пиразол-4-карбоновой кислоты **23**, в аналогичных условиях наблюдается количественная конверсия и высокий выход гидразида **24** после выделения (Схема 12).

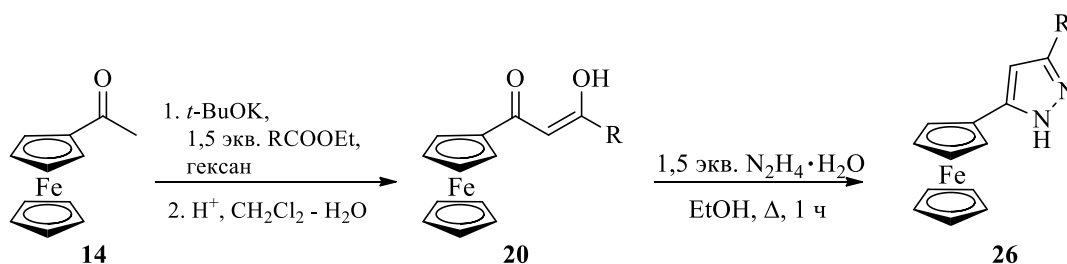
Схема 12



5. Синтез ферроценосодержащих *N*-(изо)никотиноил-3,5-дизамещённых 1*H*-пиразолов

Субстраты для изоникотиноилирования получены конденсацией Кляйзена ацетилферроцена **14** с серией сложных эфиров по описанной в п.3.2 методике с последующим взаимодействием 1,3-дикарбонильных соединений с гидратом гидразина (Схема 13).

Схема 13



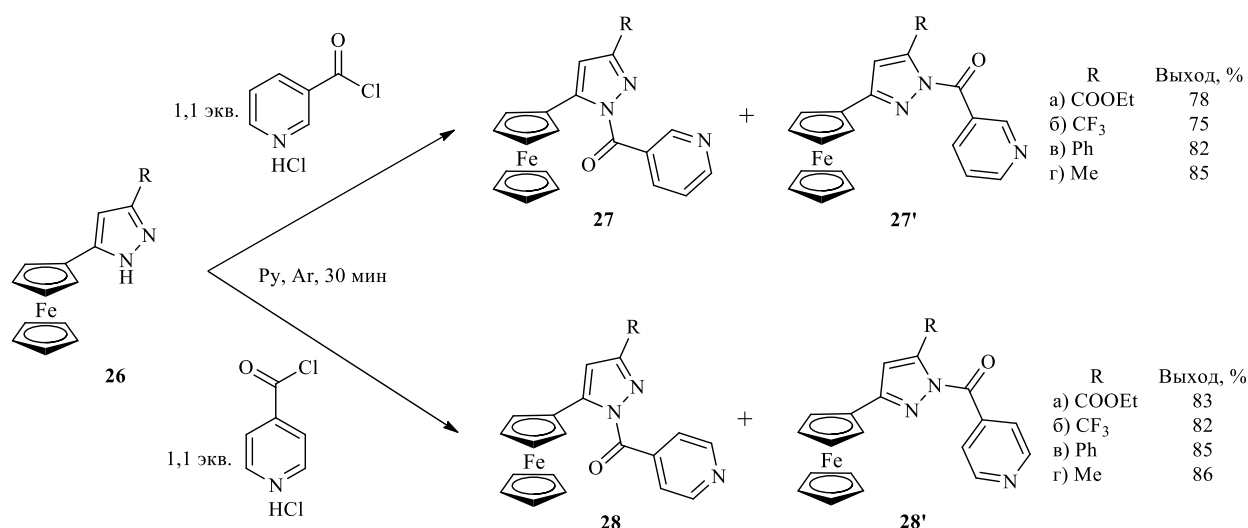
R	Выход 20 , %	Выход 26 , %
а) COOEt	95	87
б) CF ₃	96	88
в) Ph	87	82
г) Me	92	84

Взаимодействие пиразолов **26** с хлорангидами никотиновой и изоникотиновой кислот в среде пиридина приводит к образованию смеси изомеров, являющихся продуктами ацилирования таутомерных форм пиразолов (Схема 14).

Выделение изомеров в индивидуальном виде представляет сложную задачу из-за их сходного поведения при разделении и малой стойкости при

хроматографировании. При проведении тонкослойной хроматографии на силуфоле наблюдается примерно равная скорость разложения соединений **27**, **27'**, **28** и **28'** до соединений **26** для 3(5)-фенил- и 3(5)-этилкарбоксамидных *N*-ацилпиразолов. Скорость разложения заметно возрастает для 3(5)-трифторметилпиразола и снижается для 3(5)-метилпиразола. Это позволяет предположить, что для получения 3(5)-ферроценил-5(3)-замещённых *N*-(изо)никотиноил-1*H*-пиразолов с достаточной для разделения таутомеров и биологического тестирования стабильностью, следует вводить в структуру электронодонорные заместители R.

Схема 14



Высокую чувствительность соединений **25**, **25'**, **26** и **26'** к гидролизу в кислых средах можно объяснить возможностью протонирования основного атома азота в пиразольном цикле с последующим перераспределением электронной плотности, что может приводить к существенному облегчению элиминирования (изо)никотиноильного фрагмента (Рисунок 5).

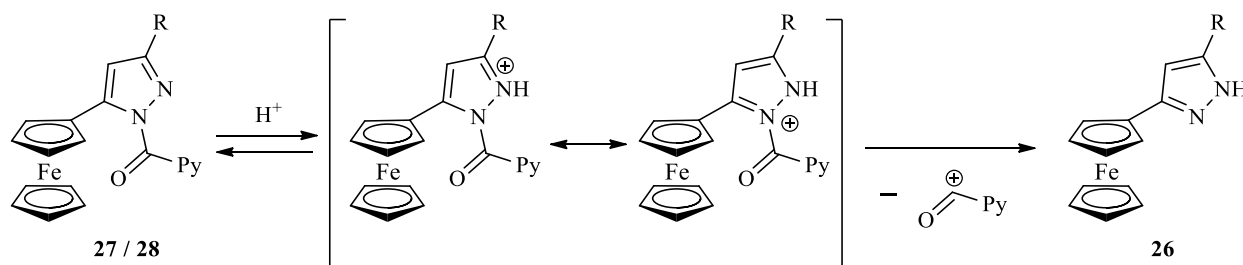


Рисунок 5 – Возможная схема разложения *N*-ацилпиразолов в кислой среде.

Высокая реакционная способность полученных соединений гарантирует возможность параметаболического элиминирования изоникотиноильного фрагмента,

но, в то же время, не позволяет рассматривать их как независимые потенциальные антимикобактериальные агенты, так как в условиях *in vivo* гидролиз действующего вещества произойдёт раньше, чем оно достигнет клетки микобактерий даже при парентеральном введении. Для создания действующего вещества такого типа следует подобрать субстрат с лучшим балансом между стабильностью и способностью элиминировать остаток изоникотиновой кислоты и использовать *N*-(изо)никотиноилферроценил-1*H*-пиразолы совместно со средствами адресной доставки действующих веществ, например, при включении в полимерные наночастицы или инкапсуляции в мицеллы.

6 Микробиологическое тестирование

6.1 Антибактериальная активность ферроценкарболгидразонов

Тестирование бактерицидной и фунгицидной активности ферроценоилкарбогидразида **8** и ферроценоилгидразонов **9** (**б, в, д-з, й, л-п, с, х, ш**) выполнено дискодиффузионным методом на штаммах *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium rubrum* и *Candida albicans*. Заметную зону ингибирования роста продемонстрировало единственное соединение **9х** на штаммах *E. coli* (7.5 мм vs. 19.5 мм стрептомицин), *S. aureus* (9.3 мм vs. 17.0 мм стрептомицин), *M. rubrum* (8.3 мм vs. 16.3 мм стрептомицин; 26.3 мм изониазид) и *C. albicans* (7.0 мм vs. 8.8 мм амфотерицин В). Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) соединения **9х**, определённая методом последовательных разведений лежит в диапазоне 50÷100 µМ в отношении бактериальных штаммов, и 100÷200 µМ в отношении дрожжей и микобактерий, в то время как стандартные препараты в положительном контроле демонстрируют МИК <6.25 µМ.

Таким образом, исследованные соединения характеризуются свойственной производным ферроцена низкой токсичностью: как по отношению к прокариотическим бактериальным штаммам, так и по отношению к эукариотической *C. Albicans*. Слабый бактерицидный эффект **9х** связан, вероятно, с наличием токсифорной формильной группы.

6.2 Антимикобактериальная активность *N*-изоникотиноилферроценоил-

гидразонов

Антимикобактериальная активность *N*-изоникотиноилферроценоилгидразонов **10а-ё** определена на устойчивом к изониазиду штамме *Mycobacterium rubrum*, используемом в качестве тестовой экспресс-системы. Минимальная ингибирующая концентрация составила 22.5÷37.5 μM для **10а-г** и более 300 μM для **10д-ё** и изониазида, используемого в качестве положительного контроля. Для чувствительного к изониазиду штамма *Mycobacterium rubrum* МИК находится в интервале 63÷94 μM . Таким образом, соединения **10а-г** с алифатическими и *p*-замещёнными ароматическими заместителями в илиденовом фрагменте проявляют превосходящую изониазид активность как в отношении изониазид-чувствительного, так и изониазид-устойчивого штамма микобактерий и являются перспективными лидерами для поиска новых противотуберкулезных препаратов.

7 Выводы

1. Разработан препаративный и масштабируемый метод синтеза ферроценкарбоновой кислоты – важного прекурсора в химии производных ферроцена и необходимого промежуточного продукта в синтезе целевых *N*-изоникотиноилферроценкарбогидразонов – карбоксилированием ферроцена углекислым газом при катализе безводным хлористым алюминием, позволяющий в мягких условиях получать ферроценкарбоновую кислоту в количестве сотен граммов из коммерчески доступных реагентов.
2. Предложен подход к синтезу неизвестных ранее *N*-ферроценоилизоникотиноилгидразонов, основанный на взаимодействии в мягких условиях *N'*-алкилиденферроценкарбогидразидов с изоникотиноилхлоридом.
3. Разработан эффективный метод получения этиловых эфиров 1-(гет)арил-5-ферроценил-1*H*-пиразолкарбоновых кислот взаимодействием 1,3-дикарбонильных производных ферроцена с (гет)арилгидразинами в среде «EtOH – ДМФА» в соотношении 3:1. Впервые показано, что микроволновое облучение является более эффективным способом инициации реакции, чем термическая активация при взаимодействии 1,3-дикарбонильных производных

ферроцена с термолабильными гидразинами.

4. Показана возможность регулирования скорости элиминирования изоникотиноильного фрагмента *N*-изоникотиноилферроценил-1*H*-пиразолами, путем введения заместителей различной природы в пиразольный цикл, что открывает перспективы использования таких соединений с электронодонорными заместителями в пиразольном цикле в качестве средств терапии резистентных к изониазиду микобактерий с наиболее распространённой на данный момент причиной устойчивости – дефектами каталазы-пероксидазы KatG.
5. Показана высокая антимикобактериальная активность и селективность действия *N*-изоникотиноилферроценкарбогидразонов с алифатическими или замещёнными ароматическими заместителями в илиденовом фрагменте в отношении устойчивого к изониазиду штамма *Mycobacterium rubrum*.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Дальнейшие исследования могут быть направлены на уточнение связи «структура – антимикобактериальная активность» для *N*-ферроценоилизоникотиноилгидразонов в зависимости от вида заместителя в илиденовом фрагменте и для гидразидов замещённых ферроценил-1*H*-пиразолкарбоновых кислот в зависимости от структуры заместителя и его положения в пиразольном цикле. Другим направлением работы может стать исследование возможности применения *N*-изоникотиноилферроценил-1*H*-пиразолов совместно со средствами адресной доставки действующих веществ, например, при включении в полимерные наночастицы или инкапсуляции в мицеллы.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

Публикации в журналах:

1. Куликов В.Н. Синтез и редокс свойства эфиров 5-ферроценил-1*H*-пиразолкарбоновых кислот / **В.Н. Куликов**, О.М. Никитин, Ю.А. Борисов, А.С. Макаров, А.Н. Родионов, Р.С. Никулин, Л.В. Коваленко, Ю.А. Белоусов // ИзвАН, Сер.хим. – 2014. – Т. 63, №. 10. – С. 2255-2259.

2. Куликов В.Н. Ферроценкарбоновая кислота и микроволновый синтез ферроценоилгидразонов / **В. Н. Куликов**, Р. С. Никулин, Д.Е. Архипов, А.Н. Родионов, Е.С. Бабусенко, Л.В. Коваленко, Ю.А. Белоусов // ИзвАН, Сер.хим. – 017. – Т. 66, №. 3. – С. 537-544.
3. Куликов В.Н. Синтез и антимикобактериальная активность *N*-изоникотиноил-*N'*-алкилиденферроценкарбогидразидов / **В. Н. Куликов**, Р. С. Никулин, А.Н. Родионов, Е.С. Бабусенко, В.Н. Бабин, Л.В. Коваленко, Ю.А. Белоусов // ИзвАН, Сер.хим. – 2017. – Т. 66, №. 6. – С. 1122-1125.

Тезисы докладов:

1. Belousov Yu.A. Synthesis and properties of the derivatives of ferrocenylpyrazol carboxylic acids / Yu. A. Belousov, **V. N. Kulikov**, A. N. Rodionov // International Interdisciplinary Scientific Conference «Biologically Active Substances And Materials: Fundamental and Applied Problems»: Book of Abstracts, May 27 – June 1, 2013, Novy Svet, Ukraine, P. 18.
2. Kulikov V.N. Synthesize and electrochemical studies of ethyl ferrocenylpyrazolecarboxylates / **V. N. Kulikov**, A. N. Rodionov, O. M. Nikitin, A. S. Makarov, Yu. A. Belousov // International symposium «Modern trends in organometallic chemistry and catalysis»: Book of Abstracts, June 3 – 7, 2013, Moscow, Russia, P. 124.
3. Куликов В.Н. Синтез ферроценоилгидразонов / **В. Н. Куликов**, Р. С. Никулин, А. Н. Родионов, Ю. А. Белоусов // VI молодежная конференция ИОХ РАН: Тезисы докладов, 16 – 17 апреля 2014, Москва, Россия, С. 198.
4. Куликов В.Н. Ферроценсодержащие аналоги изониазида / **В. Н. Куликов**, А. Н. Родионов, Ю. А. Белоусов // Научная конференция с международным участием «Химия Элементоорганических Соединений и Полимеров 2014»: Тезисы докладов, 8 – 10 сентября 2014, Москва, Россия, С. 161.
5. Куликов В.Н. Редокс свойства эфиров 5-ферроценил-1Н-пиразолкарбоновых кислот / **В. Н. Куликов**, О. М. Никитин, Ю. А. Борисов, А. С. Макаров, А. Н. Родионов, Ю. А. Белоусов // Научная конференция с международным участием

- «Химия Элементоорганических Соединений и Полимеров 2014»: Тезисы докладов, 8 – 10 сентября 2014, Москва, Россия, С. 162.
6. Kulikov V. *N*-ferrocenoyl-*N'*-ylideneisonicotinohydrazides as possible antitubercular agents / V. **Kulikov**, R. Nikulin, A. Rodionov, Yu. Belousov // International conference «Organometallic and Coordination Chemistry: Achievements and Challenges. VI Razuvaev lectures»: Book of Abstracts, September 18–23 2015, N. Novgorod, Russia, P. P56.
 7. Куликов В.Н. Разработка нового поколения производных изониазида / **В.Н. Куликов**, Р.С. Никулин, А.Н. Родионов, Ю.А. Белоусов // Конференция-конкурс научных работ молодых учёных по химии элементоорганических соединений и полимеров»: Тезисы докладов, 16 ноября 2015, Москва, Россия, 2015, С. 53–54.
 8. Куликов В.Н. Ферроценсодержащие производные изониазида / **В.Н. Куликов**, Р.С. Никулин, А.Н. Родионов, Ю.А. Белоусов // IV Всероссийская конференция по органической химии»: Тезисы докладов, 22–27 ноября 2015, Москва, Россия, С. 179.
 9. Куликов В.Н. Гидразиды ферроценилпиразолкарбоновых кислот как структурные аналоги изониазида / **В.Н. Куликов**, А.Н. Родионов, Ю.А. Белоусов // Конференция по органической химии «ОргХим-2016»: Тезисы докладов, 27 июня – 1 июля 2016, Санкт-Петербург, С. 598.
 10. Kulikov V. Synthesis and antimicrobial activity of *N*-isonicotinoylferrocenoylhydrazones / V. **Kulikov**, R. Nikulin, A. Rodionov, and Yu. Belousov // International Symposium on Bioorganometallic Chemistry ISBOMC 2016: Book of Abstracts, September 4 – 8 2016, Moscow, Russia, P. P23.
 11. Мурзюкова А.С. Синтез и редокс свойства эфиров 5-ферроценил-1*H*-пиразолкарбоновых кислот / А.С. Мурзюкова, **В.Н. Куликов** // XII конференция молодых ученых по общей и неорганической химии: Тезисы докладов, 5-8 апреля 2022, Москва, Россия, С. 71.
 12. Романов И.С. Синтез и свойства ферроценсодержащих производных изониазида / И.С. Романов, **В.Н. Куликов** // XII конференция молодых ученых

- по общей и неорганической химии: Тезисы докладов, 5-8 апреля 2022, Москва, Россия, С.78.
- 13.** Романов И.С. Ферроцен-модификация изоникотиноилгидразонов / И.С. Романов, А.С. Мурзюкова, **В.Н. Куликов** // II Международная научно-практическая конференция «World of science»: Тезисы докладов, 30 января 2023, Пенза, Россия, С. 16-18.
- 14.** Мурзюкова А.С. N-изоникотиноил-1H-ферроценилдиазолы – потенциальные антимикобактериальные средства / А.С. Мурзюкова, И.С. Романов, **В.Н. Куликов** // VII Всероссийская студенческая конференция с международным участием «Химия и химическое образование XXI века», посвященной 110-летию со дня рождения профессора В. В. Перекалина и 60-летию факультета химии РГПУ им. А. И. Герцена: Тезисы докладов, 28-31 марта 2023, Санкт-Петербург, Россия, С. 55-56.
- 15.** Романов И.С. Оптимизация синтеза N-ферроценоил-N-изоникотиноилгидразонов / И.С. Романов, А.С. Мурзюкова, **В.Н. Куликов** // VII Всероссийская студенческая конференция с международным участием «Химия и химическое образование XXI века», посвященной 110-летию со дня рождения профессора В. В. Перекалина и 60-летию факультета химии РГПУ им. А. И. Герцена: Тезисы докладов, 28-31 марта 2023, Санкт-Петербург, Россия, С. 71-72.
- 16.** Kulikov V.N. Overcoming mycobacterial resistance to isoniazid / **V.N. Kulikov**, A.S. Murzyukova, I.S. Romanov, Yu.A. Belousov // book of abstracts of 4th International symposium «Modern trends in organometallic chemistry and catalysis»: Book of Abstracts, 23-27 May 2023, Moscow, Russia, P. 119.
- 17.** Куликов В.Н. Вторая жизнь производных изоникотиновой кислоты / **В.Н. Куликов**, А.С. Мурзюкова, И.С. Романов, Ю.А. Белоусов // Всероссийская научная конференция с международным участием, посвященная 65-летию со дня основания НИОХ СО РАН «Современные проблемы органической химии»: Тезисы докладов, 26 – 30 июня 2023, Новосибирск, Россия, С. 226.