

А. Г. Тырков, М. А. Абдельрахим, Л. Т. Сухенко

СИНТЕЗ И АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЗАМЕЩЕННЫХ ГИДРАЗОНОВ НИТРОТЕТРАЗОЛ-5-КАРБАЛЬДЕГИДА

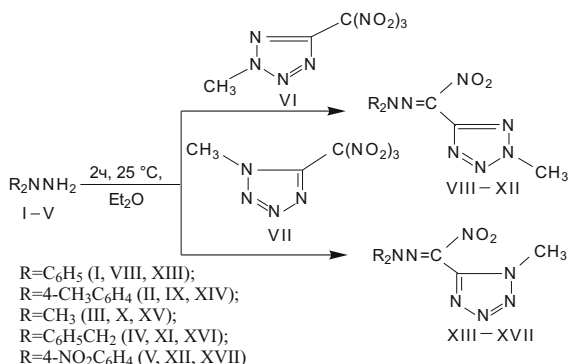
Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия

Осуществлен синтез и исследована антимикробная активность гидразонов ω-нитротетразол-5-карбальдегида по отношению к *St. aureus*, *St. pneumoniae*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *Micrococcus* и определены минимальные ингибирующие концентрации.

Ключевые слова: синтез; гидразоны нитротетразол-5-карбальдегида; антимикробная активность; минимальная ингибирующая концентрация.

α-С-Нитрогидразоны представляют интерес в качестве соединений, обладающих широким спектром антимикробной и фунгицидной активности [1, 2]. Известно, что участие в сопряжении с гетероциклом двойной связи, нитро- или карбонильной функций приводит к заметному возрастанию антимикробного эффекта против *Staphylococcus aureus* [3]. Ранее нами была изучена антимикробная активность замещенных гидразонов нитро-1,2,4-оксадиазол-5-карбальдегида и определены минимальные ингибирующие концентрации [4].

В продолжение поиска новых веществ, обладающих антимикробным эффектом, нами синтезированы новые представители нитрогидразонов — ω-нитротетразол-5-карбальдегиды (VIII–XVII), исследована их активность в отношении ряда микроорганизмов и определены минимальные ингибирующие концентрации. Целевые соединения получены реакцией несимметрично замещенных гидразинов (I–V) с производными изомерными 5-тринитрометилтетразола VI, VII при 25 °С в среде осушенного этоксиэтана.



Полученные диазаалкены VIII–XVII представляют собой высокоплавкие, желтые вещества, устойчивые при обычных условиях, растворимые в органических растворителях и не растворимые в воде. Структура соединений установлена при помощи ИК, электронной спектроскопии, ЯМР 1H , а состав подтвержден данными элементного анализа. ИК-спектры гидразонов содержат полосы поглощения валентных колебаний сопряженной нитрогруппы в области $1545 - 1550\text{ см}^{-1}$ (асимметричные) и $1285 - 1290\text{ см}^{-1}$ (симметричные), а также фрагмента C=N молекулы в области $1645 - 1650\text{ см}^{-1}$. В ИК-спектрах соединений XII и XVII дополнительно зафиксированы полосы поглощения группы NO_2 при арильном фрагменте при 1540 и 1360 см^{-1} . Картина спектров ЯМР 1H

характеризуется присутствием мультиплетных сигналов протонов ароматических колец при $8,70 - 7,35$ м.д. и синглетных сигналов протонов групп CH_2 и CH_3 гидразонного фрагмента при $4,15$ м.д. и $2,90 - 2,91$ м.д. соответственно. Протоны группы CH_3 при тетразольном кольце резонируют в виде синглетного сигнала в области $4,50 - 4,71$ м.д. Факт присутствия нитрогидразонного фрагмента в продуктах реакции доказывается наличием в электронных спектрах 2 групп полос поглощения с четко выраженными максимумами: 240 нм (локальное возбуждение π-электронов) и $345 - 378\text{ нм}$ (внутримолекулярный перенос заряда на нитрогруппу, характерный для сопряженных нитроалкенов [5]).

Экспериментальная химическая часть

Гидразины I–V выделяли из их солянокислых солей под действием раствора щелочи с последующей экстракцией этоксиэтаном. Замещенные 5-тринитрометилтетразола VI, VII получали по методике [6]. ИК-спектры синтезированных соединений снимали на спектрофотометре InfraLUM FT-02 в таблетках KBr в интервале $4000 - 400\text{ см}^{-1}$. Спектры ЯМР 1H записаны на приборе Bruker Avance II 300 SF (300 МГц) в $CDCl_3$, внутренний стандарт — ГМДС. Электронные спектры (в этаноле) фиксировали на спектрофотометре СФ-8 с автоматическим регистратором. Контроль за степенью чистоты полученных соединений осуществляли методом восходящей ТСХ на пластинках Silufol UV-254 в системе растворителей ацетон — гексан, 2:3, проявление проводили парами йода [7]. Элементный анализ выполнен на автоматическом CHNS-анализаторе Euro Vector EA-3000.

Гидразоны ω-нитротетразол-5-карбальдегида (VIII–XVII). К раствору 5 ммоль соединений I–V в 50 мл осушенного этоксиэтана при $0\text{ }^\circ C$ прибавляют 5 ммоль соединений VI или VII в 15 мл того же растворителя. Реакционную смесь выдерживают 2 ч при $25\text{ }^\circ C$, растворитель отгоняют при помощи ротационного испарителя, а остаток хроматографируют на нисходящей стеклянной колонке ($250 \times 10\text{ мм}$) цилиндрической формы, заполненной активированным силикагелем марки Silicagel 100/400 μ, элюент — C_6H_6 , растворитель для перекристаллизации веществ — метанол.

1-Нитро-3,3-дифенил-1-(2-метилтетразол-2H-5-ил)-2,3-дизапроп-1-ен (VIII). Выход 48%, т. пл. $156 - 157\text{ }^\circ C$. ИК-спектр, $\nu_{max},\text{ см}^{-1}$: 1550, 1290 ($NO_2\text{ сопр.}$). Спектр ЯМР 1H , δ, м.д.: 7,62 (м, $10H_{аром.}$, C_6H_5); 4,70 (с,

3H, CH₃). УФ спектр, λ_{max}, нм: 240 (lgε 4,07), 373 (lgε 3,94). C₁₅H₁₃N₇O₂.

1-Нитро-3,3-ди-(4-толил)-1-(2-метилтетразол-2H-5-ил)-2,3-диазапроп-1-ен (IX). Выход 54 %, т. пл. 171 °С. ИК-спектр, ν_{max}, см⁻¹: 1545, 1280 (NO₂ сопр.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 7,40 – 7,55 (м, 8H_{аром.}, C₆H₄); 4,71 (с, 3H, CH₃); 2,35 (с, 6H, CH₃). УФ-спектр, λ_{max}, нм: 240 (lgε 4,03), 376 (lgε 3,95). C₁₇H₁₇N₇O₂.

3-Метил-1-нитро-1-(2-метилтетразол-2H-5-ил)-2,3-диазабут-1-ен (X). Выход 50 %, т. пл. 78 °С. ИК-спектр, ν_{max}, см⁻¹: 1540, 1285 (NO₂ сопр.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 4,70 (с, 3H, CH₃); 2,90 (с, 6H, CH₃). УФ-спектр, λ_{max}, нм: 240 (lgε 4,05), 343 (lgε 3,98). C₅H₉N₇O₂.

1-Нитро-3,3-добензил-1-(2-метилтетразол-2H-5-ил)-2,3-диазапроп-1-ен (XI). Выход 52 %, т. пл. 180 – 182 °С. ИК-спектр, ν_{max}, см⁻¹: 1540, 1285 (NO₂ сопр.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 7,55 (м, 10H_{аром.}, C₆H₅); 4,70 (с, 3H, CH₃); 4,15 (с, 4H, CH₂). УФ-спектр, λ_{max}, нм: 240 (lgε 4,05), 345 (lgε 3,94). C₁₇H₁₇N₇O₂.

1-Нитро-3,3-ди-(4-нитрофенил)-1-(2-метилтетразол-2H-5-ил)-2,3-диазапроп-1-ен (XII). Выход 32 %, т. пл. 192 °С. ИК-спектр, ν_{max}, см⁻¹: 1545, 1290 (NO₂ сопр.); 1540, 1360 (NO₂ сопр.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 8,70 – 7,35 (м, 8H_{аром.}, C₆H₄); 4,71 (с, 3H, CH₃). УФ-спектр, λ_{max}, нм: 240 (lgε 4,05), 378 (lgε 3,95). C₁₅H₁₁N₉O₆.

1-Нитро-3,3-дифенил-1-(1-метилтетразол-1H-5-ил)-2,3-диазапроп-1-ен (XIII). Выход 50 %, т. пл. 187 °С. ИК-спектр, ν_{max}, см⁻¹: 1550, 1290 (NO₂ сопр.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 7,65 (м, 10H_{аром.}, C₆H₅); 4,50 (с, 3H, CH₃). УФ-спектр, λ_{max}, нм: 240 (lgε 4,05), 372 (lgε 3,92). C₁₅H₁₃N₇O₂.

1-Нитро-3,3-ди-(4-толил)-1-(1-метилтетразол-1H-5-ил)-2,3-диазапроп-1-ен (XIV). Выход 56 %, т. пл. 195 °С. ИК-спектр, ν_{max}, см⁻¹: 1545, 1280 (NO₂ сопр.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 7,42 – 7,54 (м, 8H_{аром.}, C₆H₄); 4,50 (с, 3H, CH₃); 2,36 (с, 6H, CH₃). УФ-спектр, λ_{max}, нм: 240 (lgε 4,02), 376 (lgε 3,96). C₁₇H₁₇N₇O₂.

3-Метил-1-нитро-1-(1-метилтетразол-1H-5-ил)-2,3-диазабут-1-ен (XV). Выход 58 %, т. пл. 120 – 122 °С.

ИК-спектр, ν_{max}, см⁻¹: 1540, 1285 (NO₂ сопр.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 4,50 (с, 3H, CH₃); 2,91 (с, 6H, CH₃). УФ-спектр, λ_{max}, нм: 240 (lgε 3,99), 345 (lgε 3,95). C₅H₉N₇O₂.

1-Нитро-3,3-добензил-1-(1-метилтетразол-1H-5-ил)-2,3-диазапроп-1-ен (XVI). Выход 54 %, т. пл. 197 °С. ИК-спектр, ν_{max}, см⁻¹: 1540, 1285 (NO₂ сопр.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 7,54 (м, 10H_{аром.}, C₆H₅); 4,50 (с, 3H, CH₃); 4,15 (с, 4H, CH₂). УФ-спектр, λ_{max}, нм: 240 (lgε 4,02), 345 (lgε 3,98). C₁₇H₁₇N₇O₂.

1-Нитро-3,3-ди-(4-нитрофенил)-1-(1-метилтетразол-1H-5-ил)-2,3-диазапроп-1-ен (XVII). Выход 30 %, т. пл. 202 °С. ИК-спектр, ν_{max}, см⁻¹: 1545, 1290 (NO₂ сопр.); 1540, 1360 (NO₂ сопр.). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 8,70 – 7,36 (м, 8H_{аром.}, C₆H₄); 4,50 (с, 3H, CH₃). УФ-спектр, λ_{max}, нм: 240 (lgε 4,01), 377 (lgε 3,97). C₁₅H₁₁N₉O₆.

Экспериментальная биологическая часть

Противомикробную активность гидразонов нитротетразол-5-карбальдегида (VIII – XVII) изучали в отношении музейных штаммов грамположительных бактерий *Staphilococcus aureus* 209-P, *Streptococcus pneumoniae*, грамотрицательных бактерий *E. coli* O₁₈, *Pseudomonas aeruginosa* 165, а также культур *Micrococcus*, выделенных из организма человека [8, 9]. Наличие противомикробных свойств определяли в условиях *in vitro* методом прямой диффузии в питательную среду — мясопептонный агар (МПА), предварительно засеянную тест-культурой с содержанием микробных тел 10⁵ в 1 мл изотонического раствора NaCl. Исследуемые вещества вносили в углубления лунок питательной среды по 25 мкл в концентрациях 1 мг/мл в диметилсульфоксиде (ДМСО). После внесения соединений микроорганизмы культивировали на МПА в термостате при 37 ± 1 °С. Оценку результатов чувствительности к соединениям осуществляли путем измерения диаметра зоны задержки роста (ДЗЗР) микроорганизмов вокруг лунки (с точностью ± 1 мм) [10]. Препаратом сравнения служил раствор гентамицина сульфата в ДМСО в дозе активности 40 мг/мл. Мини-

Таблица 1

Антимикробная активность гидразонов нитротетразол-5-карбальдегида VIII – XVII и гентамицина сульфат

Соединение	ДЗЗР, мм									
	<i>St. aureus</i> 209-P	<i>Td</i>	<i>St. pneumoniae</i>	<i>Td</i>	<i>E. coli</i> O ₁₈	<i>Td</i>	<i>Ps. aeruginosa</i> 165	<i>Td</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Td</i>
VIII	44 ± 0,9**	1,1	36 ± 0,5	4,6	40 ± 3,5***	5,11	42 ± 2,8***	2,8	24 ± 2,5*	5,2
IX	46 ± 3,2**	1,1	40 ± 3,1**	0	35 ± 1,8***	7,0	40 ± 1,4***	4,05	32 ± 1,8**	2,9
X	0*		16 ± 2,2*	10,4	18 ± 1,5**	2,6	20 ± 0,7*	16,3	19 ± 2,3*	8,0
XI	25 ± 0,3*	11,1	28 ± 0,5*	10,9	15 ± 0,8*	7,8	30 ± 0,5*	5,7	13 ± 0,2*	24,5
XII	10 ± 0,1*	21,3	0*	0	8 ± 2,5*	5,5	11 ± 1,2*	13,6	0	
XIII	38 ± 0,6*	2,5	45 ± 0,8***	4,7	42 ± 3,1***	6,4	28 ± 2,6**	2,3	35 ± 1,5**	1,6
XIV	46 ± 0,8**	2,35	40 ± 3,2**	0	34 ± 1,6***	7,2	39 ± 2,8***	1,8	28 ± 1,2*	6,4
XV	14 ± 2,6*	9,3	18 ± 2,5*	6,7	11 ± 1,2*	8,7	15 ± 2,8*	3,2	0	
XVI	20 ± 0,9*	12,9	15 ± 2,5*	9,6	22 ± 3,1**	0	19 ± 2,3*	6,4	13 ± 1,1*	16,8
XVII	0		9 ± 0,1*	44,3	13 ± 1,2*	7,1	15 ± 2,5*	7,4	11 ± 1,8*	13,0
Гентамицина сульфат	42 ± 1,5		40 ± 0,7		22 ± 0,4		34 ± 0,5		38 ± 1,0	

* достоверно ниже по активности стандартного антибиотика (*Td* > 7,4);

** недостоверно отличается от стандартного антибиотика (*Td* < 2,2);

*** достоверно превышает по активности стандартный антибиотик (*Td* > 4,3).

Минимальные ингибирующие концентрации гидразонов нитротетразол-5-карбальдегида VIII, IX, X, XIII, XIV, XV, мкг/мл и гентамицина сульфат

Соединение	МИК, мкг/мл							
	<i>St. aureus</i> 209-P	<i>Td</i>	<i>St. pneumoniae</i>	<i>Td</i>	<i>E. coli</i> O ₁₈	<i>Td</i>	<i>Ps. aeruginosa</i> 165	<i>Td</i>
VIII	7,8 ± 0,9*	3,2	3,9 ± 0,3*	2,7	3,9 ± 0,1*	3,6	7,8 ± 0,3	6,4
IX	3,9 ± 0,5*	2,0	3,9 ± 0,5*	1,9	7,8 ± 0,2	13,2	7,8 ± 0,2	8,0
X	31 ± 0,8	26,0	62,5 ± 0,7	78,0	31 ± 0,7	32,5	31,2 ± 0,9	27,6
XIII	7,8 ± 0,1	27,0	7,8 ± 0,1	13,0	3,9 ± 0,3*	3,3	7,8 ± 0,5*	3,2
XIV	7,8 ± 0,09	6,0	7,8 ± 0,2	10,3	3,9 ± 0,1*	4,0	7,8 ± 0,2*	6,0
XV	12,5 ± 0,4	19	62,5 ± 0,9	58,0	31 ± 0,8	32,5	125 ± 0,11	40,0
Гентамицина сульфат	4,9 ± 0,1		4,9 ± 0,2		4,9 ± 0,1		4,9 ± 0,3	

* МИК соединения достоверно отличается от стандартного антибиотика.

Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) соединений в мкг/мл определяли методом двукратных серийных разведений в растворе ДМСО, где каждое последующее разведение уменьшало дозу активного вещества в 2 раза [11]. Результаты подвергались статистической обработке. Установлено, что все исследуемые соединения VIII – XVII проявляют различное антимикробное действие (табл. 1).

Данные, представленные в табл. 1, приведены с учетом вычитания результатов противомикробной активности раствора ДМСО (растворитель). Наибольшей активностью по отношению к 4 штаммам музейных тест-культур обладают соединения VIII, IX, XIII, XIV, которые либо достоверно превышают по активности в отношении тест-микроорганизмов стандартный антибиотик (VIII, IX — в отношении *E. coli* O₁₈, *Ps. aeruginosa* 165; XIII — в отношении *St. pneumoniae*, *E. coli* O₁₈; IX — в отношении *E. coli* O₁₈, *Ps. aeruginosa* 165), либо имеют активность, подобную тест-антибиотику (VIII, IX — в отношении *St. aureus* 209-P; IX — в отношении *St. pneumoniae*, *Micrococcus*; XIII — в отношении *Micrococcus*; XIV — в отношении *St. aureus* 209-P, *St. pneumoniae*). У соединений, имеющих более развитую цепь сопряжения, МИК составляют 3,9 – 7,8 мкг/мл, что сравнимо с уровнем активности гентамицина сульфата — 4,9 мкг/мл (табл. 2).

МИК некоторых наиболее активных соединений (XIII, XIV — в отношении *E. coli* O₁₈, *Ps. aeruginosa* 165; VIII — в отношении *St. pneumoniae*, *E. coli* O₁₈; IX — в отношении *St. aureus* 209-P, *St. pneumoniae*) достоверно не отличаются от МИК стандартного антибиотика. Введение в нитрогидразонный фрагмент бензильного радикала XI, XVI приводит к снижению антибактериального эффекта,

который еще более уменьшается при замене бензильного радикала метильной группой X, XV или введением в гидразонный фрагмент *para*-нитрофенильного заместителя XII, XVII.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы “Развитие инновационной инфраструктуры в Российских вузах” (грант № 13G.637.31.0038) с использованием научного оборудования ЦКП “Биотехнология создания оригинальных фармсубстанций”.

ЛИТЕРАТУРА

- С. Г. Злотин, Г. Н. Варнаева, О. А. Лукьянов, *Успехи химии*, **58**, 796 – 811 (1989).
- Д. В. Мануэль, *Дис. ... канд. хим. наук*, Санкт-Петербург (1991), с. 60.
- A. J. Crovetti, A. M. Von Esch, R. J. Thill, *J. Heterocycl. Chem.*, **9**, 435 – 442 (1972).
- А. Г. Тырков, Л. Т. Сухенко, *Хим.-фарм. журн.*, **38**, 30 – 32 (2004).
- В. В. Перекалин, А. С. Сопова, *Непредельные нитросоединения*, Химия, Москва, Ленинград (1960), сс. 195 – 196.
- А. Н. Терпигорев, И. В. Целинский, А. В. Макаревич и др., *Ж. орган. химии*, **23**, 244 – 254 (1987).
- Ю. Кирхнер, *Тонкослойная хроматография*, Т. 1, Мир, Москва (1981), сс. 129, 218.
- И. И. Белянин, С. Г. Сафонова, *Пробл. туберкул.*, № 2, 48 – 49 (1999).
- Т. И. Виноградова, А. Е. Александрова, Е. В. Антоненкова и др., *Пробл. туберкул.*, № 3, 45 – 47 (1999).
- Ф. Герхард, *Методы общей бактериологии*, т. 2, Мир, Москва (1983), с. 29.
- А. Г. Хоменко, *Пробл. туберкул.*, № 8, 53 – 57 (1988).

Поступила 28.04.12

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SUBSTITUTED HYDRAZONES OF NITROTETRAZOLE-5-CARBALDEHYDE

A. G. Tyrkov, M. A. Abdelraheem, and L. T. Sukhenko

Astrakhan State University, Astrakhan, 414056 Russia

A series of hydrazones of ω-nitro-tetrazole-5-carbaldehydes have been synthesized and tested for the antimicrobial activity with respect to *S. aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, and *Micrococci* strains. The corresponding minimum inhibitory concentrations have been determined.

Keywords: synthesis; hydrazones of nitrotetrazole-5-carbaldehyde; antimicrobial activity; minimum inhibition concentration