

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДИК СИНТЕЗА РЯДА САЛИЦИЛАНИЛИДОВ И ОЦЕНКА ИХ АНТИМИКОБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

А.Ю. Малахова^{1*}, О.М. Пономарева¹, М.З. Догонадзе², Н.В. Заболотных²,
Т.И. Виноградова², О. Ю. Стрелова¹

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»

²ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии»

Поступила в редакцию 03.06.2025г.

Аннотация. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Российской Федерации (РФ) продолжает оставаться одной из лидирующих стран по уровню распространения туберкулеза со множественной лекарственной устойчивостью возбудителя (МЛУ-ТБ). К 2023 году показатель эффективного лечения МЛУ-ТБ в мире составил 64% в то время, как в России оставался на уровне 51%. Поиск новых концептуальных путей повышения эффективности лечения туберкулеза, в том числе и при МЛУ формах, является одним из важнейших и приоритетных направлений.

Несмотря на большое количество работ в области синтеза производных п-аминосалициловой кислоты (ПАСК), до сих пор среди них не найдено веществ, обладающих более высокой антимикробактериальной активности по сравнению с ПАСК. В ряде иностранных источников приведены данные о наличие антимикобактериальной активности у салициланилидов и их производных.

Ранее на кафедре фармацевтической химии ФГБОУ ВО СПХФУ в рамках поиска новых антигельминтных средств, были синтезированы салициланилиды, которые по результатам определения острой токсичности в основном оказались малотоксичными. Прогностический анализ этих соединений, с помощью программы PASS (PredictionofActivity Spectra forSubstances), показал наличие у них антимикобактериальной активности, поэтому было решено провести исследование по совершенствованию отдельных стадий их получения.

Исследование антимикобактериальной активности проводили в отношении международного тест-штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv методом двукратных серийных микроразведений в жидкой синтетической среде Миддлброка с индикацией роста микобактерий с помощью 0,01% резазурина. В результате проведенного исследования установлено, что все изученные соединения обладают антимикобактериальной активностью. Таким образом, производные салициланилидов могут рассматриваться как перспективные соединения для дальнейших исследований по поиску противотуберкулезных препаратов.

Ключевые слова: салициланилиды, синтез, *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, антимикобактериальная активность

Мировая численность заболевших туберкулезом в 2023 г. оценивается на уровне 10,8 млн. человек из них умерло в общей сложности 1,25 млн. человек, поэтому он вновь стал ведущей причиной смерти от одного инфекционного возбудителя во всем мире. Туберкулез распространен во всех странах и среди представителей всех возрастных групп. Ликвидация эпидемии туберкулеза к 2030 г. входит в число связанных со здоровьем задач, предусмотренных целями ВОЗ в области устойчивого развития [1].

© Малахова А.Ю., Пономарева О.М., Догонадзе М.З.,
Заболотных Н.В., Виноградова Т.И., Стрелова О.Ю., 2025

В Российской Федерации всего в 2023 г. было зарегистрировано 42 893 новых случая заболевания, что на 6 % меньше по сравнению с 2022 г. [2,3]. Распространение штаммов *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя (МЛУ) и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ), а также необходимость в снижение токсичности препаратов против туберкулеза приводят к поиску новых лекарственных средств в этом направлении [4-9].

п-Аминосалициловая кислота (ПАСК) была первым синтетическим препаратом, нашедшим широкое практическое применение при лечении туберкулеза. Следует отметить, что, несмотря на

открытие других, более эффективных противотуберкулезных химиотерапевтических препаратов, ПАСК и ее производные до сих пор сохраняют свое значение как один из компонентов комбинированной химиотерапии туберкулеза [10,11]. В Государственную фармакопею СССР X издания [12] из производных ПАСК включены два противотуберкулезных препарата: натриевая соль п-аминосалициловой кислоты и БЕПАСК – кальциевая соль п-бензоиламиносалициловой кислоты. В настоящее время в Государственную Фармакопею РФ XV издания включен аминосалицилат натрия дигидрат [13]. В ряде иностранных источников приведены данные о наличие противотуберкулезной активности салициланилидов и их производных [14-16]. Это свидетельствует о том, что салициланилиды являются перспективной группой соединений для получения новых противотуберкулезных лекарственных средств.

Целью данной работы явилось усовершенствование методики синтеза ряда салициланилидов и определение их противотуберкулезной активности (анти микробактериальной) в условиях *in vitro*.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве исходных соединений использовали: салициловую кислоту («ЛенРеактив», Россия), 2-хлор-4-нитрофенола (Acros Organics, Бельгия), 4-метил-3-хлоранилин (Sigma-Aldrich, США). Контроль за ходом химических превращений и чистотой полученных продуктов проводился методом тонкослойной хроматографии на пластинах «Сорб菲尔» ПТСХ-П-А-УФ в системах растворителей («Вектон», Россия): 1) этилацетат–муравьиная кислота 98% (50:1); 2) дихлорэтан – хлороформ (2:4), 3) бензол – гексан (3:2); 4) бензол – хлористый метилен – гексан – пропанол-1 – муравьиная кислота 98% (4:2:2:0,5:0,1). Детекция пятен осуществлялась с помощью монохроматора КФ-4 с использованием светофильтра УФ-2 и йодной камеры.

Исследование проводили на приборах: аналитические весы марки Sartorius CP224S (Германия), автоматическом анализаторе температуры плавления EZ-Melt (США); ИК-Фурье - спектрометр, модель ФСМ-1201 «СПб Инструментс» (Россия) в дисках с калием бромидом, программа FSpec 4.0 (ООО «Мониторинг»); спектрометр «Bruker» Avance III 400MHz (Германия). в дейтерированном диметилсульфоксиде (ДМСО-д₆), программы ACD/SpecManager 10.0 (AdvancedChemistryDevelopment, Inc.); газовый

хроматограф Agilent 6890N Series GC System с масс-селективным детектором Agilent 5973 inert (Agilent Technologies Inc., США) программой AMDISGC/MS 2.71 (NIST).

В качестве одних из исходных соединений для синтеза салициламидов использовали 2-гидрокси-3,5-дигалогенбензойные кислоты (**2a,b**), которые получали из 2-гидроксибензойной кислоты (**1**) по ранее разработанным методикам [18,19] и кислоты (**2a,b**) хроматографически чистые (система 1, R_f = 0,5 ± 0,02).

2-гидрокси-3,5-дибромбензойная кислота (2a**)**. Белые кристаллы. Выход 90%. T_{пл.} = 228÷230°C. Найдено: m/z 295,8500 [M+H]⁺. C₇H₄Br₂O₃. Вычислено: [M+H]⁺295,8507.

2-гидрокси-3,5-дихлорбензоная кислота (2b**)**. Белые кристаллы. Выход 85%. T_{пл.} = 217÷219°C. Найдено: m/z 205,9500 [M+H]⁺. C₇H₄Cl₂O₃. Вычислено: [M+H]⁺205,9537.

Методика ацетилирования фенольного гидроксила соединений (2a,b**)**: к 0,024 моль соединения (**2a,b**) в 60 мл безводного бензола прибавляли 0,037 моль пиридина безводного при перемешивании в течение 30 мин. Затем порциями добавляли 0,04 моль ацетилхлорида и продолжали перемешивание в течение 2 ч. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой очищенной, затем сушили при 40 °C и получали хроматографически чистое соединение (**3a,b**) (система 1, R_f = 0,58 ± 0,02).

2-ацетокси-3,5-дибромбензойная кислота (3a**)**. Белые кристаллы. Выход 80%, Найдено: m/z 337,8600 [M+H]⁺. C₉H₆Br₂O₄. Вычислено: [M+H]⁺337,8612.

2-ацетокси-3,5-дихлорбензоная кислота(3b**)**. Белые кристаллы. Выход 75%, Найдено: m/z 247,9633[M+H]⁺. C₉H₆Cl₂O₄. Вычислено: [M+H]⁺247,9643.

Получение 4-алкокси-3-хлорнитробензола (6a,b**) проводили по следующей методике:** при перемешивании растворяли 0,06 моль 2-хлор-4-нитрофенол (**5**) и 0,06 моль калия карбоната в 50 мл бензола при 40 °C. Затем добавляли 0,06 моль йодистого этила (йодистого пропила) и повышали температуру до 80°C. Критерием окончания реакции являлось отсутствие 2-хлор-4-нитрофенол (**5**) при контроле методом ТСХ реакционной массы в системе 2. Из фильтрата под вакуумом отгоняли бензол. К оставшейся желто-оранжевой жидкости прибавляли 20 мл толуола и вновь отгоняли под вакуумом. Оставшийся в колбе 4-алкокси-3-хлорнитробензол (**6 a,b**) в виде «масла» растворя-

ли в 50 мл толуола и далее использовали его для восстановления нитрогруппы.

3-хлор-4-этоксинитробензол (6а). Желтая жидкость. Выход 90%. Найдено: m/z 201,0183 [M+H]⁺. C₈H₈ClNO₃. Вычислено: [M+H]⁺ 201,0193.

4-пропилокси-3-хлорнитробензол (6б). Желтая жидкость. Выход 90%. Найдено: m/z 215,0339 [M+H]⁺. C₉H₁₀ClNO₃. Вычислено: [M+H]⁺ 215,0349.

Восстановление нитросоединений (6а, б) проводили по ранее отработанной методике [18, 19] и получали амины (**7а, б**) хроматографически чистые (система 3, R_f = 0,5 ± 0,02).

3-хлор-4-этоксианилин (7а). Белые кристаллы. Выход 75%. T_{пл.} = 56–57°C, Найдено: m/z 171,0441 [M+H]⁺. C₈H₁₀ClNO. Вычислено: [M+H]⁺ 171,0451.

4-пропилокси-3-хлоранилин (7б). Белые кристаллы. Выход 70%. T_{пл.} = 61–62°C, Найдено: m/z 185,0590 [M+H]⁺. C₉H₁₂ClNO. Вычислено: [M+H]⁺ 185,0607.

Общая методика получения амидов с использованием хлорангидридов кислот: для получения арилсалициламидов (**9 а–в**) смешивали 0,15 моль ариланилина (**7а, б; 8**) и 0,097 моль 2-гидрокси-3,5-дигалогенбензойной кислоты (**2а, б**) и 300 мл толуола и нагревали при перемешивании, прибавляли 0,034 моль фосфора (III) хлорида. Осадок сушили, перекристаллизовывали из этанола. Арилсалициламиды (**9а–в**) хроматографически чистые (система 4, R_f = 0,65 ± 0,02).

N-(3-хлор-4-этоксифенил)-2-гидрокси-3,5-дихлорбензамид (9а).

Белые кристаллы. Выход 82%. T_{пл.} = 169–170°C, Спектр ИК, см⁻¹: 3400(v OH) и O=C–NH [~3290 (v N-H), 1635 (v C=O, _{амид I}), 1530 (<δ N-H, _{амид II})]; Спектр ЯМР¹H δ, м. д.: 12.95 (м, 1 H, OH), 10.52 (с., 1 H, N-H), 8.12 (д, J=2.26 Гц, 1 H_{аром.}), 7.80 (д, J=2.26 Гц, 1 H_{аром.}), 7.67 (д, J=2.26 Гц, 1 H_{аром.}), 7.57 (дд, J=8.78, 2.51 Гц, 1 H_{аром.}), 7.10 (дд, J=9.03, 4.77 Гц, 1 H_{аром.}), 4.04 (т, J=6.40 Гц, 2H, CH₂), 1.59 (т, J=7.40 Гц, 3 H, CH₃). Найдено: m/z 358,9870 [M+H]⁺. C₁₅H₁₂Cl₃NO₃. Вычислено: [M+H]⁺ 358,9883.

N-(4-пропилокси-3-хлорфенил)-2-гидрокси-3,5-дихлорбензамид (9б). Белые кристаллы. Выход 85%. T_{пл.} = 153–154°C, Спектр ИК, см⁻¹: 3420(v OH) и O=C–NH [~3310 (v N-H), 1630 (v C=O, _{амид I}), 1530 (<δ N-H, _{амид II})]; Спектр ЯМР¹H δ, м. д.: 12.96 (м, 1 H, OH), 10.53 (бр. с., 1 H, N-H), 8.12 (д, J=2.26 Гц, 1 H_{аром.}), 7.80 (д, J=2.26 Гц, 1 H_{аром.}), 7.69 (д, J=2.26 Гц, 1 H_{аром.}), 7.57 (дд,

J=8.78, 2.51 Гц, 1 H_{аром.}), 7.10 (дд, J=9.03, 4.77 Гц, 1 H_{аром.}), 4.01 (т, J=6.40 Гц, 2H, CH₂), 1.80(м, 2 H, CH₂), 1.05 (т, J=7.40 Гц, 3 H, CH₃). Найдено: m/z 373,0020 [M+H]⁺. C₁₆H₁₄Cl₃NO₃. Вычислено: [M+H]⁺ 373,0035.

N-(4-метил-3-хлорфенил)-2-гидрокси-3,5-дихлорбензамид (9в).

Белые кристаллы. Выход 80%. T_{пл.} = 188–189°C; Спектр ИК, см⁻¹: 3400(v OH) и O=C–NH [~3310 (v N-H), 1655 (v C=O, _{амид I}), 1530 (<δ N-H, _{амид II})]; Спектр ЯМР¹H δ, м. д.: 12.56 (м, 1 H, OH), 10.65 (с., 1 H, N-H), 8.08 (д, J=2.51 Гц, 1 H_{аром.}), 7.82 (дд, J=15.56, 2.01 Гц, 2 H_{аром.}), 7.54 (дд, J=8.28, 2.01 Гц, 1 H_{аром.}), 7.36 (д, J=8.28 Гц, 1 H_{аром.}), 2.31 (с, 3 H, CH₃). Найдено: m/z 328,9760 [M+H]⁺. C₁₄H₁₀Cl₃NO₂. Вычислено: [M+H]⁺ 328,9777.

Общая методика получения амидов с использованием хлорангидридов кислот: перемешивали при температуре не выше 60°C смесь 50 мл бензола, 0,01 моль кислоты (**3а, б**), 0,001 моль N,N-диметилформамида и 0,055 моль тионилхлорида, нагревали 1 ч. Полученный хлорангидрид (**4а, б**) растворяли в безводном бензоле и использовали для синтеза соединений (**10а, б**).

Смешивали 0,015 моль 4-метил-3-хлоранилина (**8**), 22 мл бензола, 0,021 моль натрия гидрокарбоната и добавляли 28 мл бензольного раствора, содержащего 0,019 моль хлорангидрида кислоты (**4а, б**), и перемешивали 3 ч при 40°C. Получали арилсалициламиды (**10 а, б**) хроматографически чистый (система 4, R_f = 0,55 ± 0,02) и их перекристаллизовывали из этанола.

2,4-дибром-6-[(4-метил-3-хлорфенил)карбамоил]фенилацетат (10а). Белые кристаллы. Выход 78%. T_{пл.} = 163–164°C, Спектр ИК, см⁻¹: O=C–NH [~3400 (v N-H), 1665 (v C=O, _{амид I}), 1530 (<δ N-H, _{амид II}) и O=C–CH₃ 1770 (v C=O _{эфир.})]; Спектр ЯМР¹H δ, м. д.: 10.39 (с, 1 H, N-H), 8.12 (д, J=2.26 Гц, 1 H_{аром.}), 7.88 (д, J=2.26 Гц, 1 H_{аром.}), 7.55 (д, J=8.28 Гц, 2H_{аром.}), 7.15 (д, J=8.28 Гц, 2H_{аром.}); 2.30 (с, 3 H, O=C–CH₃); 2.26 (с, 3 H, CH₃). Найдено: m/z 460,8840 [M+H]⁺. C₁₆H₁₂Br₂ClNO₃. Вычислено: [M+H]⁺ 460,8852.

2,4-дихлор-6-[(4-метил-3-хлорфенил)карбамоил]фенилацетат (10б). Белые кристаллы. Выход 75%. T_{пл.} = 162–163°C, Спектр ИК, см⁻¹: O=C–NH [~3310 (v N-H), 1665 (v C=O, _{амид I}), 1530 (<δ N-H, _{амид II}) и O=C–CH₃ 1772 (v C=O _{эфир.})]; Спектр ЯМР¹H δ, м. д.: 10.53 (с, 1 H, N-H), 7.87 (д, J=2.26 Гц, 1 H_{аром.}), 7.74 (д, J=2.26 Гц, 1 H_{аром.}), 7.82 (с, 1 H_{аром.}), 7.46 (д, J=1.25 Гц, 1 H_{аром.}), 7.27 (д, J=8.28 Гц, 1 H_{аром.}); 2.33 (с, 3 H, O=C–CH₃); 2.28 (с, 3

H_3CH_3). Найдено: m/z 370,9875 [M+H]⁺. C₁₆H₁₂Cl₃NO₃. Вычислено: [M+H]⁺ 370,9883.

Определение antimикобактериальной активности соединений

Приготовление супензии микобактерий. В качестве тест-культуры использовали штамм *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv - международный штамм, чувствительный ко всем существующим противотуберкулезным препаратам (ТВС # 1/47, источник – Институт гигиены и эпидемиологии, Прага. 1976 г.), получен 07.08.2013 г. из ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава РФ). Лиофилизованный штамм был высажен на плотную питательную среду Левенштейна-Йенсена. 3-х недельную культуру супензировали в физиологическом растворе, содержащем 15% глицерина, аликовты переносили в криопробирки и сохраняли при температуре -80°C. За три недели до эксперимента криопробирки с супензией микобактерий размораживали при комнатной температуре и повторно высевали на питательную среду Левенштейна-Йенсена. Таким образом, в данном исследовании было использовано 2-е поколение оригинального тест-штамма *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv. Для приготовления взвеси микобактерии вносили в сухую стерильную пробирку со 8-9 стеклянными бусами диаметром 3 мм, помещали пробирку на шейкер «Вортекс» на 30-40 сек и затем дробно добавляли 5 мл бульона Миддлбрука 7H9 (Becton Dickinson, кат. № 271310). Взвесь клеток оставляли для осаждения крупных конгломератов на 40 мин. С помощью денситометра «DensiLametr» доводили супернатант до плотности 1,0 ед. по стандарту мутности Mc Farland (3×10^8 бактерий/мл) и разводили в 20 раз бульоном Миддлбрука 7H9 с ростовой добавкой OADC (10%) (Becton Dickinson, кат. № 245116). Разведение 1:20 – рабочее, его инокулировали в опытные и контрольные лунки. Кроме того, в той же питательной среде готовили разведение рабочей супензии МБТ 1:100 – контроль 1% популяции.

Исследование antimикобактериальной активности веществ проводили методом двукратных серийных микроразведений в жидкой синтетической среде Миддлбрука (Middlebrook 7H9 BrothBase, Sigma-Aldrich, кат. № M0178) с 10% ростовой добавки OADC (BBL Middlebrook OADC Enrichment, BectonDickinson, кат. №245116) в 96-луночном планшете с индикацией роста микобактерий с помощью 0,01% резазурина (Resazurin sodium salt, Sigma, кат. № R7017) (метод REMA –

Resazurin Microdilution Assay [17].

Исходные растворы тестируемого соединения с концентрацией 5 мг/мл в диметилсульфоксиде доводили до концентрации 10 мкг/мл бульоном Миддлбрука 7H с ростовой добавкой OADC. Растворы исследуемых веществ вносили в 96-луночные стерильные планшеты в объеме 100 мкл и производили последовательное двукратное разведение от 100 до 0.4 мкг/мл. *Инокуляция супензии.* Рабочую микобактериальную супензию (1 ед. по McFarland, разведение в 20 раз) в объеме 100 мкл вносили во все лунки, за исключением последнего вертикального ряда. Ряд 10 – контроль роста рабочей супензии МБТ; ряд 11 – контроль роста супензии МБТ, разведенной в 100 раз (1% контроль); ряд 12 – контроль питательной среды/«бланк» (200 мкл). Конечный объем внесенной жидкости во всех лунках – 200 мкл. После инокуляции супензии планшеты инкубировали в течение 7 дней в термостате при температуре +35 °C. На 7 сутки инкубации во все лунки добавляли по 30 мкл водного раствора резазурина в концентрации 0.01 %. Планшеты повторно инкубировали 18 ч при +35°C. Рост микобактерий регистрировали визуально по изменению цвета индикатора резазурина (с голубого на розовый). Точной МИК считали разведение исследуемого соединения в лунках с цветностью индикатора, сравнимой в лунках с 1% контролем, или более голубой, сравнимой с бланком.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранее на кафедре фармацевтической химии ФГБОУ ВО СПХФУ в рамках поиска новых антигельминтных средств, были синтезированы салициланилиды (**9а-в,10а,б**) [18,19]. По результатам определения острой токсичности в основном они оказались малотоксичными, а одно из них и относительно безопасным [18]. Прогностический анализ соединений с помощью программы PASS (Predictionof Activity Spectra for Substances) [20] показал наличия у них antimикобактериальной активности, поэтому была усовершенствована схема их синтеза.

Одним из полупродуктов для синтеза ароматических аминов является 4-пропилокси-3-хлорнитробензол (**6б**), полученный из 3,4-дихлорнитробензола действием натрия пропилата в среде пропанола-1. По данным ранее проведенного исследования установлено, что кроме 4-пропилокси-3-хлорнитробензола 83% получается до 9 % побочного продукта [18]. Поэтому, в данном исследовании проводили алкилирование

2-хлор-4-нитрофенола йодистыми производными в бензоле при нагревании. В результате выход аллоксипроизводного увеличился до 90%.

При синтезе салициламидов (**9a,b**) использовали метод с применением треххлорида фосфора (рисунок 1), так как получение этих соединений хлорангидридным методом приводило к образованию смеси двух веществ: производного салициламида 70 % и бензоилированного побочного продукта 30%.

Получение ацетоксалициланидов (**10 a,b**) необходимо проводить путем взаимодействия амина (**8**) с хлорангидридами 2-ацетоксикислот (**4a,b**) (рисунок 1), так как при ацетилировании амида (**9b**) ацетилхлоридом в присутствии пиридина происходит образование до 20 % побочного продукта (2-ацетокси-3,5-дигалогенсалициловой кислоты).

Визуальная оценка противотуберкулезной активности *in vitro* показала, что исследуемые соединения оказывают полное ингибирующее действие на рост штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv в диапазоне концентраций 50,0-25,0 мкг/мл (таблица 1).

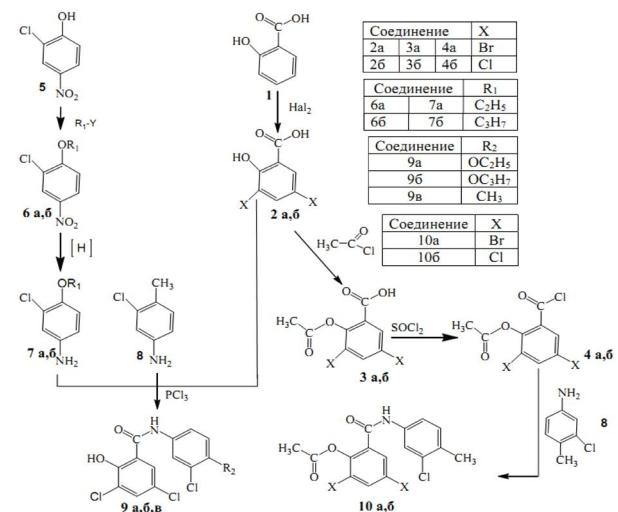


Рис. 1. Схема получения производных салициланилов

В результате было установлено, что наиболее активными оказались вещества (**9a, 9b, 9в, 10a**), которые угнетали рост штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv в концентрации 25,0 мкг/мл, ме-

Таблица 1

*Результаты визуальной оценки antimикобактериальной активности производных салициланилов в отношении штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv в диапазоне концентраций от 100 до 0,4 мкг/мл*

Соединение	Шифр на планшете	Минимальная ингибирующая концентрация соединений	Изменение окраски резазурина (индикатора роста) при воздействии исследуемых соединений на штамм <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv
9a	MCT-24	25,0	
9b	MCT-26	25,0	
9в	MCT-01	25,0	
10a	MCT-03	25,0	
10b	MCT-02	50,0	
Контроль культуры		+++	

Примечание: +++ интенсивный рост культуры

нее выраженным действием обладало соединение под шифром (10б).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что наиболее эффективным способом получения аллоксипроизводных является алкилирования йодпроизводными 2-хлор-4-нитрофенола, так как позволяет увеличить выход конечного продукта до 90 %. Амиды на основе 3,5-дигалогенсалициловой кислоты со свободным фенольным гидроксидом целесообразно получать с применение треххлорида фосфора, что позволяет избежать образования побочного продукта. Установлено, что ацетоксипроизводные салициланилидов, необходимо получать с использованием хлорангидридов 2-ацетоксикислот.

В результате проведенного исследования установлено, что все изученные соединения обладают антимикобактериальной активностью в отношении в отношении чувствительного к противотуберкулезным препаратам международного референтного штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

Таким образом, производные салициланилидов могут рассматриваться как перспективные соединения для дальнейших исследований в качестве противотуберкулезных средств.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Минздрава России «Разработка и доклиническая оценка антимикобактериальных агентов с использованием методов машинного обучения для лечения туберкулеза, вызванного возбудителем с множественной/широкой лекарственной устойчивостью» (2024-2026 гг.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Global tuberculosis report 2024. Geneva: World Health Organization; 2024. <https://www.who.int/teams/global-programme-on-tuberculosis-and-lung-health/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024/9789240101531-eng.pdf> (accessed 26 April)
2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году: Государственный доклад. Москва: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2024. – 364 с.
3. Куликова И.Б. Мониторинг эпидемической ситуации как основа повышения качества оказания медицинской помощи при социально значимых инфекционных заболеваниях в Российской Федерации /И.Б. Куликова, Л.Е. Паролина, В.В. Тестови др. // Туберкулёз и болезни лёгких. 2022. – Т. 100. – № 12. – С. 6-14. doi: 10.21292/2075-1230-2022-100-12-6-14.
4. Ahmad N. Treatment correlates of successful outcomes in pulmonary multidrug — resistant tuberculosis: an individual patient data meta-analysis / N. Ahmad, S.D. Ahuja, O.W. Akkerman et al. // Lancet. – 2018. – Vol.392. – No.10150 – P.821-834. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31644-1/
5. Chan E.D. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a review/E.D. Chan, M.D. Iseman //Current Opinion in Infectious Diseases. – 2008. – Vol. 21. – №.6 – P.587-595. doi: 10.1097/QCO.0b013e328319bce6.
6. Grace A.G. Shortened treatment regimens versus the standard regimen for drug-sensitive pulmonary tuberculosis / A. G. Grace, A. Mittal, S. Jain et al. // Cochrane Database of Systematic Reviews– 2019. – Vol. 12. – №.12 – P. CD012918. doi: 10.1002/14651858.CD01 2918.pub2. Accessed 28 April 2025.
7. Günther G. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a review of current concepts and future challenges / G. Günther //Clinical Medicine – 2014. – Vol. 1214. – №.12 – P. 279-285. doi: 10.7861/clinmedicine.14-3-279.
8. Lohiya A. Prevalence and patterns of drug resistant pulmonary tuberculosis in India — A systematic review and meta-analysis /A. Lohiya, R.S. Abdulkader, R.S. Rathet al. // J. Global Antimicrobial Resistance– 2020. – Vol. 22. –P. 308-316. doi: 10.1016/j.jgar. 2020.03.008
9. Таубэ А.А. Оценка перспектив для разработки и производства высокотехнологичных лекарственных препаратов / А.А. Таубэ, Л.В. Шигарова, Е. В. Флисюк, И.А. Наркевич // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2024. – Т. 23. – № 4. – С. 252-261. doi: 10.37903/vsgma.2024.4.31
10. Lehmann J. para-Aminosalicylic acid in the treatment of tuberculosis /J. Lehmann //Lancet – 1946. – Vol. 247.–No.6384–P. 15-16.
11. Hegde P.V. Synthesis and biological evaluation of orally active prodrugs and analogs of para-aminosalicylic acid (PAS) /P.V. Hegde, M.D. Howe, M.D. Zimmerman et al.//European Journal of Medicinal Chemistry– 2022. –№. 232 –P. 114-201.
12. Государственная фармакопея СССР, 10-е изд. – М: Медицина, 1968. –732 с.
- 13.Фармакопейная статья «Аминосалицилат натрия дигидрат». ФС.2.1.0052.18 «Государственная фармакопея Российской Федерации. XIVиздание»;2018.

14. Imramovský A. New antituberculotics originated from salicylanilides with promising in vitro activity against atypical mycobacterial strains. / A. Imramovský, J. Vinsová, J. Férrizet al. // Bioorganic & Medicinal Chemistry – 2009. – Vol. 17. – No.10 – P. 3572-3579.
15. Krátký M. Antimycobacterial activity of salicylanilide benzenesulfonates. / M. Krátký, J. Vinšová, N.G. Rodriguez et al. // Molecules. – 2012. – Vol. 17. – No.1 – P. 492-503.
16. Krátký M. Antimycobacterial assessment of Salicylanilide benzoates including multidrug-resistant tuberculosis strains. / M. Krátký, J. Vinšová, J. Stolaříková // Molecules. – 2012. – Vol. 17. – No.11 – P. 12812-12820.
17. Martin A. Resazurin microtiter assay plate testing of *Mycobacterium tuberculosis* susceptibilities to second-line drugs: rapid, simple, and inexpensive method / A. Martin, M. Camacho, F. Portaels,
- J.C. Palomino // Antimicrob Agents Chemother. – 2003. – Vol. 47. – No.11. – P.3616-3619.
18. Куклин В.Н. Синтез, строение, биологические свойства и стандартизация арилсалициланилидов, обладающих антигельминтной активностью. Монография / В.Н. Куклин, А. Ю. Малахова – Москва: ООО «Издательство «Кно-Рус», 2019 – 184 с.
19. Церковная К.М. Разработка и валидация аналитической методики количественного определения ацетилсалициловой кислоты и ее метаболита салициловой кислоты в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС / К. М. Церковная, Е. В. Флисюк, В. Н. Шабров // Химико-фармацевтический журнал. – 2021. – Т. 55. – № 12. – С. 50-55.
20. PASSonline [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.way2drug.com/passonline/predict.php> (Дата обращения 26.04.2025).

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

*Малахова Анна Юрьевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии,

E-mail: anna.malahova@pharminnotech.com

Пономарева Оксана Михайловна, студент 4 курса фармацевтического факультета

E-mail: oksana.ponomareva@spcpu.ru

Догонадзе Марина Зауриевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории микробиологии, биохимии и иммуногенетики

E-mail: marine-md@mail.ru

Заболотных Наталья Вячеслововна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории экспериментальной медицины

E-mail: zabol-natal@yandex.ru.

Виноградова Татьяна Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель научно-исследовательской лаборатории экспериментальная медицина

E-mail: vinogradova@spbniif.ru

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint-Petersburg

*Malakhova Anna Y., PhD., Associate Professor,
Department of Pharmaceutical Chemistry
E-mail: anna.malahova@pharminnotech.com

Ponomareva Oksana M., 4th year student of the Faculty of Pharmacy

E-mail: oksana.ponomareva@spcpu.ru

Dogonadze Marine Z., Senior Researcher of the Research Laboratory of Microbiology, Biochemistry and Immunogenetics

E-mail: marine-md@mail.ru

Zabolotnykh Natalya V., Leading Researcher of the Research Laboratory of Experimental Medicine
E-mail: zabol-natal@yandex.ru

Vinogradova Tatyana I., Head of the Research Laboratory of Experimental Medicine
E-mail: vinogradova@spbniif.ru

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

Стрелова Ольга Юрьевна, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии
E-mail: olga.strelova@pharminnotech.com

Strelova Olga Y., PhD, DSci, Full Professor,
Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry
E-mail: olga.strelova@pharminnotech.com

IMPROVEMENT OF METHODS FOR SYNTHESIS OF A NUMBER OF SALICYLANILIDES AND EVALUATION OF THEIR ANTIMYCOBACTERIAL ACTIVITY

A. Yu. Malakhova^{1*}, O.M. Ponomareva¹, M.Z. Dogonadze², N.V. Zabolotnykh²,
T.I. Vinogradova², O. Yu. Strelova¹

¹Saint Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University

²Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology

Abstract. According to the World Health Organization (WHO), the Russian Federation (RF) continues to be one of the leading countries in terms of the prevalence of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). By 2023, the rate of effective treatment of MDR-TB in the world was 64%, while in Russia it remained at 51%. The search for new conceptual ways to improve the effectiveness of tuberculosis treatment, including MDR forms, is one of the most important and priority areas.

Despite a large number of works in the field of synthesis of p-aminosalicylic acid (PAS) derivatives, so far no substances have been found among them that have higher antimycobacterial activity compared to PAS. A number of foreign sources provide data on the presence of antimycobacterial activity of salicylanilides and their derivatives.

Earlier, at the Department of Pharmaceutical Chemistry of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education St. Petersburg Chemical Federal University, as part of the search for new anthelmintic agents, salicylanilides were synthesized, which, according to the results of determining acute toxicity, were mainly low-toxic. Prognostic analysis of these compounds using the PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) program showed that they possess antimycobacterial activity. Therefore, a study was conducted to improve individual stages of their production.

The study of antimycobacterial activity was conducted in relation to the international test strain *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv by the method of double serial microdilutions in liquid synthetic Middlebrook medium with the indication of mycobacterial growth using 0.01% resazurin. As a result of the study, it was established that all the studied compounds possess antimycobacterial activity. Thus, salicylanilide derivatives can be considered as promising for further research to find anti-tuberculosis drugs.

Keywords: salicylanilides, synthesis, *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, antimycobacterial activity

REFERENCES

1. Global tuberculosis report 2024. Geneva: World Health Organization; 2024. <https://www.who.int/teams/global-programme-on-tuberculosis-and-lung-health/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024/9789240101531-eng.pdf> (accessed 26 April)
2. O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blago-poluchiya naseleniya Rossiyskoy Federatsii v 2023 godu: gosudarstvennyy doklad. Moscow; 2024. – 364 s.
3. Kulikova I.B. Epidemic Situation Monitoring as a Basis for Improving the Quality of Medical Care for Socially Important Infectious Diseases in the Russian Federation. / I.B. Kulikova, L.E. Parolina, V.V. Testovet al. // Tuberculosis and Lung Diseases.–2022.–Vol.100.– No.12– P.6-14.
4. Ahmad N. Treatment correlates of successful outcomes in pulmonary multidrug — resistant tuberculosis: an individual patient data meta-analysis / N. Ahmad, S.D. Ahuja, O.W. Akkerman et al. // Lancet. –2018.–Vol.392.–No.10150 – P.821-834.
5. Chan E.D. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a review/ E.D. Chan, M.D. Iseman //Current Opinion in Infectious Diseases. – 2008. – Vol. 21. – No.6 – P.587-595.
6. Grace A.G. Shortened treatment regimens versus the standard regimen for drug-sensitive pulmonary tuberculosis / A. G. Grace, A. Mittal, S. Jain et al. // Cochrane Database of Systematic Reviews– 2019. – Vol. 12. – No.12 – P. CD012918.
7. Günther G. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a review of current

concepts and future challenges / G. Günther // Clinical Medicine – 2014. – Vol. 1214. – No.12 – P. 279-285. doi: 10.7861/clinmedicine.14-3-279.

8. Lohiya A. Prevalence and patterns of drug resistant pulmonary tuberculosis in India — A systematic review and meta-analysis /A. Lohiya, R.S. Abdulkader, R.S. Rathet al. // J. Global Antimicrobial Resistance– 2020. – Vol. 22. –P. 308-316.

9. Taube A.A. Assessment of prospects for the development and authorization of production of High-Tech medicines / A.A. Taube, L.V. Shigarova, E.V. Flisyuk, I.A. Narkevich // Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2024. – T. 23. – No. 4. – P. 252-261.

10. Lehmann J. para-Aminosalicylic acid in the treatment of tuberculosis /J. Lehmann //Lancet – 1946. – Vol. 247.–No.6384–P. 15-16.

11. Hegde P.V. Synthesis and biological evaluation of orally active prodrugs and analogs of para-aminosalicylic acid (PAS) /P.V. Hegde, M.D. Howe, M.D. Zimmerman et al.//European Journal of Medicinal Chemistry– 2022. –No. 232 –P. 114-201.

12. State Pharmacopoeia of the USSR, 10th ed. – M: Medicine, 1968. –732 p.

13. Pharmacopoeia article "Sodium aminosalicylate dihydrate". FS.2.1.0052.18 "State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition"; 2018.

14. Imramovský A. New antituberculosis originated from salicylanilides with promising in vitro activity against atypical mycobacterial strains. / A. Imramovský, J. Vinšová, J.Férrizet al. // Bioorganic

& Medicinal Chemistry– 2009. – Vol. 17. – No.10 – P. 3572-3579.

15. Krátký M. Antimycobacterial activity of salicylanilide benzenesulfonates. / M. Krátký, J. Vinšová, N.G. Rodriguez et al. // Molecules. – 2012. – Vol. 17. – No.1 – P. 492-503.

16. Krátký M. Antimycobacterial assessment of Salicylanilide benzoates including multidrug-resistant tuberculosis strains. / M. Krátký, J. Vinšová, J.Stolaříková// Molecules. – 2012. – Vol. 17. – No.11 – P. 12812-12820.

17. Martin A. Resazurin microtiter assay plate testing of *Mycobacterium tuberculosis* susceptibilities to second-line drugs: rapid, simple, and inexpensive method / A. Martin, M. Camacho, F. Portaels, J.C. Palomino // Antimicrob Agents Chemother. – 2003. – Vol. 47. – No.11. – P.3616-3619.

18. Kuklin V.N. Synthesis, structure, biological properties and standardization of arylsalicylanilides with anthelmintic activity. Monograph / V.N. Kuklin, A. Yu. Malakhova – Moscow: OOO "Izdatelstvo" KnoRus ", 2019 – 184 p.

19. Tserkovnaya K. M. Development and validation of analytical method for the quantitative determination of acetylsalicylic acid and its metabolite in human blood plasma by HPLC-MS/MS / K. M. Tserkovnaya, E.V. Flisyuk, V. N. Shabrov // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2021. – T. 55. – No. 12. – P. 50-55.

20. PASSonline [Electronic resource]. – URL: <http://www.way2drug.com/passonline/predict.php> (Accessed 04/26/2025).