

Синтез и оптимизация противотуберкулезной активности производных 1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекана

Кристина Ю. Комарова¹, Алексей Ю. Лукин^{1,2}, Любовь В. Виноградова¹,
Максим Е. Журавлёв¹, Марине З. Догондзе², Татьяна И. Виноградова²,
Максим А. Гуреев³, Михаил В. Чудинов¹, Дмитрий В. Дарьин^{2,4*}

¹ Российский технологический университет,
Институт тонких химических технологий им. М. В. Ломоносова,
пр. Вернадского, 78, Москва 119571, Россия

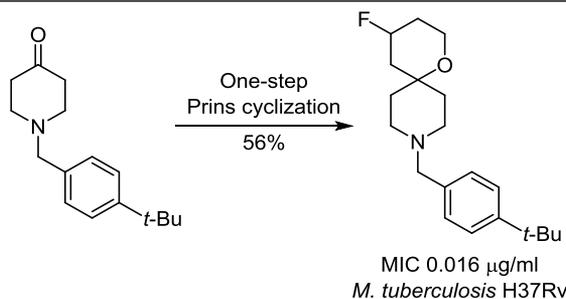
² Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии Минздрава России,
Лиговский пр., 2-4, Санкт-Петербург 191036, Россия; e-mail: d.dariin@spbu.ru

³ Институт Цитологии РАН,
Тихорецкий пр., 4, Санкт-Петербург 194064, Россия

⁴ Санкт-Петербургский государственный университет,
Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург 198504, Россия

Поступило 6.06.2024

Принято 10.06.2024



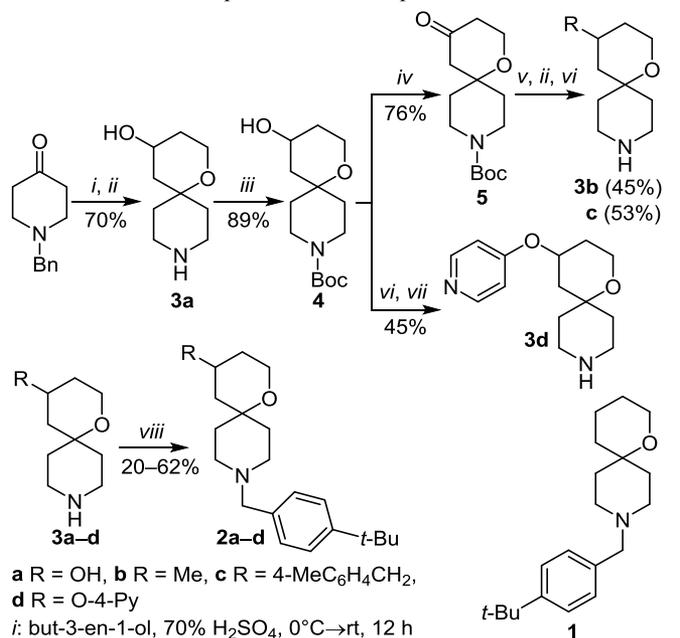
Целью работы явились синтез и исследование противотуберкулезной активности спироциклических ингибиторов белка MmpL3 *M. tuberculosis*, содержащих скелет 1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекана. Результаты молекулярного докинга показали направление возможной оптимизации исходной структуры. Полученная серия соединений, характеризующаяся химическим разнообразием периферического фрагмента, проявила высокую активность в отношении чувствительного к антибиотикам штамма H37Rv и некоторых мультирезистентных штаммов *M. tuberculosis*, превышающую активность препарата сравнения.

Ключевые слова: 1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан, спироциклы, белок MmpL3, противотуберкулезная активность, циклизация Принса.

Спироциклические соединения все чаще и чаще применяются в медицинской химии.^{1–4} Причина такого интереса кроется в уникальной особенности строения спироциклических скаффолдов: сочетании гибкости, характерной для алифатических соединений, с ограничением числа степеней свободы. Количество соединений со спироциклической структурой, характеризующихся таким термином как druglikeness, то есть потенциально способных стать лекарствами, в среднем больше, чем в других классах веществ.^{5,6} Главная проблема в дизайне лекарств такого типа – сложность химического синтеза спироциклических структур.⁷

Варианты биологической активности соединений, содержащих 1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекановый скаффолд,

чрезвычайно разнообразны, что однозначно указывает на привилегированный характер этой структуры. На его основе были получены агонисты рецептора свободных жирных кислот FFA1,⁸ ингибиторы растворимой эпосигидролазы sEH⁹ и различные антибактериальные агенты.^{10,11} В одном из недавних исследований¹² 9-(4-*m*-*tert*-бутилбензил)-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан (**1**) (схема 1) был также охарактеризован как мощный ингибитор белка MmpL3 *M. tuberculosis*. Этот белок является членом семейства транспортеров MmpL, необходимых для жизнедеятельности *M. tuberculosis*,^{13,14} и перспективной мишенью для дизайна новых противотуберкулезных препаратов.^{15,16} Однако предложенная авторами шестистадийная схема синтеза

Схема 1. Синтез спироциклических производных **2a–d**

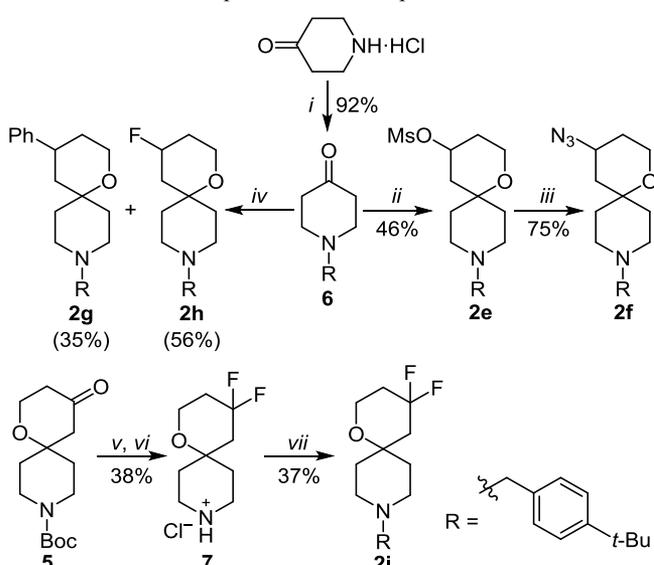
спироциклической структуры с использованием реакции метатезиса олефинов на катализаторе Граббса является сложной, дорогой для воспроизведения и не предполагает введения заместителей.

Ранее в нашей лаборатории был предложен синтетический подход,^{8,17} основанный на реакции циклизации Принса, который позволяет построить 1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекановый scaффолд в одну стадию и вводить различные заместители в положение 4 спироцикла (схема 1). Проверить структурные аналоги соединения **1**, ранее исследованные на другие типы биологической активности, на противотуберкулезную активность было очевидным решением. Набор целевых спироциклов **2a–d** получили восстановительным алкилированием 4-*трем*-бутилбензальдегидом из синтезированных ранее^{8–11} полупродуктов **3a–d** (схема 1).

Направление для дальнейшей оптимизации структуры было задано первичной оценкой противомикробных свойств соединений. Более липофильные спироциклы **2b,c** оказались существенно активнее, чем спироциклы **2a,d**.

Синтез соединений **2e–i**, содержащих липофильные группы различного размера и полярности (фенильную, азидную, фторную, дифторную), был осуществлен в соответствии со схемой 2.

Исходный 1-[(4-*трем*-бутилфенил)метил]пиперидин-4-он (**6**) был получен алкилированием 4-*трем*-бутилбензилбромидом гидрохлорида гидрата пиперидин-4-она с выходом 92%. Далее была проведена реакция Принса с бут-3-ен-1-олом в MeSO₃H, продуктом которой стал метансульфонат 9-(4-*трем*-бутилбензил)-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундека-4-ила (**2e**). Альтернатив-

Схема 2. Синтез спироциклических производных **2e–i**

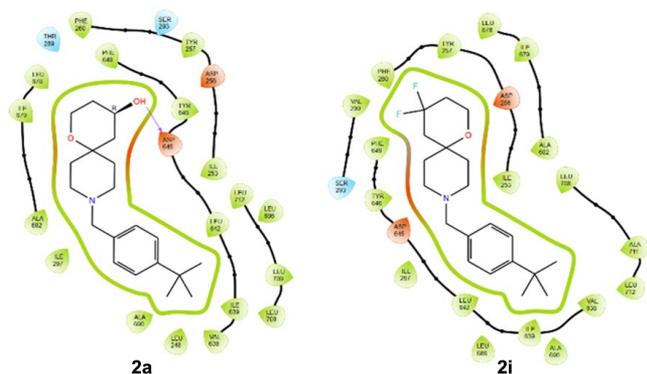
i: 4-*tert*-butyl benzylbromide, K₂CO₃, CH₂Cl₂, rt, 12 h
ii: but-3-en-1-ol, MeSO₃H, CH₂Cl₂, rt, 24 h
iii: NaN₃, DMF, 80°C, 12 h
iv: but-3-en-1-ol, PhH, BF₃·Et₂O, 40°C, 12 h
v: DAST, CH₂Cl₂, 0°C→rt, 18 h
vi: 3 M HCl/dioxane, CH₂Cl₂, rt, 12 h
vii: 4-*tert*-butylbenzaldehyde, KOAc, NaBH(OAc)₃, CH₂Cl₂, rt, 10 h

ным способом получения соединения **2a** стала циклизация пиперидин-4-она **6** с бут-3-ен-1-олом в 70% H₂SO₄ с выходом 46% (схема 1). Мезилат **2e** был переведен в 4-азидо-9-(4-*трем*-бутилбензил)-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан (**2f**) реакцией нуклеофильного замещения с NaN₃, выход составил 75%. Мы предположили, что использование кислоты Льюиса (BF₃·Et₂O) в избытке PhH при проведении циклизации позволит нам получить 9-(4-*трем*-бутилбензил)-4-фенил-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан (**2g**). Следует отметить, что это превращение ранее не было известно для азациклических кетонов. Оказалось, что в таких условиях наряду с искомым спироциклическим соединением **2g** (выход 35%) образуется значительное количество 9-(4-*трем*-бутилбензил)-4-фтор-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекана (**2h**) (выход 56%). Эти продукты легко разделялись с помощью хроматографии. В синтезе 9-(4-*трем*-бутилбензил)-4,4-дифтор-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекана (**2i**) в качестве исходного соединения использовали кетон **5**, а оптимальным фторирующим реагентом – диэтиламинотрифторид серы (DAST), применение которого позволило получить дифторное производное **2i** (схема 2).

Для синтезированных соединений **2a–i** были определены минимальные ингибирующие концентрации (МИК) в отношении *M. tuberculosis* (штамм H37Rv), в качестве препарата сравнения использовали изониазид.¹⁸ Определение МИК проводили методом двукратных серийных микроразведений (от 100 до 0.016 мкг/мл) в жидкой синтетической среде Миддлбука в 96-луночном планшете с индикацией роста микобактерий с помощью 0.01% резазурина.¹⁹ Сопоставление противотуберкулезной активности соединений (табл. 1) и

Таблица 1. Противотуберкулезная активность спироциклических ингибиторов белка MmpL3

Соединение	МИК, мкг/мл	Соединение	МИК, мкг/мл
2a	25	2f	25
2b	0.016	2g	100
2c	3.1	2h	0.016
2d	100	2i	0.016
2e	12.5	Изониазид	0.025

**Рисунок 1.** Изображения связывания соединений **2a** (МИК 25 мкг/мл) и **2i** (МИК 0.016 мкг/мл) в активном центре белка MmpL3.

результатов докинга с белком MmpL3 подтвердило, что ключевым отличием более активных соединений является интенсивность липофильных контактов заместителя.

Присутствие группы OH в положении 4 спироцикла соединения **2a** стимулирует полярные контакты с аминокислотой Asp645 белка MmpL3, тогда как у активных соединений полярные контакты реализованы с электронной плотностью гетероциклического кислорода (рис. 1). Это вызывает конформационную перегруппировку в структуре лиганд-белкового комплекса и уменьшает вклад липофильных контактов.

Однако увеличение липофильности сопряжено с ростом объема заместителя и ограничивается конфигурацией активного центра. Эффективным решением здесь является липофильная изостеризация водорода по положению 4' спироциклического фрагмента.

Таким образом, нами было экспериментально подтверждено, что введение в качестве заместителя одного или двух атомов фтора в тетрагидропирановый цикл спироциклической системы 1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекана позволяет получить 9-(4-*трет*-бутилбензил)-4-фтор-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан и 9-(4-*трет*-бутилбензил)-4,4-дифтор-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан, проявляющие высокую активность в отношении чувствительного к антибиотикам штамма H37Rv и некоторых мультирезистентных штаммов *M. tuberculosis*.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C зарегистрированы на спектрометре Bruker DPX-300 (300 и 75 МГц соответственно) в ДМСО- d_6 , CDCl_3 , $\text{DCI-D}_2\text{O}$ и $\text{MeOD-}d_4$. Внутренний

стандарт ТМС. Масс-спектры высокого разрешения записаны на приборе Shimadzu Axima-Resonance. ВЭЖХ-МС соединений **5**, **7** записаны на приборе Shimadzu LCMS-2020 (ионизация ЭУ). Препаративная адсорбционная колоночная хроматография проведена на силикагеле Kieselgel 60 (Merck, Германия), тонкослойная хроматография – на пластинах Sorbfil ПТСХ-АФ-В-УФ ("Имид", Россия) в подходящей системе растворителей, визуализация – в ультрафиолетовом свете и растворе нингидрина. Температуры плавения определены при помощи прибора Stuart SMP50.

Все операции с реагентами, чувствительными к влаге и кислороду, проведены в атмосфере сухого аргона в тщательно высушенной стеклянной аппаратуре. В работе использованы растворители марок "хч", "чда", "осч". Растворители удалены упариванием на роторном испарителе (давление 10–20 мм рт. ст., температура 40–60°C) с последующим высушиванием остатка при давлении 0.1 мм рт. ст.

Вос-защищенный 1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан-4-ол (**4**) получен по методике, описанной нами ранее.¹⁷

9-(4-*трет*-Бутилбензил)-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан-4-ол (2a). К смеси 200 мг (0.81 ммоль) 1-[(4-*трет*-бутилфенил)метил]пиперидин-4-она (**6**) и 64 мг (0.89 ммоль) бут-3-ен-1-ола при интенсивном перемешивании медленно прикапывают 1 мл 70% H_2SO_4 , перемешивают в течение ночи, добавляют 5 мл H_2O и насыщенный раствор NaOH до pH 9. Экстрагируют EtOAc (3×10 мл). Экстракт сушат безводным Na_2SO_4 и упаривают при пониженном давлении. Остаток подвергают колоночной хроматографии, элюируя CH_2Cl_2 и повышая полярность добавлением MeOH до 5%. Выход 118 мг (46%), прозрачное масло. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м. д. (J , Гц): 7.33 (2H, д, $J = 8.1$, H Ar); 7.21 (2H, д, $J = 8.0$, H Ar); 3.80–3.59 (2H, м, NCH_2Ar); 3.53–3.43 (3H, м, CH_2); 2.47–2.19 (4H, м, CH_2); 1.90 (1H, д, $J = 13.9$, CH_2); 1.70 (2H, д, $J = 12.7$, $J = 4.3$, CH_2); 1.59–1.53 (2H, м, CH_2); 1.50–1.35 (1H, м, CH_2); 1.27 (9H, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 1.15–1.04 (1H, м, CH_2). Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ , м. д.: 149.7; 129.3; 129.2; 128.6; 125.3; 71.0; 62.9; 62.0; 58.7; 48.9; 48.7; 45.3; 36.1; 34.6; 31.6; 30.4. Найдено, m/z : 318.2433 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{NO}_2$. Вычислено, m/z : 318.2433.

Получение соединений 2a–d,i (общая методика). К раствору 0.158 г (0.97 ммоль, 1.5 экв.) 4-*трет*-бутилбензальдегида в 10 мл CH_2Cl_2 добавляют 0.65 ммоль (1 экв.) гидрохлорида соответствующего 4-замещенного 1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекана и 0.096 г (0.97 ммоль, 1.5 экв.) KOAc и перемешивают в течение 2 ч. Затем порциями вносят 0.55 г (2.6 ммоль, 4 экв.) $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ и перемешивают при комнатной температуре в течение 8 ч. Реакционную смесь выливают в 20 мл насыщенного водного раствора NaHCO_3 и экстрагируют CH_2Cl_2 (3×20 мл), объединенные органические экстракты сушат над безводным Na_2SO_4 , фильтруют и упаривают при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии на SiO_2 .

9-(4-*трет*-Бутилбензил)-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан-4-ол (2a). Выход 84 мг (41%), прозрачное

масло. Спектральные данные совпадают с описанными ранее для этого соединения.

9-(4-*трет*-Бутилбензил)-4-метил-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан (2b). Выход 127 мг (62%), прозрачное масло. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д. (J , Гц): 7.58 (2H, д, $J = 8.0$, H Ar); 7.43 (2H, д, $J = 8.2$, H Ar); 4.16–3.93 (2H, м, NCH_2Ar); 3.86–3.60 (2H, м, CH_2); 3.43 (1H, т, $J = 11.3$, CH_2); 3.19 (2H, т, $J = 12.9$, CH_2); 3.03 (1H, кв, $J = 12.5$, $J = 11.4$, CH_2); 2.81 (1H, д, $J = 11.1$, CH_2); 2.48–2.30 (2H, м, CH_2); 2.23–2.05 (1H, м, CH_2); 1.72–1.50 (3H, м, CH_3); 1.31 (9H, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 1.19–0.98 (2H, м, CH_2); 0.89 (3H, д, $J = 6.3$, CH_3). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , м. д.: 153.1; 131.1; 126.1; 125.3; 68.3; 61.1; 60.7; 47.8; 47.6; 43.8; 35.9; 34.7; 34.3; 31.1; 26.0; 25.0; 22.2. Найдено, m/z : 316.2640 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{NO}$. Вычислено, m/z : 316.2640.

9-(4-*трет*-Бутилбензил)-4-(4-метилбензил)-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан (2c). Выход 53 мг (20%), прозрачное масло. Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м. д. (J , Гц): 7.32 (2H, д, $J = 8.1$, H Ar); 7.21 (2H, д, $J = 7.9$, H Ar); 7.07 (1H, д, $J = 7.9$, H Ar); 7.02 (1H, д, $J = 8.1$, H Ar); 3.62–3.41 (4H, м, NCH_2Ar , CH_2Ar); 2.49–2.30 (5H, м, CH_2); 2.25 (3H, с, CH_3 Ar); 2.13–2.00 (1H, м, CH_2); 1.95–1.78 (1H, м, CH_2); 1.43 (4H, т, $J = 13.2$, CH_2); 1.3–1.2 (11H, м, CH_2 , $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 1.07 (1H, т, д, $J = 12.4$, $J = 5.1$, CH_2); 0.94 (1H, т, $J = 12.6$, CH_2). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м. д.: 149.8; 137.0; 135.0; 129.25; 129.1; 125.3; 69.8; 61.9; 59.9; 48.7; 43.0; 42.7; 34.6; 32.6; 32.0; 31.6; 28.8; 21.0. Найдено, m/z : 406.3112 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{NO}$. Вычислено, m/z : 406.3109.

9-(4-*трет*-Бутилбензил)-4-(пиридин-4-илокси)-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан (2d). Выход 89 мг (35%), прозрачное масло. Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м. д. (J , Гц): 8.35 (2H, д, $J = 6.5$, H Py); 7.31 (2H, д, $J = 8.0$, H Py); 7.23–7.14 (2H, м, H Ar); 6.95 (2H, д, $J = 6.4$, H Ar); 4.82 (1H, д, т, $J = 9.8$, $J = 5.3$, CH_2); 3.80–3.57 (2H, м, CH_2); 3.39 (2H, с, NCH_2Ar); 2.47–2.34 (2H, м, CH_2); 2.34–2.18 (2H, м, CH_2); 2.04–1.89 (3H, м, CH_2); 1.66–1.34 (5H, м, CH_2); 1.26 (9H, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м. д.: 163.4; 151.3; 149.5; 135.9; 129.0; 125.2; 111.5; 71.4; 70.1; 62.3; 58.0; 48.8; 48.7; 37.8; 34.5; 31.8; 31.6; 31.2. Найдено, m/z : 395.2696 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_2$. Вычислено, m/z : 395.2698.

9-(4-*трет*-Бутилбензил)-4,4-дифтор-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан (2i). Выход 81 мг (37%), прозрачное масло. Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м. д. (J , Гц): 7.58 (2H, д, $J = 7.9$, H Ar); 7.45 (2H, д, $J = 8.0$, H Ar); 4.22 (2H, с, NCH_2Ar); 3.75 (2H, т, $J = 5.6$, CH_2); 3.14–2.94 (4H, м, CH_2); 2.09–1.86 (8H, м, CH_2); 1.29 (9H, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м. д. (J , Гц): 152.1; 131.5; 129.6; 127.6; 125.8 (д, $J = 8.1$); 69.7; 58.8; 47.0; 34.8; 33.8 (т, $J = 22.1$); 31.4; 30.8. Найдено, m/z : 338.2296 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{F}_2\text{NO}$. Вычислено, m/z : 338.2295.

Получение соединений 2g,h (общая методика). К раствору 200 мг (0.81 ммоль) 1-[(4-*трет*-бутилфенил)метил]пиперидин-4-она (**6**) в 3 мл PhH последовательно добавляют 58 мг (0.81 ммоль) бут-3-ен-1-ола и 120 мкл (0.97 ммоль) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. Реакционную смесь перемешивают в течение ночи при 40°C, затем выливают в 10 мл насыщенного водного раствора NaHCO_3 и

экстрагируют EtOAc (3×10 мл), объединенные органические экстракты сушат над безводным Na_2SO_4 , фильтруют и упаривают при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии на SiO_2 (элюент CH_2Cl_2 – MeOH , 5%).

9-(4-*трет*-Бутилбензил)-4-фенил-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан (2g). R_f 0.9 (CH_2Cl_2 – MeOH , 5%). Выход 107 мг (35%), прозрачное масло. Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м. д. (J , Гц): 7.39–7.14 (9H, м, H Ar); 3.76–3.56 (4H, м, NCH_2Ar , CH_2); 2.99–2.87 (1H, м, CH_2); 2.77–2.55 (2H, м, CH_2); 2.45–2.23 (2H, м, CH_2); 1.73–1.49 (6H, м, CH_2); 1.43 (1H, т, $J = 12.9$, CH_2); 1.27 (9H, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м. д.: 150.3; 146.2; 129.8; 128.8; 127.1; 126.5; 125.5; 69.8; 60.3; 48.4; 43.1; 36.0; 34.6; 33.6; 31.5. Найдено, m/z : 378.2797 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{NO}$. Вычислено, m/z : 378.2796.

9-(4-*трет*-Бутилбензил)-4-фтор-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан (2h). R_f 0.3 (CH_2Cl_2 – MeOH , 5%). Выход 145 мг (56%), прозрачное масло. Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м. д. (J , Гц): 7.31 (2H, д, $J = 8.1$, H Ar); 7.19 (2H, д, $J = 8.0$, H Ar); 4.90 (1H, д, т, $J = 49.4$, $J = 8.9$, $J = 4.5$, CHF); 3.79–3.64 (1H, м, CH_2); 3.58–3.45 (2H, м, NCH_2Ar); 2.45–2.35 (2H, м, CH_2); 2.32–2.08 (2H, м, CH_2); 1.95–1.61 (4H, м, CH_2); 1.61–1.35 (4H, м, CH_2); 1.26 (9H, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м. д. (J , Гц): 149.4; 136.0; 128.9; 125.2; 88.6; 86.3; 71.2 (д, $J = 7.8$); 62.3; 57.2 (д, $J = 8.3$); 48.7 (д, $J = 23.3$); 36.8; 34.5; 32.7; 32.6; 31.6. Найдено, m/z : 320.2390 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{FNO}$. Вычислено, m/z : 320.2389.

Метансульфонат 9-(4-*трет*-бутилбензил)-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундека-4-ила (2e). К раствору 0.5 г (2.04 ммоль) 1-[(4-*трет*-бутилфенил)метил]пиперидин-4-она (**6**) в 10 мл CH_2Cl_2 добавляют 0.153 г (2.12 ммоль) бут-3-ен-1-ола и при перемешивании медленно прикапывают 0.82 г (8.5 ммоль) метансульфонокислоты, перемешивают при комнатной температуре в течение 24 ч. Затем к реакционной смеси по каплям добавляют 10% водный раствор K_2CO_3 до pH 9, экстрагируют CH_2Cl_2 (3×10 мл). Экстракт сушат над безводным Na_2SO_4 и упаривают при пониженном давлении. Остаток подвергают колоночной хроматографии, элюируя CH_2Cl_2 и повышая полярность добавлением MeOH до 5%. Выход 0.29 г (46%), прозрачное масло. Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м. д. (J , Гц): 7.32 (2H, д, $J = 8.3$, H Ar); 7.19 (2H, д, $J = 8.0$, H Ar); 4.90 (1H, д, кв, $J = 9.6$, $J = 4.9$, CHOMs); 3.76–3.66 (1H, м, CH_2); 3.56 (1H, т, $J = 11.4$, CH_2); 3.39 (2H, с, NCH_2Ar); 3.19 (3H, с, CH_2SO_2); 2.45–2.37 (2H, м, CH_2); 2.33–2.10 (2H, м, CH_2); 2.01–1.89 (3H, м, CH_2); 1.64–1.37 (5H, м, CH_2); 1.26 (9H, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMCO-}d_6$), δ , м. д.: 149.5; 135.9; 128.9; 125.2; 79.6; 76.3; 71.6; 62.2; 57.9; 48.8; 48.6; 34.5; 32.9; 31.6; 31.1. Найдено, m/z : 396.2209 $[\text{M}+\text{H}]^+$. $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{NO}_4\text{S}$. Вычислено, m/z : 396.2208.

4-Азидо-9-(4-*трет*-бутилбензил)-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан (2f). К раствору 0.25 г (0.63 ммоль) соединения **2e** в 1 мл ДМФА добавляют 82 мг (1.26 ммоль) NaN_3 и перемешивают в течение 12 ч при 80°C. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, выливают в 5 мл насыщенного водного раствора

NaHCO₃ и экстрагируют EtOAc (3 × 10 мл), объединенные органические экстракты сушат над безводным Na₂SO₄, фильтруют и упаривают при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии на SiO₂ (элюент CH₂Cl₂–MeOH, 5%). Выход 0.16 г (75%), прозрачное масло. Спектр ЯМР ¹H (DMCO-*d*₆), δ, м. д. (*J*, Гц): 7.32 (2H, д, *J* = 8.0, H Ar); 7.21 (2H, д, *J* = 8.2, H Ar); 3.81 (1H, т. т, *J* = 11.4, *J* = 4.5, CHN₃); 3.74–3.65 (1H, м, CH₂); 3.53 (1H, т. д, *J* = 11.8, *J* = 2.4, CH₂); 3.45 (2H, с, NCH₂Ar); 2.47–2.27 (3H, м, CH₂); 2.27–2.14 (1H, м, CH₂); 2.00–1.93 (1H, м, CH₂); 1.83 (2H, д. д, *J* = 13.0, *J* = 4.2, CH₂); 1.64–1.52 (2H, м, CH₂); 1.52–1.34 (2H, м, CH₂); 1.27 (9H, с, C(CH₃)₃). Спектр ЯМР ¹³C (DMCO-*d*₆), δ, м. д.: 149.7; 135.2; 129.2; 125.3; 70.8; 62.0; 58.5; 54.0; 48.7; 48.5; 38.1; 34.5; 31.7; 31.6; 29.7. Найдено, *m/z*: 343.2499 [M+H]⁺. C₂₀H₃₁N₄O. Вычислено, *m/z*: 343.2497.

трет-Бутил-4-оксо-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан-9-карбоксилат (5). К раствору 4.70 г (17.3 ммоль) соединения **4** в 100 мл CH₂Cl₂ добавляют 5 г молекулярных сит 3 Å, несколько капель AcOH и при перемешивании порциями вносят 13 г (34.6 ммоль) дихромата пиридиния. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 18 ч, фильтруют через слой целита, осадок дополнительно промывают 100 мл CH₂Cl₂. Фильтрат промывают 5% водным раствором HCl, сушат над безводным Na₂SO₄, фильтруют и упаривают при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии на SiO₂ (элюент CHCl₃). Выход 3.54 г (76%), белые кристаллы, т. пл. 61–64°C. Спектр ЯМР ¹H (DMCO-*d*₆), δ, м. д. (*J*, Гц): 4.00 (2H, т, *J* = 6.1, CH₂); 3.75 (2H, д. д, *J* = 10.1, *J* = 3.3, CH₂); 3.22–3.09 (2H, м, CH₂); 2.46 (2H, т, *J* = 6.0, CH₂); 2.36 (2H, с, CH₂); 1.80 (2H, д, *J* = 12.9, CH₂); 1.50 (2H, д. д, *J* = 14.6, *J* = 2.8, CH₂); 1.45 (9H, с, C(CH₃)₃). Спектр ЯМР ¹³C (DMCO-*d*₆), δ, м. д.: 206.8; 154.8; 79.6; 74.9; 60.4; 52.7; 41.7; 39.1; 34.4; 28.4. Масс-спектр, *m/z*: 270 [M+H]⁺.

1-[(4-трет-Бутилфенил)метил]пиперидин-4-он (6). К суспензии 2.31 г (16.73 ммоль) K₂CO₃ в 50 мл CH₂Cl₂ добавляют 1.29 г (8.36 ммоль) гидрохлорида гидрата пиперидин-4-она и прикапывают при перемешивании 1.9 г (8.36 ммоль) 4-трет-бутилбензилбромида. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение ночи, затем выливают в 100 мл насыщенного водного раствора NaHCO₃ и экстрагируют CH₂Cl₂ (3 × 50 мл), объединенные органические экстракты сушат над безводным Na₂SO₄, фильтруют и упаривают при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии на SiO₂ (элюент CH₂Cl₂–MeOH, 5%). Выход 1.89 г (92%), прозрачное масло. Спектр ЯМР ¹H (DMCO-*d*₆), δ, м. д. (*J*, Гц): 7.36 (2H, д, *J* = 8.3, H Ar); 7.26 (2H, д, *J* = 8.3, H Ar); 3.56 (2H, с, NCH₂Ar); 2.66 (4H, т, *J* = 6.1, H-3); 2.34 (4H, т, *J* = 6.1, H-2); 1.28 (9H, с, C(CH₃)₃). Спектр ЯМР ¹³C (DMCO-*d*₆), δ, м. д. (*J*, Гц): 208.9; 149.8; 135.7; 128.9; 125.4; 60.8; 55.3; 52.7; 41.0; 34.6; 31.6.

Гидрохлорид 4,4-дифтор-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекана (7). Получение интермедиата трет-бутил-

4,4-дифтор-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан-9-карбоксилата (условия v, схема 2). К раствору 1 г (3.71 ммоль) трет-бутил-4-оксо-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан-9-карбоксилата (**5**) в 80 мл абсолютного CH₂Cl₂ при 0°C прикапывают 1 мл (7.42 ммоль) диэтиламинотрифторида серы и перемешивают при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь выливают в 100 мл насыщенного водного раствора NaHCO₃ и экстрагируют CH₂Cl₂ (3 × 50 мл), объединенные органические экстракты сушат над безводным Na₂SO₄, фильтруют и упаривают при пониженном давлении. Остаток очищают методом колоночной хроматографии на SiO₂ (элюент CHCl₃). Выход 0.43 г (40%), белые кристаллы, т. пл. 54–55°C. Спектр ЯМР ¹H (DMCO-*d*₆), δ, м. д. (*J*, Гц): 3.74 (2H, т, *J* = 5.6, CH₂); 3.66–3.55 (2H, м, CH₂); 3.01 (2H, т, *J* = 12.4, CH₂); 2.04–1.86 (4H, м, CH₂); 1.76 (2H, д, *J* = 13.9, CH₂); 1.52–1.43 (2H, м, CH₂); 1.39 (9H, с, C(CH₃)₃). Спектр ЯМР ¹³C (DMCO-*d*₆), δ, м. д. (*J*, Гц): 154.3; 122.6 (д, *J* = 28.6); 79.0; 71.5 (т, *J* = 4.5); 57.5 (т, *J* = 4.7); 42.8 (т, *J* = 21.7); 34.1 (т, *J* = 22.3); 34.0; 28.5. Масс-спектр, *m/z*: 293 [M+H]⁺.

Получение гидрохлорида 4,4-дифтор-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекана (**7**) из интермедиата трет-бутил-4,4-дифтор-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан-9-карбоксилата (условия vi, схема 2). К раствору 0.4 г (1.37 ммоль) трет-бутил-4,4-дифтор-1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекан-9-карбоксилата в 3 мл диоксана прикапывают 3 мл 3 M раствора HCl в диоксане, перемешивают в течение ночи, растворитель упаривают, полученный осадок перекристаллизовывают из *i*-PrOH. Выход 0.3 г (95%), белые кристаллы, т. пл. 120–121°C. Спектр ЯМР ¹H (DCI-D₂O), δ, м. д. (*J*, Гц): 3.79–3.76 (2H, м, CH₂); 3.28–3.07 (4H, м, CH₂); 2.10 (2H, д, *J* = 15.9, CH₂); 1.99 (4H, т, *J* = 14.9, CH₂); 1.87–1.74 (2H, м, CH₂). Спектр ЯМР ¹³C (DCI-D₂O + MeOD-*d*₄), δ, м. д. (*J*, Гц): 122.9 (д, *J* = 5.1); 65.8; 54.0; 37.8 (т, *J* = 21.7); 35.6; 35.5; 29.0 (т, *J* = 23.0); 26.0. Масс-спектр, *m/z*: 193 [M+H]⁺.

Изучение противотуберкулезной активности соединений 2a–i проведено в соответствии с ранее описанным протоколом.¹¹ Связывающие конфигурации лигандов предсказаны с помощью метода индуцированного соответствия (induced-fit docking), предполагающего структурную гибкость белка. Ячейка сетки стыковки рассчитана на основе позиционирования и размера референтного лиганда,¹⁸ присутствующего в файлах базы данных Protein Data Bank (PDB). В качестве эталонного белка-мишени выбрана кристаллическая структура MmpL3, полученная путем криоэлектронной микроскопии (PDB, 7WNX). Моделирование межмолекулярных взаимодействий выполнено с помощью программы Schrodinger Suite 2022-4.

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

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Санкт-Петербургского государственного научно-исследовательского института фтизиопульмонологии

в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (№ 121112600145-2).

Спектры ЯМР зарегистрированы с использованием оборудования Центра коллективного пользования Российского технологического университета при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках соглашения № 075-15-2021-689 от 01.09.2021 г., уникальный идентификационный номер 2296.61321X0010.

Список литературы

1. Batista, V. F.; Pinto, D.; Silva, A. M. S. *Expert Opin. Drug Discovery* **2022**, *17*, 603.
2. Hiesinger, K.; Dar'in, D.; Proschak, E.; Krasavin, M. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 150.
3. Zheng, Y.; Tice, C. M.; Singh, S. B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 3673.
4. Zheng, Y. J.; Tice, C. M. *Expert Opin. Drug Discovery* **2016**, *11*, 831.
5. Wei, W.; Cherukupalli, S.; Jing, L.; Liu, X.; Zhan, P. *Drug Discovery Today* **2020**, *25*, 1839.
6. Talele, T. T. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 13291.
7. Moshnenko, N.; Kazantsev, A.; Chupakhin, E.; Bakulina, O.; Dar'in, D. *Molecules* **2023**, *28*, 4209.
8. Krasavin, M.; Lukin, A.; Bagnyukova, D.; Zhurilo, N.; Zahanich, I.; Zozulya, S.; Ihalainen, J.; Forsberg, M. M.; Lehtonen, M.; Rautio, J.; Moore, D.; Tikhonova, I. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 5481.
9. Lukin, A.; Kramer, J.; Hartmann, M.; Weizel, L.; Hernandez-Olmos, V.; Falahati, K.; Burghardt, I.; Kalinchenkova, N.; Bagnyukova, D.; Zhurilo, N.; Rautio, J.; Forsberg, M.; Ihalainen, J.; Auriola, S.; Leppanen, J.; Konstantinov, I.; Pogoryelov, D.; Proschak, E.; Dar'in, D.; Krasavin, M. *Bioorg. Chem.* **2018**, *80*, 655.
10. Lukin, A.; Chudinov, M.; Vedekhina, T.; Rogacheva, E.; Kraeva, L.; Bakulina, O.; Krasavin, M. *Molecules* **2022**, *27*, 4864.
11. Krasavin, M.; Lukin, A.; Vedekhina, T.; Manicheva, O.; Dogonadze, M.; Vinogradova, T.; Zabolotnykh, N.; Rogacheva, E.; Kraeva, L.; Sharoyko, V.; Tennikova, T. B.; Dar'in, D.; Sokolovich, E. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *166*, 125.
12. Guardia, A.; Baiget, J.; Cacho, M.; Perez, A.; Ortega-Guerra, M.; Nxumalo, W.; Khanye, S. D.; Rullas, J.; Ortega, F.; Jimenez, E.; Perez-Herran, E.; Fraile-Gabaldon, M. T.; Esquivias, J.; Fernandez, R.; Porras-De Francisco, E.; Encinas, L.; Alonso, M.; Giordano, I.; Rivero, C.; Miguel-Siles, J.; Osende, J. G.; Badiola, K. A.; Rutledge, P. J.; Todd, M. H.; Remuinan, M.; Alemparte, C. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 11327.
13. Domenech, P.; Reed, M. B.; Barry, C. E., 3rd. *Infect. Immun.* **2005**, *73*(6), 3492.
14. Williams, J. T.; Abramovitch, R. B. *Microb. Drug Resist. (Larchmont, N.Y., U. S.)* **2023**, *29*(5), 190.
15. North, E. J.; Schwartz, C. P.; Zgurskaya, H. I.; Jackson, M. *Expert Opin. Drug Discovery* **2023**, *18*, 707.
16. Togra, N. S.; Vargas, A. M.; Bhargavi, G.; Mallakuntla, M. K.; Tiwari, S. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 10669.
17. Lukin, A.; Bagnyukova, D.; Kalinchenkova, N.; Zhurilo, N.; Krasavin, M. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 3311.
18. O'Connor, C.; Patel, P.; Brady, M. F. *Isoniazid*; 2024. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; PMID: 32491549.
19. Palomino, J. C.; Martin, A.; Camacho, M.; Guerra, H.; Swings, J.; Portaels, F. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 2720.
20. Hu, T.; Yang, X.; Liu, F.; Sun, S.; Xiong, Z.; Liang, J.; Yang, X.; Wang, H.; Yang, X.; Guddat, L. W.; Yang, H.; Rao, Z.; Zhang, B. *Structure* **2022**, *30*(10), 1395 e4.