

УДК 547.639.5+547-305.1+544.135+547.891.1

О ВЛИЯНИИ ПРИРОДЫ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ НА АНТИМИКРОБНУЮ АКТИВНОСТЬ ВОДОРАСТВОРИМЫХ АЦИЛГИДРАЗОНОВ НА ПЛАТФОРМЕ ИЗАТИНА

© 2020 г. А. В. Богданов^{1,*}, А. Д. Волошина¹, А. Р. Хаматгаллимов¹,
Н. В. Терехова¹, член-корреспондент РАН В. Ф. Миронов¹

Поступило 23.06.2020 г.
После доработки 06.07.2020 г.
Принято к публикации 02.09.2020 г.

На примере некоторых аммониевых изатин-3-ацилгидразонов с использованием простых молекулярных дескрипторов и квантово-химических расчетов выявлена зависимость уровня антимикробной активности от объема и электронной природы заместителей в бензильном фрагменте. Показано, что для проявления активности ключевыми факторами являются строение и электронная природа заместителей в положении 1 и липофильность соединений данного ряда.

Ключевые слова: антимикробная активность, гидразоны, гетероциклы, “структура–активность”, изатин

DOI: 10.31857/S2686953520050040

Гетероциклическая платформа оксиндола встречается во многих биологически активных соединениях и относится к классу “привилегированных структур” [1]. Среди многообразия соединений, содержащих этот структурный мотив, наиболее широко исследуемым является изатин (индолин-2,3-дион). Легкость модификации по карбонильной группе, ароматическому фрагменту и атому азота обуславливает большие возможности и перспективы его применения в медицине, органическом синтезе и химии функциональных материалов [2–6] с возможностью управления свойствами его производных в результате модификации того или иного реакционного центра. Известно, что многочисленные производные изатина проявляют различные виды биологической активности, такие как противораковая [7], антитуберкулезная [8], антимикробная [9] и фунгицидная [10]. Одним из наиболее изучаемых классов являются изатин-5-сульфонамиды, которые обладают свойством ингибирования каспаз – ключевых апоптотических ферментов. Функционализация оксиндольного цикла гидразонным фрагментом зачастую приводит к проявлению данными соединениями новых видов активности (схема 1). При этом следует отметить существен-

ное влияние строения заместителей на периферии гетероциклической платформы на уровень и тип физиологического действия.

В этом контексте одной из главных проблем, ограничивающих проведение большего спектра биологических исследований, является плохая растворимость целевых соединений в биосовместимых растворителях, и прежде всего в воде. Одним из решений этой задачи может являться введение в структуру производного изатина солевого фрагмента, в качестве источника которого могут выступать реагенты Жирара – гидразиды, содержащие положительно заряженный атом азота.

Высокая реакционная способность карбонильной группы изатина в положении 3 позволяет разрабатывать подход к получению водорастворимых аммониевых изатин-3-ацилгидразонов [11–14]. Исследования антимикробной активности указывают на высокий потенциал нескольких рядов этих соединений в дизайне и поиске эффективных и нетоксичных антимикробных агентов.

В данной работе представлен синтез ряда новых триметиламмониевых изатин-3-ацилгидразонов, содержащих различные по строению и электронной природе заместители в бензильном фрагменте (схема 2).

Строение полученных соединений было подтверждено данными ¹H и ¹³C ЯМР, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии МАЛДИ (табл. 1).

Наличие в структуре соединений 2 гидразонного фрагмента подтверждается присутствием в

¹ Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр Российской академии наук, Казань, Россия

*E-mail: abogdanov@inbox.ru

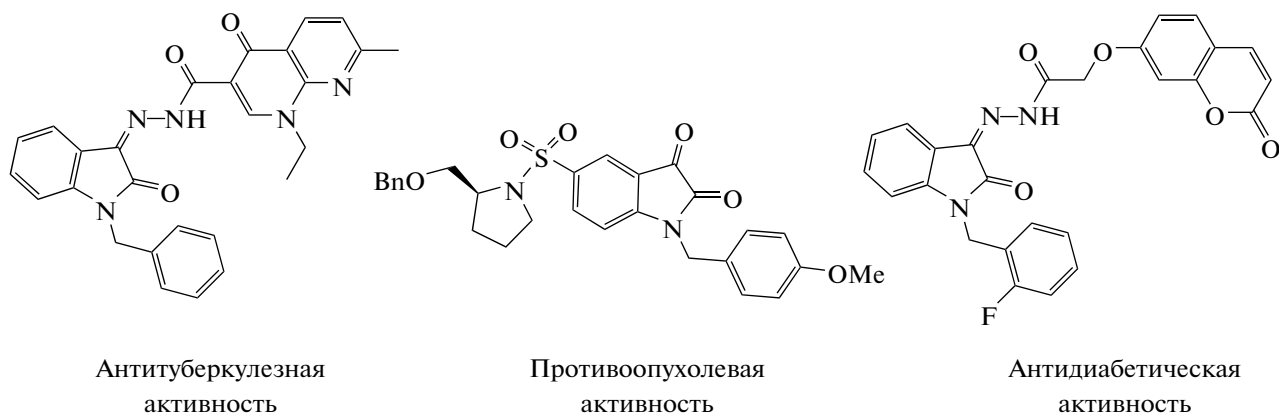


Схема 1.

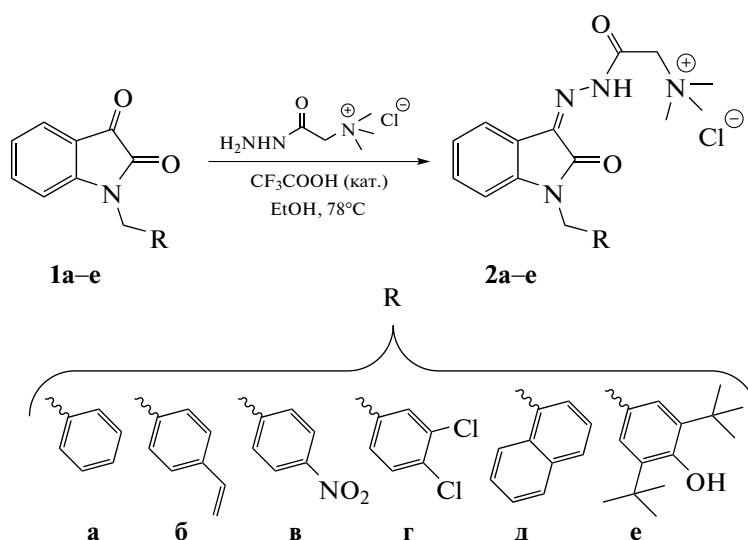


Схема 2.

спектрах ^1H ЯМР сигналов протонов NH-группы в области 12 м. д., интенсивных синглетов протонов метильных групп в области 3.30–3.50 м. д. и уширенных сигналов метиленовых протонов гидразонного фрагмента в области 5 м. д. Кроме того, в спектрах ИК присутствуют полосы поглощения в области 3400 см^{-1} , соответствующие колебаниям связи N–H. В масс-спектрах соединений **2a–e**, зарегистрированных в положительной моде, детектируются пики, соответствующие массам катионной части молекул.

Исследование антимикробной активности полученных соединений показало сильную зависимость уровня активности от строения заместителей в бензильном фрагменте (табл. 2).

Так, производные **2в,г**, содержащие электроакцепторный заместитель (нитро-группу или атом хлора), не проявляли активности против зо-

лотистого стафилококка и *Bacillus cereus*. Наиболее активным в отношении данных патогенов оказалось соединение **2е**, превосходящее препарат сравнения – хлорамфеникол – в отношении *Staphylococcus aureus* (*Sa*) в 18 раз и *Bacillus cereus* (*Bc*) в 4 раза.

Мы предположили, что проявление антимикробной активности может зависеть, прежде всего, от липофильности представителей данного ряда производных изатина. Полученный ряд соединений был оценен при помощи простых молекулярных дескрипторов, рассчитанных с использованием сервиса Molinspiration [15], которые широко используются для анализа биологически активных соединений (табл. 3).

На основании полученных данных можно сделать вывод, что определяющим фактором является липофильность ($\log P$) исследуемых соединений, что объясняет результаты, полученные для

Таблица 1. Спектральные характеристики и константы соединений **2a–e**^a

Соединение ^b	¹ H ЯМР (CDCl ₃ , δ, м. д., <i>J</i> , Гц); ¹³ C ЯМР (CDCl ₃ , δ, м. д.); ИК (ν, см ⁻¹); MALDI TOF, <i>m/z</i>
2a	<p>Желтый порошок, выход 84%. ¹H ЯМР: 7.69 (д, 1H, <i>J</i> 7.6, H_{аром}), 7.21–7.28 (м, 6H, H_{аром}), 7.05 (д, д, 1H, <i>J</i> 7.1, 8.2, H_{аром}), 6.78 (д, 1H, <i>J</i> 8.1, H_{аром}), 5.11 (с, 2H, C(O)CH₂), 4.87 (с, 2H, NCH₂), 3.50 (с, 9H, NCH₃).</p> <p>¹³C ЯМР: 158.2, 150.3, 138.6, 138.4, 130.8, 130.4, 127.7, 126.10, 126.06, 125.7, 124.2, 117.8, 110.7, 77.2, 67.0, 43.6.</p> <p>ИК: 3400 (ν_{NH}), 2954 (ν_{CH}), 2926 (ν_{Ar-H}), 1710 (ν_{C=O}), 1678 (ν_{C=O}), 1615 (ν_{C=C}). MALDI TOF: 351 [M–Cl]⁺. <i>T</i>_{пл} 248°C.</p> <p>Элементный анализ. Найдено, %: C, 61.90; H, 5.87; N, 14.40. Вычислено для C₂₀H₂₃ClN₄O₂, %: C, 62.09; H, 5.99; N, 14.48.</p>
2б	<p>Желтый порошок, выход 93%. ¹H ЯМР: 7.66 (уш. с, 1H, H_{аром}), 7.39–7.37 (м, 3H, H_{аром}), 7.29 (д, 2H, <i>J</i> 7.9, H_{аром}), 7.14 (т, 1H, <i>J</i> 7.4, H_{аром}), 6.98 (д, 1H, <i>J</i> 7.9, H_{аром}), 6.65 (д, д, 1H, <i>J</i> 17.6, 11.0, CH=CH₂), 5.75 (д, 1H, <i>J</i> 17.6, CH=CH₂), 5.22 (д, 1H, <i>J</i> 11.0, CH=CH₂), 4.90 (с, 2H, NCH₂), 3.99 (с, 2H, C(O)CH₂), 3.30 (с, 9H, NCH₃).</p> <p>¹³C ЯМР: 166.7, 161.3, 143.7, 137.5, 136.6, 136.0, 135.6, 133.0, 128.5, 127.2, 124.4, 122.1, 119.5, 115.6, 111.2, 62.8, 54.6, 40.0.</p> <p>ИК: 3433 (ν_{NH}), 3010 (ν_{CH}), 2937 (ν_{Ar-H}), 1678 (ν_{C=O}), 1615 (ν_{C=C}). MALDI TOF: 377 [M–Cl]⁺. <i>T</i>_{пл} 230°C.</p> <p>Элементный анализ. Найдено, %: C, 63.85; H, 6.00; N, 13.39. Вычислено для C₂₂H₂₅ClN₄O₂, %: C, 63.99; H, 6.10; N, 13.57.</p>
2в	<p>Желтый порошок, выход 90%. ¹H ЯМР: 8.03–7.99 (м, 2H, H_{аром}), 7.64 (д, 1H, <i>J</i> 7.7, H_{аром}), 7.42–7.32 (м, 3H, H_{аром}), 7.14 (д, д, 1H, <i>J</i> 7.8, 7.5, H_{аром}), 6.81 (м, 1H, H_{аром}), 4.93 (с, 2H, C(O)CH₂), 4.75 (с, 2H, NCH₂), 3.41 (с, 9H, NCH₃).</p> <p>¹³C ЯМР: 166.4, 160.9, 147.3, 143.5, 143.1, 135.4, 132.6, 128.8, 124.1, 123.9, 121.5, 119.1, 110.7, 62.2, 53.9, 42.5.</p> <p>ИК: 3412 (ν_{NH}), 2972 (ν_{CH}), 2902 (ν_{Ar-H}), 1710 (ν_{C=O}), 1692 (ν_{C=O}), 1613 (ν_{C=C}). MALDI TOF: 397 [M–Cl]⁺. <i>T</i>_{пл} 247°C (разл.).</p> <p>Элементный анализ. Найдено, %: C, 55.50; H, 5.01; N, 16.09. Вычислено для C₂₀H₂₂ClN₅O₄, %: C, 55.62; H, 5.13; N, 16.22.</p>
2г	<p>Желтый порошок, выход 95%. ¹H ЯМР: 7.71 (д, 1H, <i>J</i> 1.9, H_{аром}), 7.66 (м, 1H, H_{аром}), 7.62 (д, 1H, <i>J</i> 8.3, H_{аром}), 7.45 (д, д, 1H, <i>J</i> 8.0, 1.7, H_{аром}), 7.38 (д, 1H, <i>J</i> 8.3, H_{аром}), 7.19 (д, 1H, <i>J</i> 7.7, H_{аром}), 7.12 (д, 1H, <i>J</i> 8.0, H_{аром}), 5.00 (ушир. с, 4H, NCH₂, C(O)CH₂), 3.35 (ушир. с, 9H, NCH₃).</p> <p>¹³C ЯМР: 168.1, 165.0, 142.9, 136.8, 132.3, 131.3, 130.9, 130.4, 129.6, 127.8, 123.5, 121.1, 110.5, 61.8, 53.5, 41.6.</p> <p>ИК: 3408 (ν_{NH}), 3018 (ν_{CH}), 2937 (ν_{Ar-H}), 1702 (ν_{C=O}), 1677 (ν_{C=O}), 1613 (ν_{C=C}). MALDI TOF: 419 [M–Cl]⁺. <i>T</i>_{пл} 221°C (разл.).</p> <p>Элементный анализ. Найдено, %: C, 52.59; H, 4.50; N, 12.09. Вычислено для C₂₀H₂₁Cl₃N₄O₂, %: C, 52.71; H, 4.64; N, 12.29.</p>

Таблица 1. Окончание.

Соединение ^b	¹ H ЯМР (CDCl ₃ , δ, м. д., J, Гц); ¹³ C ЯМР (CDCl ₃ , δ, м. д.); ИК (ν, см ⁻¹); MALDI TOF, m/z
2д	Желтый порошок, выход 97%. ¹ H ЯМР: 12.66 (ушир. с, 1H, NH), 8.23 (д, 1H, J 9.3, H _{аром}), 8.00 (д, д, 1H, J 8.5, 1.1, H _{аром}), 7.89 (д, 1H, J 8.2, H _{аром}), 7.70–7.58 (м, 3H, H _{аром}), 7.44 (д, д, 1H, J 8.0, 7.3, H _{аром}), 7.40 (д, д, д, 1H, J 7.9, 7.9, 1.1, H _{аром}), 7.35 (д, 1H, J 7.3, H _{аром}), 7.18 (д, д, 1H, J 7.6, 7.6, H _{аром}), 7.01 (д, 1H, J 8.0, H _{аром}), 5.49 (с, 2H, NCH ₂), 5.01 (ушир. с, 2H, C(O)CH ₂), 3.36 (ушир. с, 9H, NCH ₃). ¹³ C ЯМР: 166.5, 159.8, 143.8, 138.3, 133.7, 132.8, 130.7, 130.5, 129.1, 128.6, 127.1, 126.6, 125.7, 124.7, 123.9, 123.3, 121.5, 119.2, 111.1, 62.4, 54.1, 41.4. ИК: 34248 (ν _{NH}), 3057 (ν _{CH}), 2961 (ν _{Ar-H}), 1718 (ν _{C=O}), 1688 (ν _{C=O}), 1612 (ν _{C=C}). MALDI TOF: 401 [M–Cl] ⁺ . T _{пл} 200°C. Элементный анализ. Найдено, %: C, 65.87; H, 5.58; N, 12.71. Вычислено для C ₂₄ H ₂₅ ClN ₄ O ₂ , %: C, 65.97; H, 5.77; N, 12.82.
2е	Все физико-химические характеристики и константы совпали с описанными ранее в [16].

^a Эксперименты ЯМР были проведены на спектрометрах Avance-400 и 600 (Bruker, Германия) в растворе CDCl₃ или DMSO-*d*₆ при температуре 30°C. Спектры ИК снимали на Фурье-спектрометре Vector 22 (Bruker, Германия) в таблетках KBr. Масс-спектры регистрировали на масс-спектрометре MALDI-TOF Ultraflex III (Bruker, Германия). Элементный анализ выполнен на анализаторе EuroVector 2000 CHNS-O (Италия). В работе использованы штаммы микроорганизмов *Staphylococcus aureus* ATCC 209p, *Bacillus cereus* ATCC 8035.

^b **2а**, хлорид 2-[2-(1-бензил-2-оксоиндолин-3-илиден)гидразинил]-*N,N,N*-триметил-2-оксоэтиламмония; **2б**, хлорид *N,N,N*-триметил-2-оксо-2-[2-[2-оксо-1-(4-винилбензил)индолин-3-илиден]гидразинил]этиламмония; **2в**, хлорид *N,N,N*-триметил-2-оксо-2-[2-[2-оксо-1-(4-нитробензил)индолин-3-илиден]гидразинил]этиламмония; **2г**, хлорид 2-[2-[1-(3,4-дихлорбензил)-2-оксоиндолин-3-илиден]гидразинил]-*N,N,N*-триметил-2-оксоэтан-1-аммония; **2д**, хлорид *N,N,N*-триметил-2-[2-[1-(нафталин-1-илметил)-2-оксоиндолин-3-илиден]гидразинил]-2-оксоэтиламмония.

соединений **2а,в**, и наибольшую активность для соли **2е** в отношении как *Sa*, так и *Bc*. Интересно соотношение структура–активность для производных **2в–д**, в случае которых значения минимальных ингибирующих концентраций (МИК) изменяется немонотонно. Видно, что введение в бензильный фрагмент атомов хлора приводит к снижению активности в сравнении с алифатическими заместителями производных **2б** и **2г**, не-

смотря на большее значение log *P*. Данную зависимость, вероятно, можно объяснить сольватационными эффектами в отношении более полярной молекулы соединения **2г** в водной среде, что и приводит к снижению ее активности. Однако данный вопрос требует дополнительных исследований.

Квантово-химические расчеты (Gaussian 16/B3LYP/6-31+G*) показали, что введение заме-

Таблица 2. Антимикробная активность соединений **2а–е**

Соединение	<i>Sa</i> ^a	<i>Bc</i> ^a
2а	>500	>500
2б	125 ± 10.1	>500
2в	>500	>500
2г	250 ± 20.1	>500
2д	62.5 ± 5.8	>500
2е	3.9 ± 0.2	15.6 ± 1.2
Хлорамфеникол	62.5	62.5

^a Приведены данные минимальных ингибирующих концентраций (МИК, мкг/мл).

Таблица 3. Антимикробная активность и некоторые расчетные данные для соединений **2а–е**

Соединение	<i>Sa</i> ^a	<i>Bc</i> ^a	<i>M</i> ^b	log <i>P</i> ^c	<i>V</i> ^c
2а	–	–	386.88	–1.66	330.53
2б	303	–	412.92	–0.81	358.26
2в	–	–	431.88	–1.70	396.43
2г	550	–	455.76	–0.38	357.60
2д	143	–	436.94	–0.50	374.52
2е	7.6	30.3	515.10	1.39	470.92

^a Минимальные ингибирующие концентрации представлены в мкМ/л, ^b рассчитаны по атомным весам, ^c значения log *P* это milog *P*, рассчитанные при помощи сервиса Molinspiration, ^c молярный объем

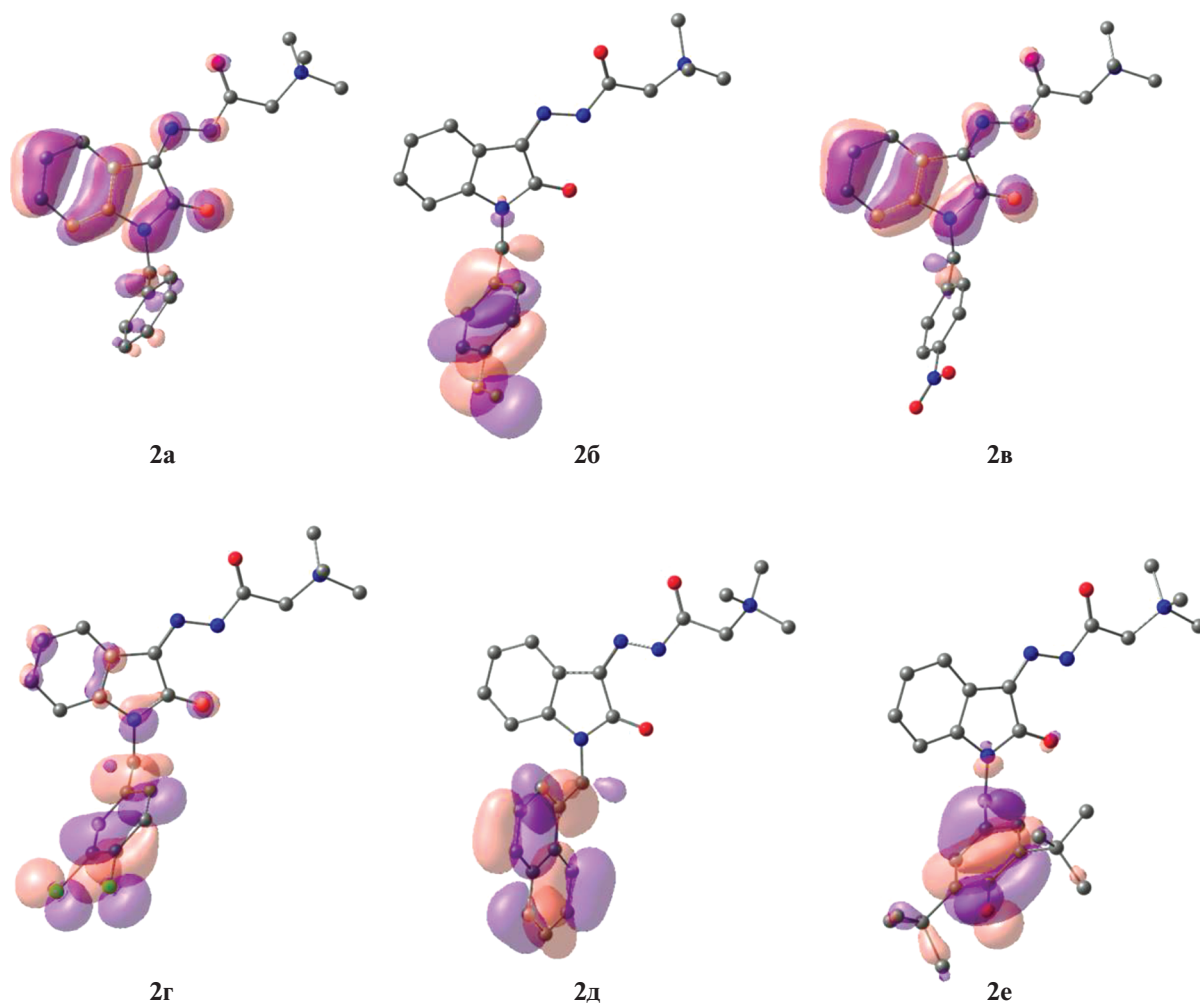


Рис. 1. ВЗМО в соединениях 2а–е.

ститителей к атому азота в гетероциклическом фрагменте влияет на состав и энергии граничных орбиталей. Так, в случаях соединений **2а,в** ВЗМО локализована на гетероциклическом фрагменте, в то время как для соединений **2б,г–е** основной вклад в нее вносят атомные орбитали заместителей (рис. 1).

Таблица 4. Размер энергетической щели ВЗМО–НВМО (эВ), молярный объем (V_m , см³/моль), молекулярный объем (V_{mol} , $\times 10^{-22}$ см³)

	ВЗМО–НВМО	V_m	V_{mol}
2а	3.40	264.47	4.39
2б	2.78	313.62	5.21
2в	3.44	276.73	4.59
2г	3.33	282.82	4.69
2д	2.57	293.47	4.87
2е	2.58	336.63	5.59

Это приводит к изменению энергии ВЗМО, а также размера энергетической щели ВЗМО–НВМО, которая в случаях соединений **2а,в,г** предсказывалась выше (табл. 4).

Кроме того, наблюдается корреляция между объемом катионов солей и антимикробной активностью. Так, соединения **2б,д,е** с большими молярным и молекулярным объемами и проявляют активность (табл. 4).

Таким образом, комплексный подход с использованием квантово-химических расчетов и компьютерного моделирования и экспериментальных данных позволил выявить зависимость антимикробной активности от строения аммониевых изатин-3-ацилгидразонов. При этом было установлено, что, чем выше липофильность и объем молекулы данных соединений, тем выше их антимикробная активность.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы благодарят ЦКП-САЦ ФИЦ КазНЦ РАН за техническую поддержку проведенных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Welsch M.E., Snyder S.A., Stockwell B.R.* // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2010. V. 14. P. 347–361.
2. *Xu Zh., Zhang Sh., Gao Ch., et al.* // *Chinese Chem. Lett.* 2017. V. 28. P. 159–167.
3. *Zhang Y.-Zh., Du H.-Zh., Liu H.-L., et al.* // *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 2020. V. 353. e1900299.
4. *Bogdanov A.V., Musin L.I., Mironov V.F.* // *Arkivoc.* 2015. V. 6. P. 362–392.
5. *Bogdanov A.V., Mironov V.F.* // *Synthesis.* 2018. V. 50. P. 1601–1609.
6. Decker M., editor. *Design of Hybrid Molecules for Drug Development.* Elsevier, 2017. 352 p.
7. *Limpachayaporn P., Schäfers M., Haufe G.* // *Future Med. Chem.* 2015. V. 7. P. 1173–1196.
8. *Kumar S.B., Ravinder M., Kishore G., et al.* // *Med. Chem. Res.* 2014. V. 23. P. 1934–1940.
9. *Al-Wabli R.I., Zakaria A.S., Attia M.I.* // *Molecules* 2017. V. 22. P. 1958–1973.
10. *Wang J., Tan H., Li Y., et al.* // *J. Agric. Food Chem.* 2011. V. 59. P. 9892–9900.
11. *Bogdanov A.V., Kadomtseva M.E., Bukharov S.V., et al.* // *Russ. J. Org. Chem.* 2020. V. 56. P. 555–558.
12. *Bogdanov A.V., Zaripova I.F., Voloshina A.D., et al.* // *J. Fluorine Chem.* 2019. V. 227. P. 109345.
13. *Pashirova T.N., Bogdanov A.V., Zaripova I.F., et al.* // *J. Mol. Liq.* 2019. V. 290. P. 111220.
14. *Bogdanov A.V., Zaripova I.F., Voloshina A.D., et al.* // *ChemistrySelect* 2019. V. 4. P. 6162–6166.
15. <http://www.molinspiration.com>
16. *Bogdanov A.V., Zaripova I.F., Voloshina A.D., et al.* // *Monatsh. Chem.* 2018. V. 149. P. 111–117.

ABOUT THE INFLUENCE OF THE SUBSTITUENTS NATURE ON ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF WATER-SOLUBLE ACYLHYDRAZONES ON THE ISATIN SCAFFOLD

**A. V. Bogdanov^{a,#}, A. D. Voloshina^a, A. R. Khamatgalimov^a,
N. V. Terekhova^a, and Corresponding Member of the RAS V. F. Mironov^a**

^a *Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Kazan, Russian Federation*

[#] *E-mail: abogdanov@inbox.ru*

On the example of some ammonium isatin-3-acylhydrazones using simple molecular descriptors and quantum-chemical calculations, the dependence of the level of antimicrobial activity on the volume and electronic nature of substituents in the benzyl fragment was revealed. It was shown that the key factors for the possession of activity are the structure and electronic nature of substituents in position 1 and the lipophilicity of compounds of this series.

Keywords: antimicrobial activity, hydrazones, heterocycles, “structure–activity”, isatin