

Л. П. Юнникова¹, Т. А. Акентьева¹, Г. А. Александрова², Л. А. Михайлова¹,
С. Л. Елисеев¹

СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ АНИЛИНОВ С ФРАГМЕНТАМИ 1,3,5-ЦИКЛОГЕПТАТРИЕНА И 5Н-ДИБЕНЗО[а, d]АННУЛЕНА

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Пермская государственная сельскохозяйственная академия им. академика Д. Н. Прянишникова", 614000, ул. Петропавловская, 23, Пермь, Пермский край, Россия, E-mail: yunnikova@yahoo.com, akentjeva-perm@rambler.ru

² Естественно-научный институт Пермского государственного университета, 614990, ул. Генкеля 4, г. Пермь, Пермский край, Россия

Взаимодействием замещённых анилинов с перхлоратом тропилия или 5Н-добензо[а, d]-аннулен-5-олом получены анилины с фрагментами 1,3,5-циклогептатриена и 5Н-добензо[а, d]аннулена, обладающих антимикробной активностью.

Ключевые слова: синтез; 4-циклогепта-2,4,6-триен-1-иланилин; 2-[[4-циклогепта-2,4,6-триен-1-илфенил)амино]метил] фенол; 4-бром-2-(5Н-добензо[а, d][7]аннулен-5-ил)-анилин; 4-(5Н)-добензо[а, d][7]аннулен-5-ил-N,N-диметилаанилин; [4-(5Н)-добензо[а, d][7]аннулен-5-ил)-N-(пиридин-3-илметил)анилин; противомикробная активность.

Ранее [1] нами показано, что анилин, содержащий в *para*-положении биогенный фрагмент 1,3,5-циклогептатриена 4-циклогепта-2,4,6-триен-1-иланилин, и его гидрохлорид обладают выраженной противомикробной активностью в отношении микроорганизмов рода *Staphylococcus* и микроскопических грибов *Candida albicans*. Как известно [2], именно ассоциации из этих микробов *Staphylococcus spp.* и *Candida spp.* играют основную роль при гнойно-воспалительных заболеваниях кожи у людей.

В продолжение исследований с целью поиска биологически активных соединений, обладающих данным видом активности, нами впервые осуществлён синтез ранее неизвестных аминов и иминов с фрагментами 1,3,5-циклогептатриена и 5Н-добензо[а, d]аннулена, а также представлены результаты расширенных исследований противомикробной активности 4-циклогепта-2,4,6-триен-1-иланилин (**I**) и его гидрохлорида (**II**) на 3 музейных тест-штаммах: *St. aureus* 6538 P, *Streptococcus faecalis* 29212, *Salmonella enteritidis* и 5 госпитальных штаммах, полученных из городской клинической больницы г. Перми: *St. aureus* 154, *St. aureus* 17, *St. cohnii* 160, *St. cohnii* 154, *St. haemolyticus* 156. Приведены результаты по синтезу и противомикробной активности соединений (**I** – **VI**).

Структурные формулы исследуемых соединений **I** – **VI** и их аналога (**VIII**).

Синтез N-замещённого *para*-тропилированного анилина — 2-[[4-циклогепта-2, 4, 6-триен-1-илфенил)амино]метил] фенола (**III**) (схема 1) осуществлён по методу [3]. Ранее среди соединений этого ряда антимикробная активность не была выявлена [3].

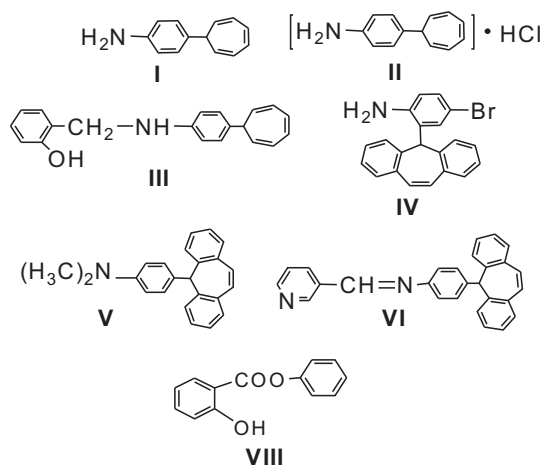
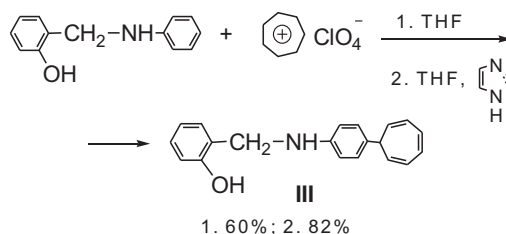
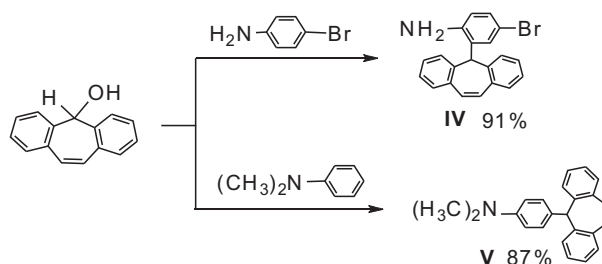


Схема 1

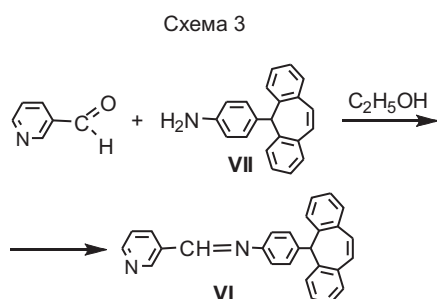


Соединения **IV**, **V** (схема 2) получены по методу, описанному в сообщении [4].

Схема 2



Соединение **VI** получено взаимодействием 3-формилпиридина с 4-(5H)-добензо[*a,d*][7]аннулен-5-ил-анилином (**VII**) (схема 3) по методу [5].



Экспериментальная химическая часть

Спектры ЯМР ^1H сняты на приборе “Mercury 300BB” (300 МГц) (фирма Varian, USA), масс-спектры сняты на хроматомасс-спектрометре “Agilent Technologies 6890N/5975B” (фирма Agilent Technologies, USA), колонка HP — 5ms (30 м × 0,25 мм, 0,25 μm).

Соединения **I**, **II** получены по патенту [1], 5H-добензо[*a,d*]аннулен-5-ол использовали коммерческий

(фирма “Вектон”, Санкт-Петербург), перхлорат тропиля получен по методу [6]. Данные элементного анализа соответствуют вычисленным для молекулярных формул.

2-{{(4-Циклогепта-2, 4, 6-триен-1-илфенил)амино}метил}фенол (**III**).

Метод А. Смешивают 0,19 г (1 ммоль) перхлората тропиля с 5 мл тетрагидрофурана и затем добавляют 0,034 г (0,5 ммоль) имидазола и 0,199 г (1 ммоль) N-(2-гидроксифенилметил)анилина. Реакционную массу перемешивают 2 ч, разбавляют водой, нейтрализуют до pH 7. Выход 0,23 г (82 %), белые кристаллы с т.пл. 93 – 94 °С.

Метод Б. К суспензии 0,19 г (1 ммоль) перхлората тропиля в 5 мл тетрагидрофурана добавляют 0,199 г (1 ммоль) N-(2-гидроксифенилметил)анилина. Реакционную массу перемешивают 2 ч, разбавляют водой, нейтрализуют до pH 7. Выход 0,17 г (60 %), белые кристаллы с т. пл. 93 – 94 °С.

Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м.д. (J, Гц): 2,65 (т, 1H, $J_{1,2}$ 5,7, $J_{2,3}$ 5,4, C^7H в C_7H_7); 4,10 (уш. с, 1H, NH); 4,43 (с, 2H, CH_2); 5,35 – 5,40 (д.д, 2H, $J_{5,7}$, $\text{C}^{1,6}\text{H}$ в C_7H_7); 6,22 – 6,25 (м, 2H, $\text{C}^{2,5}\text{H}$ в C_7H_7); 6,71 – 6,74 (м, 2H, *ор*-

Таблица 1

Антимикробная активность соединений **I** – **III**, **VIII**, мкг/мл, в отношении музейных штаммов

Соединение	Музейные штаммы													
	**** <i>St. aureus</i> 906		<i>St. aureus</i> 6538 P		**** <i>St. epidermidis</i>		**** <i>St. saprophyticus</i>		<i>Streptococcus faecalis</i> 29212		<i>Salmonella enteritidis</i>		**** <i>Candida albicans</i>	
	*МИК	**МБК	*МИК	**МБК	*МИК	**МБК	*МИК	**МБК	*МИК	**МБК	*МИК	**МБК	*МИК	**МБК
I	62,5	125	> 62,5 < 125	125	> 62,5 < 125	125	> 31,2 < 62,5	62,5	62,5	250	> 500 < 1000	1000	15,6	31,2
II	31,2	> 31,2 < 62,5	> 15,6 < 31,2	31,2	–	–	–	–	62,5	125	500	750	> 125 < 250	250
III	1000	> 1000	250	500	–	–	500	1000	–	–	–	–	–	–
VIII	750	2000	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Контроль IX	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост
Контроль вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост

Здесь и в табл. 2: * МИК — минимальная ингибирующая концентрация, мкг/мл;

** МБК — минимальная бактерицидная концентрация, мкг/мл;

*** МФК — минимальная фунгицидная концентрация, мкг/мл;

(-) — отсутствие противомикробного действия.

**** Значения МИК и МБК соединений **I** и **II** приведены для сравнения из [1].

Таблица 1

Антимикробная активность соединений **I**, **II**, мкг/мл, в отношении госпитальных штаммов

Соединения	Госпитальные штаммы									
	<i>St. aureus</i> 154		<i>St. aureus</i> № 17(ОПБ) MSSA		<i>St. cohnii</i> № 160 (MSSA)		<i>St. Cohnii</i> № 154 (MRST)		<i>St. haemolyticus</i> № 156	
	*МИК	**МБК	*МИК	**МБК	*МИК	**МБК	*МИК	**МБК	*МИК	**МБК
I	> 125 < 250	250	> 62,5 < 125	125	> 62,5 < 125	125	> 125 < 250	250	< 250 > 125	250
II	125	250	62,5	125	62,5	125	125	250	125	250
Контроль IX	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост
Контроль вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост	рост

мо-С₆H₄-NH); 6,85 – 6,90 (м, 5Н, 2Н С^{3,4}Н в С₇H₇ + 2Н мета-С₆H₄-CH₂ + 1Н ОН); 7,15 – 7,25 (м, 4Н, 2Н мета-С₆H₄-NH + 2Н орто-, пара-С₆H₄-CH₂). Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн.} %): 289 [M]⁺(30); 288(5); 182(95); 121(100); 122(9); 91(3). С₂₀H₁₉NO.

Общая методика получения IV и V. 5Н-Дибензо[*a,d*]аннулен-5-ол и пара-броманилин или *n*-N,N-диметиланилин в мольном отношении 1:1 растворяют в уксусной кислоте, перемешивают 4 ч при комнатной температуре. Реакционную массу разбавляют водой, нейтрализуют до рН 7, осадок отфильтровывают.

4-Бром-2-(5Н-дибензо[*a,d*][7]аннулен-5-ил)анилин (IV). Выход 0,33 г (91 %), белые кристаллы с *t*_{пл.} 142 – 143 °С (гексан). Спектр ЯМР ¹Н (CDCl₃), δ, м.д.: 4,62 (уш. с, 2Н, NH₂); 5,41 (с, 1Н, С⁵Н); 6,41 (д, 1Н, J 8,7 Гц, орто-С₆H₃-NH₂), 7,11 – 7,51 (м, 12Н, ArH + 2Н С¹⁰⁻¹¹). Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн.} %): 261 [M]⁺(1); 191(100); 190(6); 151 (1); 91(3).

4-(5Н)-Дибензо[*a,d*][7]аннулен-5-ил)-N,N-диметиланилин (V). Выход 0,27 г (87 %), белые кристаллы с *t*_{пл.} 132 – 133 °С (гексан). Спектр ЯМР ¹Н спектр (CDCl₃), δ, м.д.: 2,79 (с, 6Н, 2СН₃); 5,28 (с, 1Н, С⁵Н в С₁₅H₁₁); 6,43 (с, 4Н, Ar), 6,71 (с, 2Н, С¹⁰⁻¹¹Н в С₁₅H₁₁); 7,21 – 7,44 (м, 8Н, С^{1-4,6-9}Н в С₁₅H₁₁). Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн.} %): 311 [M]⁺(100), 267 (13), 191(14), 190 (6), 91 (4), 77 (3).

[4-(5Н)-Дибензо[*a,d*][7]аннулен-5-ил)-N-(пиридин-3-илметил)анилин (VI).

К 0,21 г (1 ммоль) 4-(5Н)-дибензо[*a,d*][7]аннулен-5-ил)анилина (VII) добавляют 5 мл этилового спирта и 0,11 г (1 ммоль) 3-формилпиридина, смесь нагревают до полного растворения компонентов, охлаждают, выпавший осадок отделяют. Выход 0,33 г (89 %), белые кристаллы с *t*_{пл.} 164 – 165 °С (гексан). Спектр ЯМР ¹Н спектр (CDCl₃), δ, м.д. (J, Гц): 5,36 (с, 1Н, С⁵Н в С₁₅H₁₁); 6,61 (д, 2Н, J 7,8, орто-С₆H₄-N); 6,71 (с, 2Н, С¹⁰⁻¹¹ Н в С₁₅H₁₁); 6,92 (д, 2Н, J 8,4, мета-С₆H₄-N); 7,23 – 7,49 (м, 8Н, С^{1-4,6-9}Н в С₁₅H₁₁); 7,22 – 7,25 (м, 2Н, 1Н орто-С₅H₄N-CH + 1Н мета-С₅H₄N-CH); 8,39 (с, 1Н, CH=N); 8,63 – 8,65 (м, 1Н, пара-С₅H₄N-CH); 8,93 (с, 1Н, CH=N в С₅H₄N). Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн.} %): 372 [M]⁺ (100), 281(3); 267 (54), 191 (69). С₂₇H₂₀N₂.

Экспериментальная фармакологическая часть

Исследования проводили на 3 музейных тест-штаммах: *St. aureus* 6538 P, *Streptococcus faecalis* 29212, *Salmonella enteritidis* и 5 госпитальных штаммах, полученных из городской клинической больницы г. Перми: *St. aureus* 154, *St. aureus* 17, *St. cohnii* 160, *St. cohnii* 154, *St. haemolyticus* 156.

Для исследований использовали общепринятый метод двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде [7]. Эксперименты начинали с подготовки исходных разведений на питательном бульоне музейных штаммов из суточной агаровой культуры по оптическому стандартному образцу мутности на 10

МЕ. Микробная нагрузка соответствовала 2,5 · 10⁵ микробных тел в 1 мл. Готовили серии разведений исследуемых соединений в диметилсульфоксиде (IX) для соединений I, III – VI; II растворяли в воде. Микробную взвесь вносили в приготовленные разведения препаратов в питательной среде. Факт ингибирования роста бактерий и дрожжеподобных грибов наблюдали после 20-часового термостатирования при 37 °С, а конечные результаты (бактерицидный или фунгицидный эффект) фиксировали через 7 сут. Максимальная испытанная концентрация соединений соответствовала 1000 мгк/мл. Антимикробную (ингибирующую, бактерицидную и фунгицидную) активность оценивали по минимально действующей концентрации. В качестве препарата сравнения по фармакологическому (антимикробному) действию для синтезированных соединений был использован фенолсалицилат VIII [8]. Результаты исследований антимикробной активности приведены в табл. 1, 2.

Соединение I и его гидрохлорид (II) проявили активность как против грибов, так и против ряда бактерий. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) для I в отношении грибов *Candida albicans* составила 15,6 – 31,2 мгк/мл, в отношении *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermis* — 62,5 – 125,0 мгк/мл, в отношении *Staphylococcus saprophyticus* — 31,2 – 62,5 мгк/мл. МИК для солянокислой соли (II) в отношении грибов *Candida albicans* составила 125 – 500 мгк/мл, в отношении *Staphylococcus aureus* — 31,2 – 62,5 мгк/мл. Проведённые исследования показали, что соединение (I) вызывает гибель золотистого стафилококка (*St. aureus*) (штаммы 906 и 6538 P) и эпидермального (*St. epidermis*) в концентрации 125,0 мгк/мл; гибель сапрофитного стафилококка (*St. saprophyticus*) — 62,5 мгк/мл, фекального стрептококка (*Strept. faecalis*) — 250,0 мгк/мл, гибель грибов кандиды (*Cand. albicans*) наступает от воздействия концентрации 31,2 мгк/мл. Соединение (II) проявило активность в отношении всех испытанных микроорганизмов: бактерицидные свойства в отношении *St. aureus* отмечены в концентрации 31,2 мгк/мл, гибель *Strept. faecalis* наступает при концентрации от 125,0 мгк/мл, грибка *Cand. albicans* — 250,0 мгк/мл, а *Salmonella* — 750,0 мгк/мл.

Следует отметить, что в отношении *E. coli* ингибирующее действие проявили лишь соединения II и IV в концентрации соответственно 500 и > 1000 мгк/мл. Соединение III проявило бактериостатическую и бактерицидную активность в отношении *St. aureus* 906, 538P и *St. saprophyticus* 15305 в концентрации соответственно 1000, > 1000, 250, 500 и 500, 1000 мгк/мл. Соединение 4-бром-2-(5Н-дибензо[*a,d*][7]аннулен-5-ил)анилин (IV) проявило ингибирующее действие в отношении *St. aureus* 906 в концентрации 125 мгк/мл и *E. coli* в концентрации > 1000 мгк/мл. Соединение (V) 4-(5Н)-дибензо[*a,d*][7]аннулен-5-ил)-N,N-диметиланилин проявило ингибирующее действие в отношении *St. aureus* 906 в концентрации >1000 мгк/мл. Соедине-

ние VI проявило ингибирующее действие в отношении *St. aureus* 906 в концентрации 1000 мкг/мл.

Полученные нами соединения в некоторых случаях проявляют более высокую противомикробную активность относительно активности их аналога по фармакологическому действию VIII. Полученные результаты подтверждают целесообразность дальнейших исследований соединений данного ряда.

Работа проведена при финансовой поддержке Министерства образования Пермского края.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л. П. Юнникова, Т. А. Акентьева, Патент РФ. № 2479571 / С1.

2. А. В. Алешукина, Е. В. Голошва, *Пробл. мед. микол.*, **14**(1), 3 – 8 (2012).
3. Т. А. Акентьева, Л. П. Юнникова, *Бутлеров. сообщ.*, **28**(20), 80 – 83 (2011).
4. Л. П. Юнникова, Т. А. Акентьева, Т. В. Махова., Г. А. Александрова, *Хим.-фарм. журн.*, **46**(12), 27 – 29 (2012).
5. Вейганд-Хильгетаг, *Методы эксперимента в органической химии*, Химия. Москва (1968), сс. 470 – 472.
6. Д. Н. Курсанов, М. Е. Вольпин, *ДАН СССР*, **113**(2), 339 – 342 (1957).
7. Г. Н. Першин, *Методы экспериментальной химиотерапии*, Медицина, Москва (1971), с. 109.
8. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Т. 2, Медицина, Москва (1986).

Поступила 01.11.13

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ANILINES WITH 1,3,5-CYCLOHEPTATRIENE AND 5H-DIBENZO[a,d]ANNULENE FRAGMENTS

L. P. Yunnikova¹, T. A. Akent'eva¹, G. A. Aleksandrova², L. A. Mikhailova¹, and C. L. Eliseev¹

¹ Perm State Agricultural Academy, ul. Petropavlovskaya 23, Perm, 614000 Russia;

² Natural Sciences Institute, Perm State University, ul. Genkelya 4, Perm, 614990 Russia;

* e-mail: yunnikova@yahoo.com

Anilines containing 1,3,5-cycloheptatriene and 5H-dibenzo[a, d]annulene fragments have been synthesized using reactions of substituted anilines with tropylium perchlorate and 5H-dibenzo[a, d]annulene. The obtained anilines possess antimicrobial activity.

Keywords: synthesis, 4-cyclohepta-2,4,6-trien-1-ylaniline, 2-[[[(4-cyclohepta-2,4,6-trien-1-ylphenyl)amino]methyl]phenol, 4-bromo-2-(5H-dibenzo[a,d][7]annulen-5-yl)aniline, 4-(5H-dibenzo[a,d][7]annulen-5-yl)-N,N-dimethylaniline, [4-(5H-dibenzo[a,d][7]annulen-5-yl)-N-(pyridin-3-ylmethylene)]aniline, antimicrobial activity