

А. В. Великородов¹, Н. Г. Урляпова², А. Д. Даудова²**СИНТЕЗ И АНТИМИКОБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРИАЗЕНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ N-АРИЛКАРБАМАТОВ**¹ Астраханский государственный университет;² НИИ по изучению лепры МЗ РФ, Астрахань

Конденсацией эквимольных количеств алкил-N-(4-нитрозофенил)карбаматов с замещенными гидразинами в этаноле получены соответствующие триазеновые производные N-арилкарбаматов и изучена *in vitro* их антимикобактериальная активность на культурах микобактерий *Micobacterium tuberculosis* и *Micobacterium lufu*. Препаратами сравнения служили изониазид и дапсон. Установлено, что химическая модификация гидразида изоникотиновой кислоты в соответствующие триазеновые производные N-арилкарбаматов не приводит к существенному снижению антимикобактериальной активности.

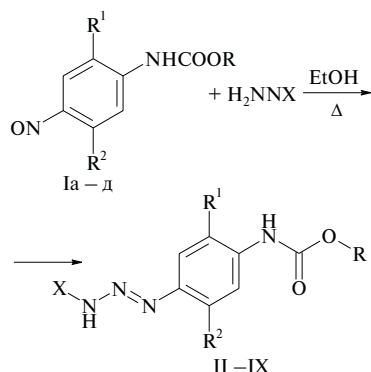
По данным ВОЗ рост заболеваемости туберкулезом приобретает общемировую тенденцию [1]. Целенаправленная модификация известных антибактериальных препаратов является одним из способов увеличения их активности и специфичности в отношении микобактерий, а также снижения токсичности.

Ранее [2] нами были получены алкил-N-(4-нитрозофенил)карбаматы (I), нитрозогруппа в которых является гетероаналогом карбонильной группы и склонна к реакциям конденсации [3].

В данной работе приведены результаты изучения конденсации C-нитрозо-алкил-N-фенилкарбаматов с гидразидом изоникотиновой кислоты, тозилгидразином, гидрохлоридами семикарбазида, тиосемикарбазида в этаноле и исследования антимикобактериальной активности полученных соединений.

Известно [4], что ароматические C-нитрозосоединения и замещенные гидразины реагируют в эквимольных количествах с образованием продуктов альдольного типа, которые легко окисляются C-нитрозосоединением до N-оксидов триазенов. В то же время известны примеры реакций конденсации C-нитрозоаренов, в которых они ведут себя подобно кетонам [5].

Установлено, что при кипячении эквимольных количеств алкил-N-(4-нитрозофенил)карбаматов (Ia–д) с замещенными гидразинами в этаноле образуются соответствующие триазеновые производные N-арилкарбаматов (II–IX), структура которых подтверждена элементным анализом и ИК-спектрами.



I: R = Me, R¹ = R² = H (а); R = Et, R¹ = R² = H (б); R = *i*-Pr, R¹ = R² = H (в); R = PhCH₂, R¹ = R² = H (г); R = R¹ = Me, R² = NHCOOMe (д);

II: R = Me, R¹ = R² = H, X = изоникотиноил;

III: R = Et, R¹ = R² = H, X = изоникотиноил;

IV: R = *i*-Pr, R¹ = R² = H, X = изоникотиноил;

V: R = PhCH₂, R¹ = R² = H, X = изоникотиноил;

VI: R = R¹ = Me, R² = NHCOOMe, X = изоникотиноил;

VII: R = Me, R¹ = R² = H, X = Ts;

VIII: R = Me, R¹ = R² = H, X = CONH₂;

XI: R = Me, R¹ = R² = H, X = CSNH₂.

В ИК-спектрах соединений II – IX в отличие от исходных C-нитрозосоединений Ia – д исчезает полоса поглощения группы N=O (1535 – 1520 см⁻¹), но появляется полоса поглощения при 1565 – 1580 см⁻¹, обусловленная валентным колебанием группы N=N, а в спектре соединения IX дополнительно появляется полоса поглощения группы C=S при 1410 см⁻¹.

Экспериментальная химическая часть

ИК-спектры записаны на приборе ИКС-29 в суспензии вазелинового масла. Индивидуальность соединений контролировали методом ТСХ на пластинах Silufof UV-254 в системе хлороформ – эфир, 1:1, проявление в парах йода.

Методики синтеза алкил-N-(4-нитрозофенил)карбаматов (I) приведены в работе [4].

Триазеновые производные N-арилкарбаматов (I – VII). Смесь 0,01 моль алкил-N-(4-нитрозофенил)карбамата (Ia – д), 0,01 моль замещенного гидразина в 15 мл этанола кипятят 3 ч, охлаждают, выпав-

Таблица 1
Температуры плавления, выходы, брутто-формулы и параметры ИК-спектров триазеновых производных N-арилкарбаматов

Соединение	Т.пл., °С	Выход, %	Брутто-формула	ИК спектр, ν, см ⁻¹
II	220	79	C ₁₄ H ₁₃ N ₅ O ₃	3345 (NH), 1715, 1680 (C=O), 1610, 1555 – 1525 (C::C _{аром}), 1575 (N=N)
III	212	79	C ₁₅ H ₁₅ N ₅ O ₃	3305 (NH), 1710, 1685 (C=O), 1580, 1515 (C::C _{аром}), 1577 (N=N)
IV	232	85	C ₁₆ H ₁₇ N ₅ O ₃	3325 (NH), 1715, 1695 (C=O), 1605, 1540, 1520 (C::C _{аром}), 1575 (N=N)
V	228	82	C ₂₀ H ₁₇ N ₅ O ₃	3305 (NH), 1715, 1690 (C=O), 1595, 1525 (C::C _{аром}), 1577 (N=N)
VI	260	82	C ₁₇ H ₁₈ N ₆ O ₅	3315 (NH), 1710, 1690 (C=O), 1590, 1530 (C::C _{аром}), 1575 (N=N)
VII	231	89	C ₁₅ H ₁₆ SN ₄ O ₄	3330 (NH), 1725 (C=O), 1605, 1525 (C::C _{аром}), 1579 (N=N)
VIII	216	94	C ₉ H ₁₁ N ₅ O ₃	3320 (NH), 1710 (C=O), 1610, 1595, 1505 (C::C _{аром}), 1565 (N=N)
IX	213	91	C ₉ H ₁₁ SN ₅ O ₂	3320 (NH), 1710 (C=O), 1600, 1545 (C::C _{аром}), 1580 (N=N), 1410 (C=S)

Острая токсичность и антимикобактериальная активность триазеновых производных N-арилкарбаматов

Соединение	ЛД ₅₀ , мг/кг	Тест-штаммы			
		<i>M. lufu</i>		<i>M. tuberculosis</i>	
		МИК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МИК, мкг/мл	МБК, мкг/мл
II	1005	3,6 ± 0,45	6,4 ± 1,09	3,2 ± 0,55	8,0 ± 2,45
III	1000	3,9 ± 0,54	6,7 ± 2,04	3,4 ± 0,61	8,4 ± 2,13
IV	987	3,8 ± 0,61	6,8 ± 2,13	3,3 ± 0,58	8,5 ± 2,34
V	935	4,2 ± 2,32	7,3 ± 2,20	4,5 ± 1,17	9,1 ± 1,04
VI	842	4,3 ± 2,17	8,0 ± 1,94	5,1 ± 2,13	9,7 ± 1,41
VII	958	5,6 ± 2,41	12,4 ± 2,51	18,4 ± 5,31	120,4 ± 15,17
VIII	1212	25,0 ± 8,62	27,4 ± 9,41	54,8 ± 13,24	136,4 ± 20,34
IX	975	19,3 ± 6,43	26,3 ± 5,72	52,4 ± 12,31	129,6 ± 19,45
Дапсон		3,2 ± 0,55	4,4 ± 1,10	28,8 ± 10,43	89,6 ± 17,53
Изониазид		8,8 ± 2,19	11,2 ± 2,19	2,4 ± 0,45	7,2 ± 0,89

ший продукт отфильтровывают, сушат на воздухе и дважды перекристаллизовывают из этанола.

Триазеновые производные N-арилкарбаматов (VIII, IX). Смесь эквимольных количеств (0,01 моль) метил-N-(4-нитрозофенил)карбамата (Ia), гидрохлорида семикарбазида или тиосемикарбазида и ацетата натрия в 20 мл этанола кипятят 1,5 ч, охлаждают, выпавший осадок отфильтровывают, промывают на фильтре 5 мл диэтилового эфира, 10 мл воды, сушат на воздухе и перекристаллизовывают из этанола.

Выходы, температуры плавления, брутто-формулы и параметры ИК-спектров триазеновых производных N-арилкарбаматов (II – IX) приведены в табл. 1. Данные элементного анализа соединений соответствуют приведенным брутто-формулам.

Экспериментальная биологическая часть

Антимикобактериальную активность исследовали *in vitro* на культурах микобактерий *Micobacterium tuberculosis* (лабораторный штамм H₃₇R_v) и *Micobacterium lufu* (предложена для предварительного отбора средств с противолепрозной активностью [6]), которые высевали на ряд серийных разведений препарата в жидкой питательной среде Школьниковой [7] с добавлением 10 % бычьей сыворотки и 20 ед/мл пенициллина. Препаратами сравнения служили дапсон и изониазид.

Исследование включало пять серий экспериментов. Ряды пробирок, содержащих разведения в димексиде каждого соединения от 256 мг/мл до 1 мг/мл, засеивали по 1 · 10⁶ *M. tuberculosis* и *M. lufu*. Посевы инкубировали в термостате в течение 12 дней при температуре 37 °С, извлекали из термостата. Из каждой пробирки производили пересев на плотную среду Левенштейна-Йенсена [9] 0,1 мл образовавшейся взвеси микобактерий. Посевы вновь инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 12 дней и подсчитывали количество колоний, выросших на косяке среды Левенштейна-Йенсена.

Минимальные ингибиционные концентрации (МИК) определяли методом серийных разведений, минимальные бактерицидные концентрации (МБК) оценивали по подавлению роста микобактерий на 50 % [8].

Острую суточную токсичность (ЛД₅₀) определяли на белых беспородных мышах массой 20 – 25 г при внутрибрюшинном введении соединений. Группы животных были составлены из шести особей, продолжительность наблюдения 6 сут. Перед опытом животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания в течение 10 дней. ЛД₅₀ рассчитывали по методу Миллера и Тейтнера [9].

Результаты подвергали статистической обработке с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Установлено, что триазеновые производные N-арилкарбаматов II – VI характеризуются антимикобактериальной, в том числе противотуберкулезной, активностью, не уступающей таковой дапсону и изониазиду (табл. 2). Соединения VII – IX менее активны.

Таким образом, химическая модификация гидразид азоникотиновой кислоты в соответствующие триазеновые производные N-арилкарбаматов не приводит к существенному снижению антимикобактериальной активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Химия и биологическая активность синтетических и природных соединений. Азотистые гетероциклы и алкалоиды, Иридий-пресс, Москва (2001), сс. 1, 123.
2. А. В. Великородов, *Ж. орган. химии*, **36**(2), 256 – 262 (2000).
3. Е. Б. Беляев, Б. В. Гидаспов, *Ароматические нитрозосоединения*, Химия, Ленинград (1989).
4. Vamberger, *Helv. Chim. Acta*, **14**, 242 – 243 (1931).
5. Н. Н. Hodgson, А. С. Crouch, *J. Chem. Soc. (London)*, **2**, 221 – 223 (1943).
6. О. А. Ируганова, Н. Г. Урляпова, *Актуальные вопросы лепрологии*, Астрахань (1984), сс. 147 – 150.
7. А. И. Коротяев, С. А. Бабицев, *Медицинская микробиология, иммунология и вирусология*, Спецлитература, Санкт-Петербург (1998).
8. Ф. Герхард, *Методы общей бактериологии*, Т. 2, Мир, Москва (1983), с. 29.
9. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, ИИА “Ремедиум”, Москва (2000), сс. 360 – 385.

Поступила 27.01.04.

SYNTHESIS AND ANTIMICOBACTERIAL ACTIVITY OF TRIAZENE DERIVATIVES OF N-ARYLCARBAMATES

A. V. Velikorodov¹, N. G. Urlyapova², A. D. Daudova²

¹ Astrakhan State University

² Leprosy Research Institute, Astrakhan

By condensation of equimolar amounts of alkyl-N-(4-nitrosophenyl)carbamates with substituted hydrazines in ethanol were obtained respective triazene derivatives of N-arylcaramates. It was shown that the chemical modification of isonicotinic hydrazide to respective triazene derivatives of N-arylcaramates did not result in essential decrease of antimicobacteritic activity (*in vitro*) against *Micobacterium tuberculosis* and *Micobacterium lufu* in comparison with isoniazid and dapsone.